

**LAPORAN AKHIR
PENELITIAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI
(Tahun I)**



**STRATEGI PENCEGAHAN PENYAKIT
VIBRIOSIS PADA UDANG WINDU (*Penaeus
monodon* Fabricius) MENGGUNAKAN PRODUK
BAHAN ALAMI**

Tahun ke 1 dari Rencana 3 Tahun

TIM PENGUSUL:

KETUA

Dr.Ir.HARLINA,M.P(0901036501)

ANGGOTA

Dr.Ir.SITTI HADIJAH,MP(0924096401)

Dr. Ir. SYAHRUL JAFAR, MM (0926076401)

UNIVERSITAS MUSLIM INDONESIA

MAKASSAR

AGUSTUS-2016

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : STRATEGI PENCEGAHAN PENYAKIT VIBRIOSIS
PADA UDANG WINDU (*Penaeus monodon* Fabricius)
MENGUNAKAN PRODUK BAHAN ALAMI

Peneliti/Pelaksana
Nama Lengkap : Dr. Ir. HARLINA M.P.
Perguruan Tinggi : Universitas Muslim Indonesia
NIDN : 0901036501
Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
Program Studi : Budidaya Perairan
Nomor HP : 085396734864
Alamat surel (e-mail) : linausman1965@yahoo.com

Anggota (1)
Nama Lengkap : Dr. Ir. SITI HADIJAH, M.P.
NIDN : 0924096401
Perguruan Tinggi : Universitas Muslim Indonesia

Anggota (2)
Nama Lengkap : Dr. Ir. SYAHRUL DJAFAR M.M.
NIDN : 0926076401
Perguruan Tinggi : Universitas Muslim Indonesia
Institusi Mitra (jika ada) : -
Nama Institusi Mitra : -
Alamat : -
Penanggung Jawab : -
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 1 dari rencana 3 tahun
Biaya Tahun Berjalan : Rp 50.000.000,00
Biaya Keseluruhan : Rp 242.950.000,00

Mengetahui,
Dekan Fakultas Perikanan



(Dr. D. Asbar, M.Si.)
NIP/NIK 107890348

Makassar, 24 - 11 - 2016
Ketua,

(Dr. Ir. HARLINA M.P.)
NIP/NIK 107880273

Menyetujui,
Ketua Lembaga Penelitian



(Prof. Dr. H. Hambali Thalib, SH., MH)
NIP/NIK 19550313 198111 1001

RINGKASAN

Penyakit *vibriosis* pada usaha budidaya udang windu (*Penaeus monodon* Fabr.) merupakan salah satu penyebab utama kematian udang windu. Hingga saat ini cara yang umum dilakukan untuk penanggulangan *vibriosis* masih mengandalkan bahan-bahan kimia dan antibiotik yang berdampak resistensi pada bakteri, adanya residu di tubuh udang yang membahayakan konsumen serta dapat mencemari lingkungan.

Alternatif pencegahan penyakit *Vibriosis* yang aman terhadap organisme sasaran, lingkungan maupun terhadap konsumen adalah dengan menggunakan produk bahan alami. Ekstrak daun kopasanda telah diuji aktifitas antibakterinya terhadap *Vibrio harveyi* penyebab *vibriosis* pada larva udang windu dan hasilnya menunjukkan bahwa bahan alami daun kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) secara tidak langsung dapat meningkatkan kelangsungan hidup, meningkatkan resistensi terhadap penyakit dan dapat memodulasi parameter imun. Namun kendala yang dihadapi adalah bahwa aplikasi dengan metode perendaman tidak efektif dan tidak efisien karena selain dibutuhkan produk bahan alami dalam jumlah yang lebih besar, juga lebih banyak terbuang di media pemeliharaan, mengingat luasnya areal budidaya tambak. Oleh karena itu sangat dibutuhkan kajian strategi pencegahan penyakit *vibriosis* pada udang windu dengan menggunakan produk bahan alami daun kopasanda sebagai antibakteri alami yang diaplikasikan melalui metode pencampuran ke dalam pakan.

Untuk mencapai tujuan tersebut, penelitian tahun pertama ini secara khusus bertujuan untuk menguji efektifitas produk bahan alami daun kopasanda sebagai antibakteri alami melalui metode pencampuran ke dalam pakan terhadap pertumbuhan dan kelangsungan hidup serta populasi bakteri pada udang windu. Penelitian tahun pertama dengan penambahan produk bahan alami daun kopasanda dengan metode pencampuran pada pakan untuk mengetahui pertumbuhan dan kelangsungan hidup serta populasi bakteri pada udang.

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April hingga Agustus tahun 2016. Seluruh rangkaian kegiatan penelitian tahun pertama dilaksanakan pada BRPBAP Maros dan di Laboratorium Balai Besar Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan, Sulawesi Selatan. Indikator yang digunakan untuk menilai capaian pada tahapan penelitian tahun pertama ini adalah: (1) Pertumbuhan udang windu (2). Kelangsungan hidup udang windu (3). Populasi bakteri *Vibrio* pada udang windu, dan (4) Kondisi kualitas air media pemeliharaan udang windu.

Luaran penelitian (1). Pengembangan produk bahan alami daun kopasanda sebagai antibakteri alami pada pakan udang windu, akan dipublikasikan pada Journal International, (2). Pengembangan produk bahan alami pada pakan untuk pencegahan penyakit *vibriosis* pada udang windu dalam kemasan

Kata Kunci: Pencegahan *Vibriosis*, *Penaeus monodon* Fabricius, Produk Bahan Alami

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT, karena atas rahmat dan kesehatan yang diberikan sehingga laporan kemajuan Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi ini dengan Judul “ Strategi Pencegahan Penyakit Vibriosis pada Udang Windu (*Penaeus monodon* Fabricius) dapat diselesaikan.

Penelitian ini dilatarbelakangi oleh tingginya angka kematian pasca larva udang windu yang disebabkan oleh serangan Vibriosis terutama oleh Vibriosis. Penelitian penggunaan bahan alami daun kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) sebagai antibakteri alami telah dilakukan dan terbukti memiliki aktivitas antibakteri yang kuat dan merupakan kandidat yang menjanjikan untuk dikembangkan sebagai sumber senyawa bioaktif alami karena mampu menekan populasi *vibrio harveyi* penyebab penyakit vibriosis, namun metode yang digunakandengan sistim perendaman namun kendala yang dihadapi adalah bahwa aplikasi dengan metode perendaman tidak efisien karena selain dibutuhkan antibakteri dalam jumlah yang lebih besar, juga lebih banyak terbuang di media pemeliharaan, sehingga memerlukan kajian yang lebih mendalam.

Penulisan hasil penelitian ini masih kurang sempurna, sehingga sangat dibutuhkan saran dan kritik guna menyempurnakan tulisan ini, Akhirnya semoga tulisan ini bermanfaat bagi pengembangan ilmu perikanan khususnya dalam upaya penanggulangan serangan vibriosis dalam kegiatan budidaya tambak

Makassar 29 November 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN	iii
KATA PENGANTAR	Iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
BAB III TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	17
BAB IV METODE PENELITIAN	19
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	23
BAB VI RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA.....	29
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN	30
DAFTAR PUSTAKA	32
LAMPIRAN	35

DAFTAR TABEL

No	Teks	Halaman
1.	Hemosit pada Crustacea	10
2.	Karakteristik hemosit dari <i>Penaeus monodon</i>	11
3.	Pertumbuhan Mutlak (g) Pasca Larva Udang Windu	23
4.	Rata-Rata Pertumbuhan Mutlak (g) Pasca Larva Udang Windu	24
5.	Sintasan Pasca Larva Udang Windu yang Diuji Tantang <i>Vibrio harveyi</i>	25
6.	Persentase (%) Sintasan Pasca Larva Udang Windu	25
7.	Jumlah Kematian (ekor) Pasca Larva Udang Windu ...	26
8.	Populasi Bakteri (CFU/mL) pada Tubuh Pasca Larva Udang Windu	27
9.	Kualitas Air Media Pemeliharaan Pasca Larva Udang Windu	29

DAFTAR LAMPIRAN

No	Teks	Halaman
1.	Instrumen Capaian	42
2.	Sertifikat Telah Melaksanakan Seminar Nasional	43
3..	Draft Jurnal Internasional Bereputas	44
4..	Biodata Peneliti	46
5.	Produk Yang Akan Dihasilkan	47

BAB I. PENDAHULUAN

1.1. LatarBelakang

Udang windu (*Penaeus monodon* Fabricius) hingga saat ini tetap merupakan komoditas andalan di bidang perikanan budidaya, hal ini terbukti merupakan komoditas yang mendapat prioritas utama dalam Program Kementerian Kelautan dan Perikanan yaitu menjadikan Indonesia sebagai produsen perikanan terbesar, yang dikenal dengan Kebijakan Revolusi Biru (*The Blue Revolution Policy*) dengan peningkatan produksi sebesar 353 % dari produksi tahun 2010 (Subyakto, 2011).

Masalah utama dalam pengembangan usaha budidaya udang windu adalah rendahnya sintasan udang windu akibat kematian massal yang disebabkan oleh serangan penyakit. Salah satu jenis penyakit yang merupakan masalah serius adalah penyakit yang disebabkan oleh serangan *vibriosis* terutama *Vibrio harveyi* (Mariyono *et al.*, 2002). Bakteri ini menginfeksi hampir semua organisme budidaya laut seperti krustasea, moluska dan ikan (Isnansetyo *et al.*, 2009). Hasil penelitian secara *in vivo* menunjukkan bahwa *Vibrio harveyi* bersifat patogen pada pasca larva (PL-14) dengan kepadatan 10^7 CFU/ml (Khodria *et al.*, 2012). Kematian yang tinggi pada tahap pasca larva merupakan masalah serius sehingga harus ditanggulangi sebaik mungkin.

Hingga saat ini cara yang umum dilakukan untuk pencegahan maupun pengendalian penyakit *vibriosis* ini masih tetap mengandalkan bahan-bahan kimia dan antibiotik. Penggunaan bahan kimia dan antibiotik yang terus menerus dan tidak terkontrol berdampak resistensi pada bakteri, adanya residu di tubuh udang dan mencemari lingkungan. Selain itu akibat adanya antibiotik yang terakumulasi dalam tubuh udang oleh penggunaan antibiotik menyebabkan Negara Uni Eropa terus menyensori produk perikanan Indonesia beberapa tahun terakhir dan memberlakukan *zero tolerance* terhadap produk perikanan Indonesia terutama udang windu. Bahkan Negara Uni Eropa mengancam akan melakukan embargo terhadap produk perikanan Indonesia terutama udang jika masih diindikasikan terkontaminasi dengan antibiotik, pestisida dan bahan kimia lainnya (Fattah, *et al.* 2008).

Alternatif pencegahan penyakit *Vibriosis* yang aman terhadap organisme sasaran, lingkungan maupun terhadap konsumen adalah dengan menggunakan produk antibakteri alami seperti produk bahan alami daun kopasanda (*C. odorata* L.). Penggunaan senyawa bioaktif daun kopasanda sebagai produk antibakteri alami secara tidak langsung dapat meningkatkan pertumbuhan dan kelangsungan hidup, meningkatkan resistensi terhadap penyakit dan dapat memodulasi parameter imun (Total Haemocyte Count (THC), dan Differential Haemocyte Count (DHC). Tanaman kopasanda berfungsi sebagai imunostimulan yang dapat mencegah infeksi *Vibrio* spp. dengan jalan meningkatkan aktivitas fagositosis. Meningkatnya ketahanan tubuh dapat diketahui dari meningkatnya aktifitas sel-selffagosit dari hemosit. Sel-selffagositik ini berfungsi untuk melakukan fagositosis terhadap benda asing yang masuk ke dalam tubuh inang. Fagositosis merupakan mekanisme pertahanan non spesifik yang secara umum mampu melindungi adanya serangan penyakit.

Berbagai penelitian terdahulu yang dilakukan Harlina *et al* (2013a) telah membuktikan bahwa daun kopasanda mengandung senyawa bioaktif yang potensi digunakan sebagai anti bakteri alami yaitu flavonoid, alkaloid, steroid, saponin dan tannin. Berdasarkan uji aktivitas antibakteri senyawa bioaktif daun kopasanda telah diketahui bahwa ekstrak daun kopasanda memiliki aktivitas antibakteri yang kuat dan merupakan kandidat yang menjanjikan untuk dikembangkan sebagai sumber senyawa bioaktif alami karena mampu menekan populasi *vibrio harveyi* penyebab penyakit vibriosis secara *in vitro* (Harlina 2013b). Lebih lanjut Harlina *et al* (2013c) melaporkan bahwa aplikasi senyawa bioaktif daun kopasanda tidak toksik terhadap pasca larva udang windu, terbukti dari analisis histopatologi, perendaman senyawa aktif daun kopasanda tidak merusak jaringan hepatopankreas larva udang windu (Harlina, 2015), sehingga aman digunakan sebagai antibakteri alami dalam pencegahan vibriosis pada budidaya udang windu.

Penggunaan antibakteri alami melalui metode perendaman telah dilakukan, namun kendala yang dihadapi adalah bahwa aplikasi dengan metode perendaman tidak efektif dan tidak efisien karena selain dibutuhkan

antibakteri dalam jumlah yang lebih besar, juga lebih banyak terbuang di media pemeliharaan, mengingat luasnya areal budidaya tambak. Oleh karena itu sangat dibutuhkan kajian strategi pencegahan penyakit vibriosis pada udang windu dengan menggunakan antibakteri alami daun kopasanda yang diaplikasikan melalui metode pencampuran ke dalam pakan.

1.2. Urgensi Penelitian

Penemuan senyawa bioaktif daun kopasanda sebagai antibakteri alami (Harlina *et al*, 2013) menjadi alternatif dalam strategi pencegahan penyakit *vibriosis* penyebab kematian massal benur udang windu. Produk bahan alami daun kopasanda yang diaplikasikan melalui pakan sangat potensial dikembangkan untuk mengatasi ancaman serangan patogen terutama *vibriosis* pada usaha budidaya udang windu, untuk menggantikan penggunaan bahan-bahan kimia maupun antibiotik yang berdampak resistensi pada bakteri, adanya residu di tubuh udang dan mencemari lingkungan. Temuan utama penelitian ini adalah dihasilkannya teknologi penanggulangan *vibriosis* yang aman pada udang windu menggunakan produk bahan alami daun kopasanda serta produk bahan alami daun kopasanda yang dapat digunakan sebagai alternatif pengganti bahan-kimia dan antibiotik yang beredar saat ini.

Keberhasilan pencegahan penyakit *vibriosis* dengan menggunakan produk bahan alami daun kopasanda sebagai antibakteri alami menjadi temuan penting dalam pengembangan iptek dalam upaya pencegahan penyakit *vibriosis* yang sangat meresahkan usaha pertambakan udang secara nasional.

1.3. Temuan yang Ditargetkan

Temuan yang ditargetkan pada penelitian ini meliputi produk berupa ekstrak antibakterial alami daun kopasanda, teknologi tepat guna (TPTG), publikasi, dan hak kekayaan intelektual (HKI) sebagai berikut:

1. Produk yang akan dihasilkan berupa produk bahan alami daun kopasanda sebagai antibakteri alami yang telah dicampur ke dalam pakan
2. Teknologi tepat guna (TPG) yang akan dihasilkan Pengembangan teknologi pencegahan penyakit *vibriosis* yang ramah lingkungan

3. Publikasi yang akan dihasilkan pada penelitian ini sebagai berikut :
 - a. Efektifitas antibakteri alami pada pakan terhadap pertumbuhan dan kelangsungan hidup serta populasi bakteri pada udang *Journal of Aquaculture Research and Development*,
 - b. Respon imun udang windu dalam upaya pencegahan vibriosis dengan antibakteri alami melalui pakan akan dipublikasikan pada *Aquaculture International*
4. Hak kekayaan intelektual (HKI) yang akan dihasilkan : Pengembangan antibakteri alami pada pakan untuk pencegahan penyakit vibriosis pada udang windu dalam kemasan akan diajukan untuk memperoleh Hak Kekayaan Intelektual (HKI).

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Penyakit *Vibriosis* pada Larva Udang Windu

Vibriosis adalah nama penyakit pada ikan/udang yang disebabkan oleh bakteri *vibrio* spp. dan saat ini *vibriosis* merupakan penyakit yang umum dijumpai pada pembenihan udang. *Vibriosis* adalah penyakit yang paling meresahkan dalam industri budidaya udang windu karena telah menyebabkan kematian massal pada udang windu. Penyakit ini sangat akut dan ganas karena dapat memusnahkan populasi benur udang yang terserang hanya dalam waktu 1-3 hari sejak gejala awal tampak. Udang yang terserang sangat sulit untuk diselamatkan sehingga seluruh udang yang ada terpaksa dibuang atau dimusnahkan (Prajitno, 2007). Oleh karena itu, upaya pencegahan jauh lebih baik daripada upaya pengobatan. Penyakit *Vibriosis* diakibatkan oleh bakteri yang bercahaya (*Luminescent*; berpendar). Penyakit ini dikenal dengan penyakit *kunang-kunang* karena udang yang terserang pada keadaan gelap akan nampak bercahaya seperti kunang-kunang.

Vibriosis umumnya disebabkan oleh bakteri dari genus *Vibrio*, khususnya *Vibrio harveyi*. Bakteri ini tergolong dalam family *Vibrionaceae* dan dapat menyerang hampir semua jenis organisme laut yang dibudidayakan seperti *Crustacea*, moluska dan ikan (Isnansetyo *et al.*, 2009). Krustasea, termasuk udang, kepiting, lobster dan *Artemia* sangat rentan terhadap bakteri patogen oportunistik ini (Jivaranichpaisal *et al.*, 1994;. Karuna Sagar *et al.*, 1994;. Liu *et al.*, 1996;. Robertson *et al.*, 1998;. Diggles *et al.*, 2000;. Soto-Rodriguez *et al.*, 2003;. Borne *et al.*, 2007)

Hasil pemantauan Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Payau tentang penyebaran bakteri *vibrio* di Sulawesi Selatan ditemukan 25 spesies bakteri *vibrio* pada tambak pembesaran udang windu yang di isolasi dari air, sedimen dan organisme perairan (Nurhidayah *etal.*, 1999). Untuk itu dalam usaha budidaya diupayakan system budidaya yang tepat, larva terhindar kondisi stress dengan menciptakan kondisi lingkungan yang optimal sesuai dengan kebutuhan biologi udang.

Pada umumnya kejadian penyakit vibriosis merupakan kombinasi dari faktor stress fisik atau infeksi primer yang diikuti dengan infeksi pathogen lainnya (Sung *et al.*, 2001). Penelitian menunjukkan bahwa udang yang diuji tantang dengan cara diekspos stress ammonium memiliki kerentanan yang tinggi terhadap *Vibrio* sp. (Liu dan Chen, 2004). Pengaruh dari beberapa faktor terhadap daya tahan tubuh udang inilah yang dapat menjelaskan tingginya variasi mortalitas pada udang yang terserang bakteri vibrio. Tingkat mortalitas udang bervariasi dari hanya beberapa ekor udang sampai 100 % dari seluruh populasi.

Selama satu dekade, strain dari bakteri *V. harveyi* dilaporkan menjadi agen patogen utama yang menyebabkan tingginya tingkat kematian pada industri budidaya udang di seluruh dunia (Karunasagar *et al.*, 1994; Saeed, 1995; Liu *et al.*, 1996). Penyakit kunang-kunang atau udang berpendar merupakan masalah yang cukup serius dalam budidaya udang windu (*P. monodon*) (Austin dan Zhang, 2006). Tingkat kematian pada larva udang *Penaeus monodon* dan *Penaeus merguensis* yang disebabkan oleh penyakit kunang-kunang dilaporkan terjadi di beberapa panti perbenihan di Indonesia (Sunaryanto and Mariam, 1986), Taiwan (Song and Lee, 1993), dan Asia (Jiravanichpaisal *et al.*, 1994) dengan kematian larva *P. monodon* dan *P. japonicus* mencapai 100% (Liu *et al.*, 1996). Serangan *V. harveyi* pada udang penaeid sering pula dinamai dengan *penaeid vibriosis*, *penaeid bacterial septicaemia*, vibrio berpendar dan penyakit kaki merah.

2.2 . Patogenitas *Vibrio harveyi* pada Udang Windu

Patogenitas adalah potensi suatu organisme menimbulkan penyakit atau menginfeksi (Prajitno, 2007). Tetapi ada kemungkinan suatu jenis bakteri vibrio mempunyai kelebihan untuk menerobos suatu bagian tubuh udang dibanding jenis bakteri lainnya. Hal ini diakibatkan oleh adanya produksi enzim yang sangat penting peranannya pada proses patogenitas. Hasil Penelitian yang dilakukan oleh Murjani (2002) dalam uji infeksi dengan cara perendaman yang dilanjutkan dengan pengamatan histopatologi pada bakteri *V. anguillarum* dan *V. ordalii* sebagian besar menyerang udang melalui saluran pencernaan terutama usus dan sebagian kecil melalui kulit. Informasi tentang proses infeksi suatu bakteri

terhadap ikan atau udang masih terbatas. Tidak semua patogen yang masuk ke dalam tubuh ikan atau udang akan menimbulkan penyakit, sebab banyak patogen yang memerlukan jalan masuk tertentu untuk dapat menimbulkan penyakit pada ikan atau udang. Bakteri dapat menyerang ikan atau udang melalui mulut, saluran pencernaan, insang, kulit dan gurat sisi.(Horne, 1982 *dalam* Prajitno, 2006).

Pada prinsipnya bakteri berpendar hanya bersifat oportunistik bagi larva sebab bakteri berpendar umumnya ditemukan di perairan laut dan pantai bahkan di dalam saluran pencernaan udang itu sendiri. Bakteri bercahaya berubah menjadi patogen bila terjadi perubahan lingkungan secara mendadak akibat perubahan iklim, suhu, pergantian air, pemindahan larva, stress, pada penebaran yang tinggi, dan lain-lain. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri berpendar bersifat pathogen bagi larva udang windu bila populasinya dalam air pemeliharaan mencapai 10^4 sel/ml dan akan mengakibatkan kematian larva sampai 90 % (Zafran dan D.Rosa 1993; Muliani *et al.*, 1996). Pada stadium nauplius, larva belum mempunyai saluran pencernaan dan belum melakukan aktivitas makan sehingga bakteri hanya menempati permukaan tubuh udang.

Vibrio harveyi bersifat patogen oportunistik pada budidaya air payau dan laut karena dapat bertindak sebagai patogen primer dan sekunder (Prajitno, 2006). Lebih lanjut dijelaskan bahwa *V. harveyi* bersifat patogen primer manakala bakteri ini menyerang masuk ke dalam tubuh udang melalui kontak langsung sedangkan, sebagai patogen sekunder bakteri menginfeksi udang yng telah terserang penyakit lain misalnya parasit.

Virulensi suatu bakteri tidak hanya bergantung pada bakteri itu sendiri, akan tetapi juga sangat ditentukan kemampuan inang dalam melawan masuknya patogen. Beberapa faktor yang mempengaruhi virulensi bakteri antara lain: kemampuan bakteri memproduksi toksin baik eksotoksin maupun endotoksin, enzim mengatasi ketahanan inang dan kecepatan berkembang biak (Bullok, 1971 dan Pelczar, 1996 *dalam* Prajitno, A. 2006). Beberapa jenis bakteri telah diketahui dapat menghasilkan toksin yang memiliki kemampuan untuk menimbulkan penyakit (Kamiso, 1996).

2.3. Produk Antibakteri alami

Antibakteri alami adalah substansi yang mampu menghambat/membunuh bakteri. Antimikrobia terdiri dari dua jenis yaitu; fungisida dan bakterisida. Fungisida dan bakterisida dari alam yang dikenal dengan fungisida dan bakterisida alami adalah bahan aktif fungisida dan bakterisida yang diambil atau dikembangkan dari alam, dan bukan merupakan hasil sintesa di laboratorium (Djojosumarto, 2012). Berdasarkan aktivitasnya zat antibakteri dibedakan menjadi dua jenis yaitu; bakteriostatik dan bakteriosida. Bakteriostatik adalah zat antibakteri yang memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri (menghambat perbanyakan populasi bakteri), namun tidak mematikan. Sedangkan bakterisida adalah zat antibakteri yang memiliki aktifitas membunuh bakteri. Namun ada beberapa zat antibakteri yang bersifat bakteriostatik pada konsentrasi rendah dan bersifat bakterisida pada konsentrasi tinggi.

Beberapa kelompok bahan antibakteri seperti fenol, alkohol, halogen, logam berat, detergen, aldehida, dan kemosterilisator gas, senyawa fenol paling banyak digunakan karena senyawa tersebut tidak hanya terdapat pada antibiotik sintetik, namun pada senyawa alam yang dikenal sebagai polifenol (Cowan, 1999). Menurut Volk dan Wheeler (1993), senyawa fenol dan turunannya (flavonoid) merupakan salah satu antibakteri yang bekerja dengan mengganggu fungsi membran sitoplasma. Adanya senyawa fenol ini menyebabkan kerusakan pada membran sitoplasma. Pada konsentrasi rendah dapat merusak membran sitoplasma yang dapat menyebabkan bocornya metabolit penting yang menonaktifkan sistem enzim bakteri sedangkan, pada konsentrasi tinggi mampu merusak membran sel sitoplasma dan mengendapkan protein sel. Senyawa fenol ini dapat berinteraksi dengan komponen dinding sel bakteri sehingga mengakibatkan mengakibatkan permeabilitas pada sel bakteri dan dapat pula berdifusi ke dalam sel sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati selain itu, senyawa ini juga dapat menembus membran dan berinteraksi dengan material genetik sehingga bakteri mengalami mutasi (Nakura dan Yamoto 1982 dalam Trisnawati dan Susanto, 2003).

Selain fenol sebagai zat antibakteri yang banyak dipergunakan, jenis-jenis antibiotik juga banyak dipergunakan sebagai bakterisida pada industri budidaya,

khususnya budidaya udang windu. Antibiotika adalah senyawa kimia khas yang dihasilkan atau diturunkan oleh organisme hidup termasuk struktur analognya yang dibuat secara sintetik yang dalam kadar rendah mampu menghambat proses penting dalam kehidupan satu spesies atau lebih mikroorganisme. Jenis antibiotik yang umum digunakan untuk penanggulangan penyakit udang windu seperti kloramfenikol, oksitetrasiklin, prefuran, dan sebagainya (Brown, 1989). Namun penggunaan antibiotik sebagai zat antibakteri mempunyai efek negatif seperti timbulnya resistensi bakteri terhadap aktivitas kerja obat. Penggunaan bahan alam juga sudah mulai digunakan, namun masih terbatas pada penggunaan saponin, rotenon dan nistatin. Studi tentang penggunaan bioaktif senyawa sudah dilakukan terhadap beberapa tumbuhan seperti, penggunaan biji bengkoang, racun buah, umbi gladiol yang telah terbukti mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas* sp. and *Pseudomonas* sp. terhadap ikan (Suryati, 1993 dan Suryati dan Hala, 1993). Penggunaan bahan alam sebagai sumber bakterisida mempunyai beberapa keuntungan seperti aman terhadap lingkungan perairan karena mudah terurai sehingga tidak menimbulkan akumulasi yang bisa menyebabkan memburuknya kualitas air.

Dengan adanya senyawa bioaktif yang dikandung oleh tumbuhan ini yang terbukti memiliki daya hambat terhadap berbagai macam mikroorganisme patogen maka terbuka peluang pemanfaatan tumbuhan *C.odorata* L., untuk digunakan sebagai antimikroba dalam pengendalian mikroorganisme patogen penyebab penyakit dalam budidaya perairan.

2.4 Sistem Imun Udang

Udang windu adalah termasuk krustase yang hanya memiliki sistem imun nonspesifik dalam mempertahankan tubuhnya terhadap serangan patogen. Komponen sistem imun non spesifik pada udang windu meliputi: fisik, seluler dan humoral (Supamattaya *et al.*, 2000). Selanjutnya dijelaskan bahwa pertahanan fisik yang berperan sebagai pertahanan terluar pada udang adalah kulit, sedangkan system imun seluler terdiri dari hemosit dan fixed phagocytes (sel yang tidak bergerak yang tersebar pada insang, jantung, dan jaringan pengikat).

2.4.1 Sel Hemosit

Udang windu seperti halnya arthropoda yang lain, memiliki system sirkulasi darah terbuka dimana cairan darah dan sel darahnya masing-masing dikenal dengan istilah hemolim (*haemolymph*) dan hemosit (*haemocytic*) (Van de Braak, 2002). Hemosit ini dihasilkan oleh jaringan hematopoeitik yang terletak di sekitar lambung.

Hemosit memegang peranan penting dalam respon seluler pertahanan tubuh udang yang meliputi fagositosis, enkapsulasi, melanisasi, cytotoxsisites dan komunikasi antar sel. Berdasarkan ada tidaknya granula sitoplasma hemosit dibagi menjadi 3 jenis yaitu hyaline, sel semigranular, dan sel granular (Johansson *et al.*, 2000) Rodriguez dan Moullac, 2000). Setiap tipe sel aktif dalam reaksi pertahanan misalnya, pada Cray fish (udang karang), sel-sel hialin terutama terlibat dalam fagositosis, sementara sel semigranular adalah sel-sel aktif di enkapsulasi sedangkan, sel-sel granular berpartisipasi dalam penyimpanan dan pelepasan system prophenoloxidase proPO dan sitotoksitas seperti terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hemosit pada crustacea

Tipe hemosit	Fungsi pada imunitas
Hyaline cell	Phagocytosis
Semigranular cell	Encapsulation Phagocytosis Cytotoxicity
Granular cell	Storage and release of the proPO system Cytotoxicity

Jumlah hemosit udang windu yang dihitung menggunakan coulter Caunter ZM adalah $50,9 \times 10^6 \pm 17,7 \times 10^6$ sel/ml (Van de Braak *et al.*, 1996) Pada penelitian lain menunjukkan bahwa udang windu sehat total hemositnya antara $10^4 - 10^6$ sel/ml. Konsentrasi oksigen yang rendah dan adanya infeksi penyakit akan menyebabkan total hemosit dalam darah berkurang (Supemattaya *et al.*, 2000).

Karakter sel hemosit pada *Penaeus monodon* dijelaskan Van de Braak *et al.*, 1996 berdasarkan morfologinya yang diamati dengan mikroskop cahaya dengan pewarnaan giensa,

Dengan menggunakan mikroskop cahaya, hemosit *Penaeus monodon* dapat dibagi menjadi lima tipe seperti Tabel 1. Bila dicermati dalam gambaran ultra strukturnya dengan mikroskop electron, hemosit dapat dibagi dalam sel hialin, semi glanular, dan glanular.

Tabel 2 Karakteristik hemosit dari *Penaeus monodon*

Tipe sel	Bentuk Nukleus	Warna nucleus	Bentuk sel	Warna Cytoplasma
1	Bulat, oval atau berbentuk bulat	Biru	Bulat atau lonjong	Merah
2	Oval atau sedel	Biru	Lonjong	Tak berwarna atau merah terang
3	Bulat, oval, atau bentuk sedel	Biru	Bulat atau oval	Tak berwarna atau merah terang
4	Tidak Nampak	Isi berwarna biru	Mengandung butiran	Berwarna merah
5	Bulat atau oval	Biru tua	Bulat dan kecil	Tak berwarna

Sumber: Van De Braak *et al.*, 1996

Perbandingan gambar hemosit dengan pengamatan mikroskop cahaya dan mikroskop electron, Van DE Braak 1996) menyatakan bahwa tipe sel 1 sebagaimana teramati dengan mikroskop cahaya merupakan sel granula, sel tipe 2 dan 3 merupakan sel semigranular dan tipe 5 merupakan sel hyaline, sedangkan sel tipe 4 adalah granula tanpa nucleus

Sel-sel hemosit yang terdapat pada udang windu memiliki fungsi tersendiri. Sel hyaline berperan dalam proses fagositosis dan aktifitas seperti halnya makrofage pada ikan dan binatang berdarah panas lainnya. Sel ini memiliki sedikit sekali granula pada sitoplasmanya (Lio-Po *et al.*, 2001)

Pagositosis merupakan suatu upaya multiphase yang memerlukan langkah-langkah sebagai berikut: Pengenalan (recognition) dari benda yang akan dicerna, gerakan ke arah objek (kemotaksis), perlekatan, penelanan (ingestion) dan selanjutnya pencernaan (digestion) intra seluler oleh mekanisme mekanisme anti mikroba (Wahab dan Soeripto,1993)

Sel semigranula dikarakteristikkan dengan terdapatnya granula pada sitoplasma.Sel ini mampu merespon poli sakarida dan dinding sel bakteri atau beta glukon yang berasal dari jamur. Sel semigranulosa ini dapat melakukan

proses enkapsulasi dan sedikit berperan dalam proses fagositosis (Johansson *et al.*, 2000)

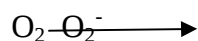
Sel granulose dikarakteristikan dengan terdapatnya granula dalam jumlah yang besar di sitoplasma. Sel berperan dalam menghasilkan, menyimpan dan mensekresi senyawa antimikroba. Sel granula tidak berperan dalam aktifitas fagositosis dan sedikit berperan dalam proses enkapsulasi. Fungsi utamanya adalah menghasilkan enzim Phenoloksidase yang memiliki peranan penting dalam system pertahanan. Aktivasi enzim ini juga dapat dilakukan dengan menggunakan komponen mikrobial seperti β -Glukan, peptidoglycan dan lipopolisakarida melalui ikatan protein spesifik dengan permukaan hemosit (Sritinyaluckasana *et al.*, 1999;; Vetrica dan Sima, 2004). Hemosit disintesis oleh jaringan hemopoietic yang merupakan sepasang epigastric nodule. Produksi tersebut dilakukan untuk mencapai keadaan homeostatic pasca introduksi imunostimulan. Jaringan tersebut terletak tepat di bagian dorsal pada lambung bagian depan (anterior stomach) merupakan tempat sintesis hemocyanin atau protein darah (Efendi *et al.*, 2004).

Peranan Anion Superoksida dalam System Imun Udang

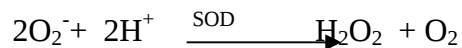
Dalam proses fagositosis yang dilakukan oleh sel hyaline, akan disertai dengan metabolisme berupa letupan atau lonjakan respirasi (respiratory burst). Dalam peristiwa letupan tersebut akan terjadi kenaikan konsumsi oksigen, pembentukan reaktif oksigen intermediate (ROIs), yaitu radikal bebas seperti anion superoxide (O_2^-), hydrogen peroksida (H_2O_2), hidroksi radikal (OH) dan singlet oksigen (1O_2) serta pembentukan enzim-enzim degradasi

Didalam membran hyaline terdapat rantai transfer electron yang mengandung NADPH (Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate) oksidase, yang merupakan suatu system kompleks terdiri dari flavoprotein. NADPH oksidase aktif apabila ada kontak antara membran hyaline dengan partikel (Abbas *et al.*, 2000)

Kegiatan metabolisme ini menghasilkan kelebihan NADPH, yang pada gilirannya NADPH oksidase tereduksi akan mengubah oksigen menjadi anion superoksida



Anion superoksida adalah radikal bebas yang dihasilkan oleh reduksi sebuah electron dari molekul oksigen yang sangat reaktif dan dapat merusak sel mikroorganisme. Anion superoksida mengalami dismutase dengan katalisator enzim *superoxide dismutase* (SOD) sehingga terbentuk hydrogen peroksida (H_2O_2)



Pada udang windu normal level anion superoksida berada pada kisaran 25-30 unit dan berhubungan dengan proses fagositosis. Peningkatan jumlah hemosit pada udang akan diikuti pula dengan peningkatan jumlah anion superoksida dan hydrogen peroksida yang pada akhirnya akan meningkatkan kekebalan udang pada penyakit.

Kelompok reactive oxygen ini dihasilkan di vakuola fagositosis dan ketika dikeluarkan tidak tertutup kemungkinan dapat merusak sel host. Untuk mencegah kerusakan tersebut, sel maupun organisme menggunakan tiga strategi pertahanan. Pertama adalah dengan melibatkan antioksidan dengan berat molekul rendah antara lain ascorbate, α -tocopherol dan glutathione yang langsung berinteraksi dengan ROS untuk menetralkan. Dua pertahanan yang lain adalah melibatkan enzim yang berperan dalam metabolisme ROS (SOD), katalase dan glutathione peroxidase) atau memperbaiki kerusakan makromolekul menjadi asam nukleat, protein dan lemak (enzim perbaikan DNA, protease dan lipase) yang disebabkan oleh ROS (Holmblad dan Söserhall, 1999).

2.5.2. Peranan Enzim Protease dalam Sistem Imun Udang.

Protease adalah enzim yang berperan dalam proses proteolisis dimana proses katabolismenya terjadi dengan cara menghidrolisis ikatan peptide yang menghubungkan asam-asam amino dalam rantai polipeptida. Protease dapat diklasifikasikan dalam 6 kelompok yaitu serine, threonine, cysteine, asam aspartat, metalloprotease dan asam glutamate.

Protease terdapat secara alami pada setiap organism dengan persentase 1-5% dari kandungan gen. Enzim ini berperan dalam berbagai reaksi fisiologi mulai dari yang sederhana seperti pencernaan makanan berprotein hingga yang kompleks seperti penggumpalan darah, apoptosis dan aktivasi prophenoloksidase (ppA) yang berperan dalam aktivasi Prophenoloksidase menjadi enzim

Phenoloksidase ini selanjutnya berperan sebagai katalisator proses oksidase fenol menjadi quinon dan akan terpolimerisasi menjadi melanin. Melanin merupakan senyawa antimikroba yang akan membunuh pathogen yang masuk ke dalam tubuh udang (Van De Braak 2002)

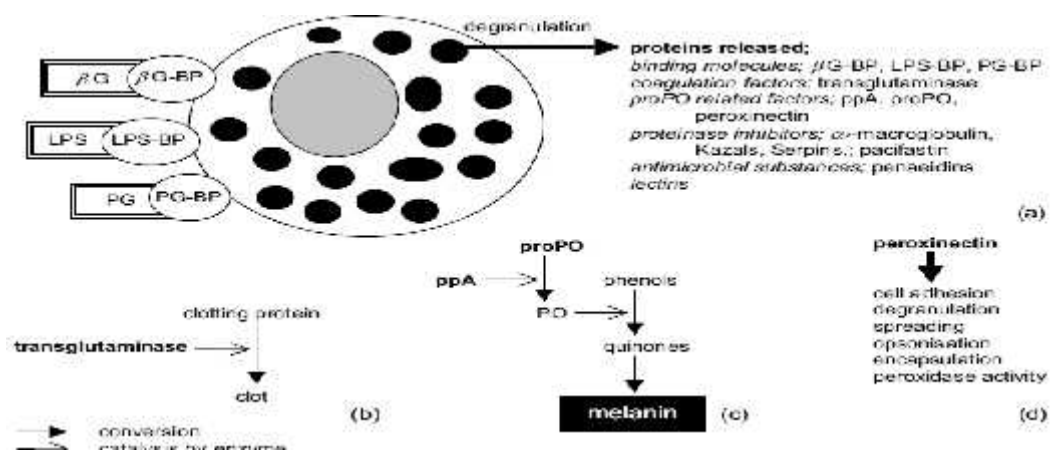
Protease bersama-sama dengan enzim lysozime, esterase, fosfatase, fosfolipase dan feroksidase, adalah enzim-enzim lisosomal yang memiliki molekul cytotoksis yang mampu membunuh pathogen saat terjadinya infeksi penyakit. Secara bersama-sama, enzim-enzim ini berperan dalam system imun udang.

Telah diketahui bahwa reaksi pertahanan pada beberapa invertebrate sering dikaitkan dengan melanisasi. Pada Artropoda sistesis melanin terlibat dalam proses penyembuhan luka pada kutikula seperti halnya pada reaksi pertahanan melawan mikroorganisme yang menyerang masuk ke dalam peredaran darah. Enzim yang terlibat dalam pembentukan melanin adalah phenoloksidase dan telah dideteksi pada hemolim arthropoda (Soderhall dan Cerenius, 1998) Phenoloksidase (PO) adalah enzim yang mengandung copper dan memiliki dua fungsi yang dapat mengkatalis o-hidroksilase monofenol dan oksidase fenol menjadi quinon. Selanjutnya enzim ini dapat mengubah tirosin menjadi DOPA (Dihydroxyphenyl Alanin), seperti DOPA menjadi DOPA quinon, diikuti beberapa tahap intermedit yang dapat menyebabkan sistesis melanin yang berwarna coklat. PO adalah enzim terminal dan sistem proPO, yaitu system pengenalan bahan asing yang terdapat pada arthropoda dan invertebrate lainnya. Aktivasi proPO memerlukan jumlah yang rendah dari komponen dinding sel mikroorganisme LPS, β -1-3-glucan atau peptidoglukan (PG). Hasil dari produksi pigmen melanin selalu dapat dilihat sebagai titik coklat gelap pada cutikula.

Peroksinektin merupakan factor imun yang terlibat dalam aktivasi system proPO. Pertama kali diidentifikasi pada hemocyte lysate supernatant (HLS) Crayfish *P. leniusculus* dengan berat molekul 76 kDA (Johansson dan Soderhall 1988). Sedangkan pada *Penaeus monodon* Fab. Mempunyai berat molekul 80 kDA (Sritunyalucksa, 2001). Peroksinektin disintesis dalam bentuk inaktif, dilepaskan dalam respon terhadap stimulus, dan diaktifkan di luar sel untuk memerantarai perlekatan dan penyebaran hemosit. Peroksinektin adalah

protein multi fungsional yang mengandung 5 aktifitas biologi yang berbeda; (a) aktifitas adhesi sel; (b) aktifitas degranulasi; (c) aktifitas encapsulasi; (aktifitas opsonik dan (e) aktifitas peroksidase. *Extracellular superoxide dismutase* (EC-SOD) berfungsi sebagai reseptor untuk peroksinektin dan H_2O_2 yang dihasilkan SOD dan sebagai akibatnya substansi toksik tersebut dapat diproduksi berdekatan dengan mikroorganisme yang menyerang.

Gambaran secara skematik dari beberapa factor penting dalam system pertahanan pada krustase yang diperantarai hemosit dapat dilihat pada Gambar 1

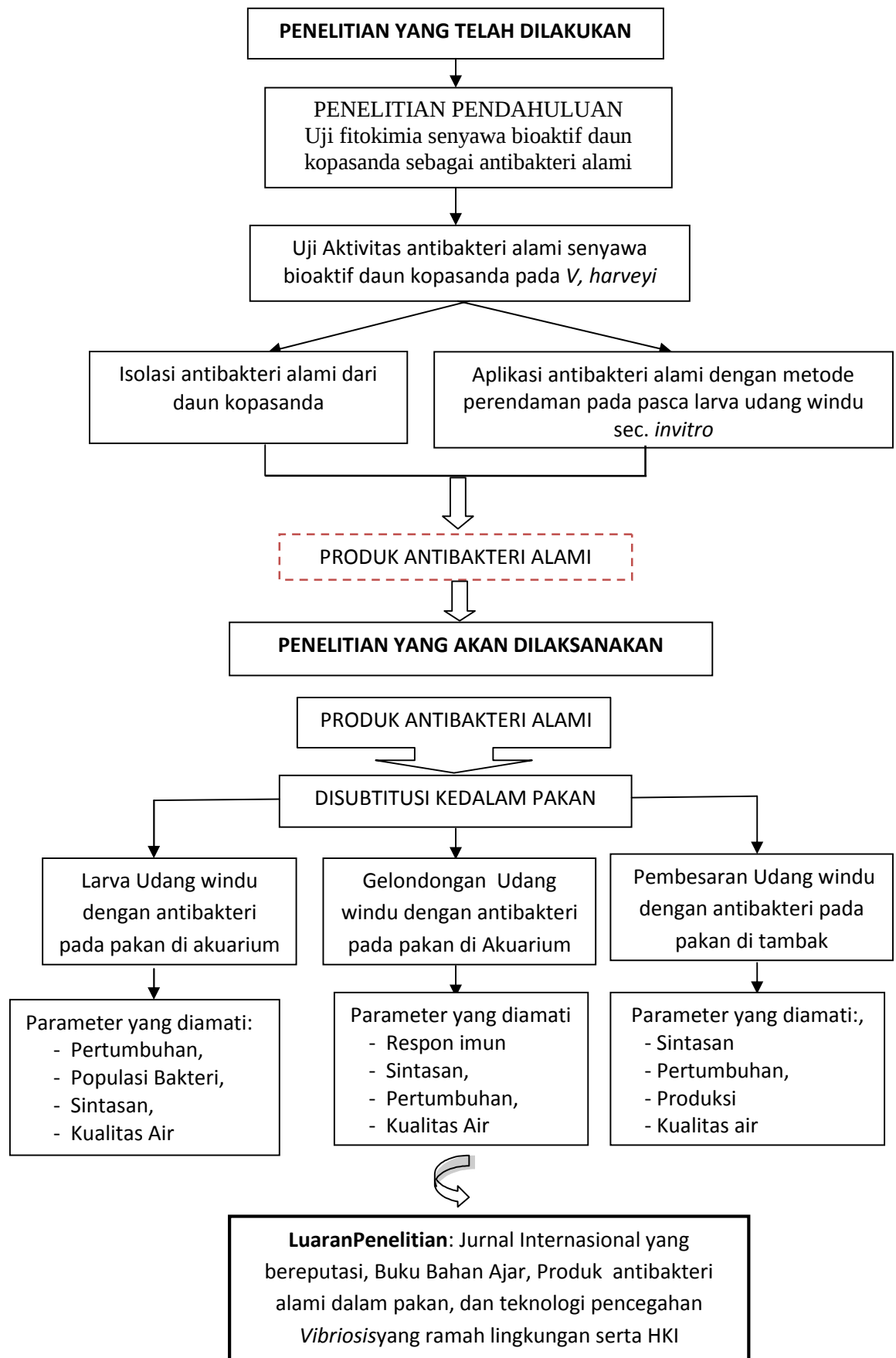


Gambar 1 Gambaran secara skematik dari beberapa factor penting dalam system pertahanan pada krustase

Keterangan:

Pola protein pengenalan yang berbeda dalam hemolim mengenali dan berikatan dengan komponen dinding sel mikroorganisme, selanjutnya menginduksi ikatan seluler dan hemosit mengalami degranulasi dan melepaskan protein yang berbeda yaitu: pro-enzim dan substrat. (a); protein yang terlibat dalam penggumpalan, (b); Pengaktifan proPO, (c); system atau proses aktivasi selular lainnya, (d) Protein yang terlibat dalam proses yang dikeluarkan oleh hemosit ditandai dengan cetak tebal. Pengaktifan dari proses yang berurutan diatur oleh proteinase inhibitor yang berbeda

2.2 Peta Jalan Penelitian



BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1. Tujuan Penelitian

Secara umum Penelitian strategi pencegahan penyakit Vibriosis pada udang windu (*Penaeus monodon* Fabr.) dengan produk bahan alami bertujuan untuk mendapatkan teknik pencegahan vibriosis yang aman dengan menggunakan produk bahan alami daun kopasanda (*Cromolaena odorata* L.) dengan metode pencampuran ke dalam pakan.

Penelitian tahun pertama yaitu pemanfaatan produk bahan alami daun kopasanda melalui metode pencampuran dengan pakan yang diberikan pada udang windu dalam upaya pencegahan serangan penyakit Vibriosis penyebab kematian massal udang windu. Untuk mencapai tujuan umum tersebut, maka rincian tujuan khusus penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a) Menentukan konsentrasi daun kopasanda dalam pakan yang memberikan pertumbuhan yang tertinggi pada pasca larva udang windu
- b) Menentukan konsentrasi daun kopasanda dalam pakan yang efektif dalam meningkatkan kelangsungan hidup pasca larva udang windu
- c) Menentukan konsentrasi daun kopasanda dalam pakan yang efektif dalam menekan populasi *Vibrio* dalam tubuh pasca larva udang windu
- d) Mengetahui dampak pemberian daun kopasanda dengan metode pencampuran dalam pakan terhadap kualitas air

3.2 Manfaat Penelitian

Penelitian ini sangat bermanfaat dalam menentukan metode yang tepat dalam penggunaan daun kopasanda dalam upaya pencegahan penyakit vibriosis yang lebih efektif dan efisien dan aman bagi udang, manusia dan lingkungan. Keberhasilan pencegahan penyakit vibriosis dengan menggunakan produk bahan alami daun kopasanda sebagai antibakteri alami menjaditemuan penting dalam pengembanganIptek dalam upaya pencegahan penyakit vibriosis yang sangat meresahkan usaha pertambakan udang secara nasional.

Secara rinci manfaat yang diharapkan dari penelitian ini dari segi teknis adalah dengan ditemukannya suatu metode aplikasi daun kopasanda sebagai antibakteri alami yang efektif dan efisien dalam penanggulangan penyakit

vibriosis penyebab kematian massal larva udang windu yang lebih aman dan ramah lingkungan karena sifatnya alami, akan bermanfaat dalam mengatasimasalah utama dalam budidaya udang windu baik pada pembenihan maupun di tambak. Sedangkan dari segi ekonomis tentunya akan sangat menguntungkan karena permasalahan rendahnya produksi larva udang windu pada industri pembenihan udang windu dapat diatasi, sehingga dapat meningkatkan produksi benih udang windu. Hal ini akan sangat berguna dalam pengembangan pembangunan perikanan dimasa datang..

Bagi institusi peneliti, penelitian ini memberikan manfaat bagi peningkatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi (IPTEK) di bidang budidaya perairan khususnya dibidang pengendalian penyakit pada budidaya perairan, menambah, memperbaharui bahan ajar dalam perkuliahan mahasiswa

BAB IV. METODE PENELITIAN

Penelitian Tahun I. Uji Pemanfaatan Produk Bahan Alami dengan Metode Pencampuran dalam pakan pada pascalarva udang windu

4.1. Tempat dan Waktu

Penelitian akan dilaksanakan di Laboratorium Bahan Alami Fakultas Farmasi UMI Makassar untuk persiapan ekstraksi produk bahan alami daun kopasanda, sedangkan persiapan pakan uji dan aplikasi produk bahan alami sebagai antibakteri alami dengan metode pencampuran pada pakan di Laboratorium Kesehatan dan Lingkungan Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Maros yang akan berlangsung dari bulan April sampai November 2016.

4.2. Persiapan Pakan Uji

Sebanyak 500 gram daun kopasanda kering dihaluskan dengan menggunakan blender, kemudian ditimbang sesuai dengan perlakuan dan dicampurkan ke dalam pakan udang windu. Campuran pakan dan bahan alami daun kopasanda dimasukkan ke dalam kantong plastik kemudian dikocok hingga homogen. Setelah homogen dituang ke dalam wadah, ditambahkan air sebanyak 40 % diaduk hingga rata, lalu dilakukan pencetakan dengan menggunakan mesin pencetak pakan.

4.3. Persiapan Wadah dan Pengambilan Hewan Uji

Pasca larva udang windu (*P. monodon*) PL 10 diperoleh dari kegiatan pembenihan di Balai Budidaya Air Payau Takalar dipelihara dalam penggelondongan selama 7 hari hingga diperoleh benur berukuran PL 17. Benur diadaptasikan dalam wadah penampungan (Baskom berkapasitas 50 liter, selama 3 hari dengan pakan standar. Bersamaan dengan kegiatan tersebut dilakukan persiapan wadah penelitian berupa stoples volume 3 liter sebanyak 15 buah. Sebelum digunakan, semua peralatan dan air disterilkan menggunakan kaporit dan dinetralkan dengan Natrium Thiosulfat dan diaerasi kuat. Penyiponan dan pergantian air dilakukan 2 kali sehari yaitu pagi dan sore hari.

4.4. Persiapan Biakan Bakteri *V. harveyi* untuk Penginfeksi

Sebelum dilakukan ujiantang *V. harveyi* terhadap pasca larva udang windu, terlebih dahulu dilakukan uji pengamatan kurva pertumbuhan bakteri. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui kepadatan stok bakteri yang akan diinfeksi. Koloni bakteri *Vibrio* ditumbuhkan pada media TCBSA dalam cawan petri selama 36 jam pada suhu 28°C, kemudian diambil sebanyak 15 jarum ose dan ditumbuhkan kembali dalam media Nutrien Broth (NB) volume 100 ml. Sampling dilakukan setiap dua jam dengan cara mengambil cairan (NB) sebanyak 1 mL kemudian diencerkan secara bertingkat (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} dan seterusnya) dalam 9 mL larutan fisiologis. Kemudian dari masing-masing pengenceran diambil 100 µL dan ditumbuhkan pada media TCBSA dengan metode sebar selama 48 jam pada suhu 28°C. Setelah diketahui populasi bakteri dalam NB, maka volume suspensi bakteri dalam NB yang akan diinfeksi ke dalam media pemeliharaan udang uji dapat dihitung dengan menggunakan rumus pengenceran sebagai berikut :

$$N_1 \cdot V_1 = N_2 \cdot V_2$$

keterangan :

N_1 = Kepadatan populasi bakteri *Vibrio* dalam NB (CFU/mL)

V_1 = Volume suspensi bakteri *Vibrio* dalam NB yang dibutuhkan
(mL)

N_2 = Kepadatan populasi bakteri yang dikehendaki (CFU/mL)

V_2 = Volume media air dalam wadah pemeliharaan udang uji
(mL)

Selanjutnya dilakukan infeksi buatan (*experimental infection*) dengan kepadatan populasi bakteri 10^7 CFU/mL (Kadriahet *al.*, 2012) dengan cara perendaman (Hameed 1995) ke dalam wadah pemeliharaan udang uji.

4.5. Persiapan Hewan Uji

Hewan uji berupa benur PL (Post Larvae) 13 yang diambil kegiatan pembenihan di Balai Budidaya Air Payau Takalar diaklimatisasi selama 7 hari sampai mencapai PL 20. Selama masa pemeliharaan, benur diberikan pakan

komersil sebanyak 2 x per hari, diberi aerasi yang kuat, disipon dan diberi pergantian hari selama 2 (dua) kali sehari. Benur kemudian diseleksi dengan panjang dan berat benur masing-masing adalah $1,04 \pm 0,02 \text{ cm}$ dan $0,008 \pm 0,0007 \text{ g}$ (rata-rata $\pm$ standar deviasi). Sampel benur tersebut telah lolos seleksi numeric yaitu seleksi secara makroskopis dan mikroskopis, termasuk pengujian dengan metode PCR. Benur tersebut kemudian dicuci dalam formalin (*formaldehyde* 38 %) dengan konsentrasi 200 ppm selama 25 menit dan aerasi kuat. Tujuan perendaman dengan formalin adalah meyakinkan bahwa hewan uji tersebut telah bebas dari infeksi patogen (Chanratchakoo *et al.*, 1998).

Benur yang terseleksi kemudian dipelihara dalam 15 buah kontainer kaca (5 perlakuan dengan 3 ulangan) kapasitas 30 ekor/2L air laut steril 28 ppt. Benur diadaptasikan selama 24 jam dan dipuasakan. Setelah adaptasi, benur diberikan perlakuan pemberian serbuk daun kopasanda sebagai antibakteri alami pada pakan dengan konsentrasi: A : 0 ppm (kontrol), B. 1000 ppm; C: 1500 ppm dan E : 1750 ppm.

Pasca larva kemudian dipelihara dalam wadah terkontrol. Selama pemeliharaan pasca larva diberi pakan sesuai perlakuan 2 x sehari, diberi aerasi disipon dan dilakukan pergantian air. Diamati pertumbuhan dan kelangsungan hidup udang.

4.5. Perlakuan

Perlakuan yang dicobakan dalam penelitian ini adalah pemberian serbuk daun kopasanda (*C. odorata*) sebagai antibakteri alami pada pakan dengan konsentrasi sebagai berikut:

- A. 0 ppm (Kontrol)
- B. 1000.ppm
- C. 1250 ppm
- D. 1500 ppm
- E. 1750 ppm

4.6. Uji Tantang dengan *V. harveyi*

Uji tantang dilakukan pada hari ke-14, isolate bakteri *Vharveyi* dikultur menggunakan SWC cair pada *shaker* berkecepatan 180 rpm pada suhu 29°C .

Pemanenan bakteri dilakukan sesuai waktu pencapaian fase eksponensial (10jam). Hasil kultur bakteri yang diperoleh kemudian diukur nilai kerapatan atau *optical density* (OD) untuk mengetahui populasi bakteri dengan menggunakan spektrofotometer. Ujiantang dilakukan menggunakan bakteri *Vibrio* patogen dengan konsentrasi 10^6 CFU/mL dengan metode perendaman selama 24jam. Udang yang telah diinfeksi ke wadah pemeliharaan dipelihara selama 7 hari. Selama pemeliharaan, pasca larva diberi pakan sesuai perlakuan yaitu: A : Pakan Komersial tanpa antibakteri alami tetapi diinfeksi *V. harveyi* (kontrol), B. Pakan komersial ditambah antibakteri alami 1000 ppm, C: Pakan komersial ditambah antibakteri alami 1150 ppm (kg/mg/berat pasca larva), D: Pakan komersial ditambah antibakteri alami 1250.ppm, E : Pakan komersial ditambah antibakteri alami 1750 ppm. :

4.7. Parameter Pengamatan

4.7.1. Tingkat Kelangsungan Hidup

Tingkat kelangsungan hidup udang diamati setelah ujiantang hari ke 7 dengan menggunakan rumus (Effendie, 1997) di bawah ini:

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

Dimana :

SR = Sintasan (%)

N_t = Jumlah individu pada akhir penelitian (ekor)

N_o = Jumlah individu pada awal penelitian (ekor)

4.7.2. Pertumbuhan Biomassa

Pertumbuhan biomassa pascalarva udang windu diamati pada awal dan akhir penelitian, Pertumbuhan biomassa merupakan selisih antara bobot biomassa awal dan bobot biomassa akhir.

4.7.3 .Populasi Bakteri.

Pengukuran populasi bakteri dilakukan pada media pemeliharaan dan tubuh pasca larva udang windu dengan metode hitungan cawan pada media

TCBSA setelah 24, 48 jam, 72 jam, 96 jam dan setiap 24 jam sampai akhir masa pemeliharaan.

4.8. Pengukuran Kualitas Air

Pengukuran parameter kualitas air dilakukan setiap pagi jam 07.00 dan sore hari jam 17.00 selama penelitian. Data tersebut dipergunakan sebagai penunjang kegiatan penelitian. Pengukuran dilakukan terhadap suhu, oksigen terlarut (Dissolved Oxygen-DO), pH, salinitas, bahan organik total (BOT), serta amoniak (NH_3). Pengukuran suhu dan oksigen terlarut menggunakan DO meter (YSI 58, Yellow Springs Instrumen co. Inc., USA). Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan portable pHmeter (Meterlab PHM201, Radiometer Analytical, S.A., France). Pengukuran salinitas dilakukan dengan menggunakan *hand refraktometer* (Atago S/mill –E–Japan). Pengukuran BOT dan amoniak dilakukan dengan metode spektrofotometer.

BAB V. HASIL YANG TELAH DICAPAI

5.1. Uji Pendahuluan

Uji Pendahuluan dilakukan untuk mengetahui respon udang terhadap pakan uji apakah pakan uji yang akan dicobakan dapat dikonsumsi dengan baik oleh udang windu. Untuk tujuan tersebut, dilakukan uji coba pemberian pakan dengan menyiapkan 5 wadah pemeliharaan, setiap wadah diisi air laut salinitas 28 permil dan ditebari udang dengan kepadatan 15 ekor/liter dilengkapi peralatan aerasi dan diberi pakan yang mengandung antibakteri alami dari daun kopasanda. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa udang windu dapat mengonsumsi pakan yang mengandung antibakteri alami daun kopasanda dengan baik.

5.2. Uji Utama

Berdasarkan uji pendahuluan, udang dapat mengonsumsi dengan baik pakan yang mengandung bahan alami daun kopasanda, sehingga penelitian ini dilanjutkan pada uji utama untuk mengkaji bagaimana pengaruh bahan alami daun kopasanda ini terhadap pertumbuhan dan sintasan udang windu setelah dipelihara dengan berbagai konsentrasi bahan alami daun kopasanda.

5.2.1 Pertumbuhan Biomassa Udang windu

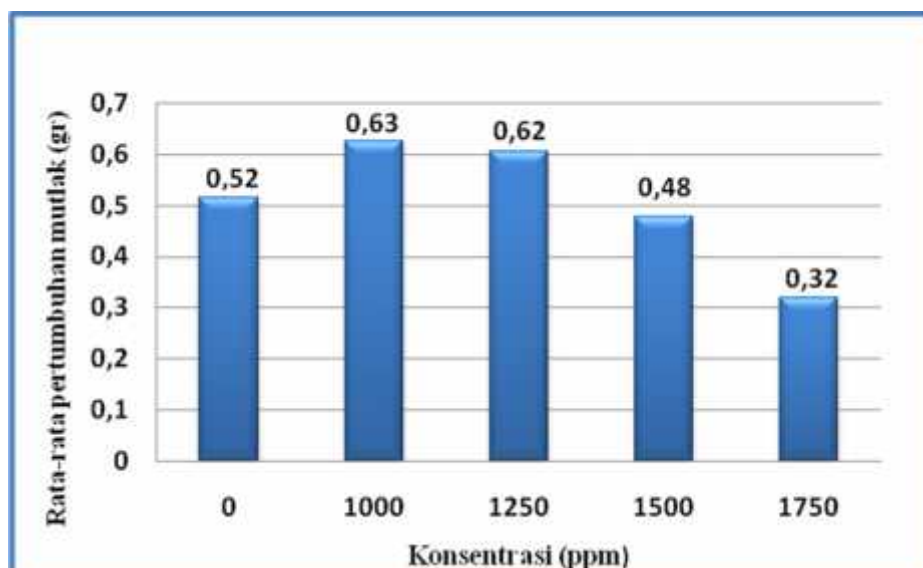
Pertumbuhan biomassa udang windu yang diperoleh selama pemeliharaan disajikan pada Tabel 3 dan Gambar 2.

Tabel 3. Pertumbuhan Biomassa Pasca Larva Udang windu selama Pemeliharaan

Perlakuan	Ulangan	Berat PL udang Uji		Pertumbuhan Mutlak
		Berat Awal	Berat Akhir	
A Kontrol	1	0,241	0,715	0,474
	2	0,241	0,762	0,521
	3	0,241	0,791	0,550
Jumlah		0,723	2,268	1,545
Rata-Rata		0,241	0,756	0,515
	1	0,241	0,873	0,632

B (1000 ppm)	2	0,241	0,864	0,623
	3	0,241	0,863	0,622
Jumlah		0,723	2,600	1,877
Rata-Rata		0,241	0,849	0,626
C (1250 ppm)	1	0,241	0,866	0,625
	2	0,241	0,807	0,566
	3	0,241	0,864	0,623
Jumlah		0,723	2,527	1,814
Rata-Rata		0,241	0,846	0,605
D (1500 ppm)	1	0,241	0,745	0,504
	2	0,241	0,708	0,467
	3	0,241	0,703	0,462
Jumlah		0,723	2,156	1,433
Rata-Rata		0,241	0,719	0,478
E (1750 ppm)	1	0,241	0,578	0,337
	2	0,241	0,577	0,336
	3	0,241	0,529	0,288
Jumlah		0,723	1,684	0,961
Rata-Rata		0,241	0,561	0,320

Dari hasil pengamatan pada Tabel 3 maka diperoleh Rata-rata pertumbuhan biomassa pasca larva udang windu pada berbagai konsentrasi bahan alami daun kopasanda sebagaimana disajikan pada Tabel 4 dan Gambar 2



Gambar 2. Histogram Rata-Rata Pertumbuhan Mutlak Pasca larva isca
Udang Windu

larva udang windu dengan perlakuan konsentrasi bahan alami daun kopasanda sebagai anti bakteri alami dalam pakan memperlihatkan hasil yang berbeda, pertumbuhan mutlak tertinggi diperoleh pada perlakuan B (1000 ppm) sebesar 0,63 gram, disusul dengan perlakuan C (1250 ppm) dan pertumbuhan mutlak menurun sejalan dengan penambahan konsentrasi bahan alami daun kopasanda.

Tabel 4 Rata-Rata Pertumbuhan Mutlak Udang Windu

Konsentrasi (ppm)	Senyawa Bioaktif	Pertumbuhan mutlak (gram)
A. Kontrol		0,515 ^a
B. 1000		0,626 ^b
C. 1250		0,605 ^b
D. 1500		0,478 ^{ac}
E. 1750		0,320 ^d

Keterangan: Huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

Berdasarkan Hasil Uji statistik diperoleh gambaran bahwa pemberian bahan alami daun kopasanda dengan konsentrasi yang berbeda menunjukkan pengaruh yang berbeda terhadap pertumbuhan mutlak pasca larva udang windi. Perlakuan A dengan konsentrasi 1000 ppm berbeda nyata dengan perlakuan Tanpa pemberian bahan alami daun kopasanda, namun tidak berpengaruh nyata dengan perlakuan C (1250 ppm), dan berbeda nyata dengan perlakuan D (1500 ppm) dan perlakuan E (1750 ppm). Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan yang terbaik yang dapat meningkatkan pertumbuhan mutlak pasca larva udang windu adalah 1000 ppm.

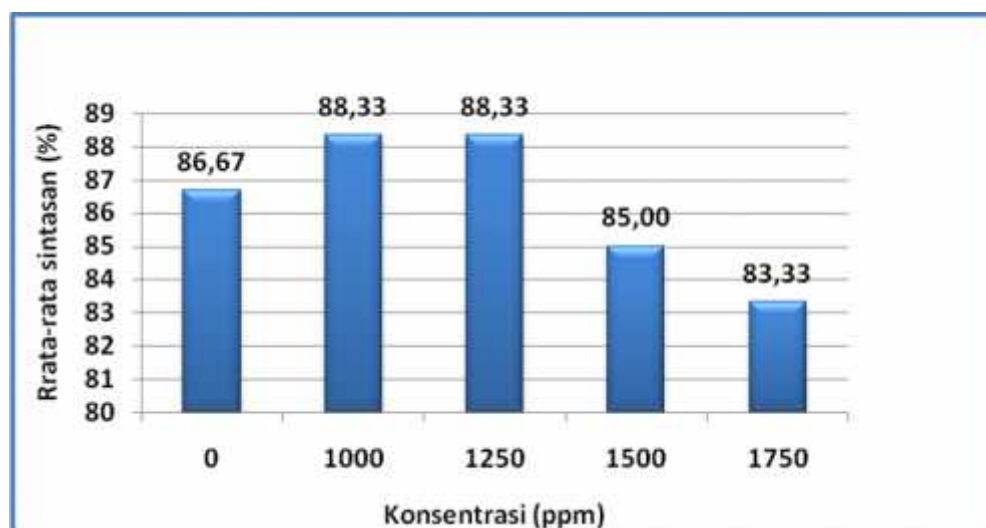
5.2.2. Sintasan Pasca Larva Udang windu

Untuk mengetahui respon pasca larva udang terhadap pakan uji yang dicobakan maka indikator yang digunakan adalah seberapa besar s udang yang dikenal dengan sintasan pasca larva udang windu. Sintasan dapat diketahui dengan melakukan pengamatan terhadap kematian udang setiap hari. Adapun hasil pengamatan tingkat Sintasan udang disajikan pada Tabel 5..

Tabel 5 . Sintasan Pascalarva Udag Windu Yang di Uji sebelum diuji Tantang dengan *V. harveyi*

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)	Ulangan	Total Sintasan (%)	Rata-rata
A (Kontrol)	0	1	85	86,67
		2	85	
		3	90	
B (1000 ppm)	1000	1	95	88,33
		2	85	
		3	85	
C (1250 ppm)	1250	1	90	86,67
		2	85	
		3	85	
D (1500 ppm)	1500	1	80	85,00
		2	85	
		3	90	
E (1750 ppm)	1750	1	80	83,33
		2	90	
		3	80	

Data komulatif kelangsungan hidup (%) pasca larva udang windu setelah 14 Hari pemeliharaan dengan berbagai konsentrasi bahan alami daun kopasanda dalam pakan disajikan pada Tabel 6 dan Gambar 3



Gambar 3. Rata-Rata Sintasan Pasca Larva Udag Windu

Berdasarkan Gambar 3 dan Tabel 6 dapat dijelaskan bahwa sintasan pasca larva udang windu berbeda dengan perlakuan pemberian bahan alami dan kopasanda dalam pakan dengan konsentrasi yang berbeda.

Tabel 6. Persentase Sintasan Pasca larva Udang Windu

Konsentrasi Senyawa Bioaktif (ppm)	Sintasan (%)
A. Kontrol	86,67 ^a
B. 1000	88,33 ^a
C. 1250	86,67 ^a
D. 1500	85,00 ^a
E. 1750	83,33 ^a

Keterangan: Huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

Namun berdasarkan hasil analisis statistik pada Tabel 6 menunjukkan bahwa perlakuan yang dicobakan tidak menunjukkan adanya pengaruh yang berbeda terhadap sintasan pasca larva udang windu, akan tetapi berpengaruh terhadap pertumbuhan pasca larva udang windu (Tabel 5)

5.3. Uji Tantang dengan *Vibrio* sp.

5.3.1. Mortalitas Udang windu setelah uji tantang

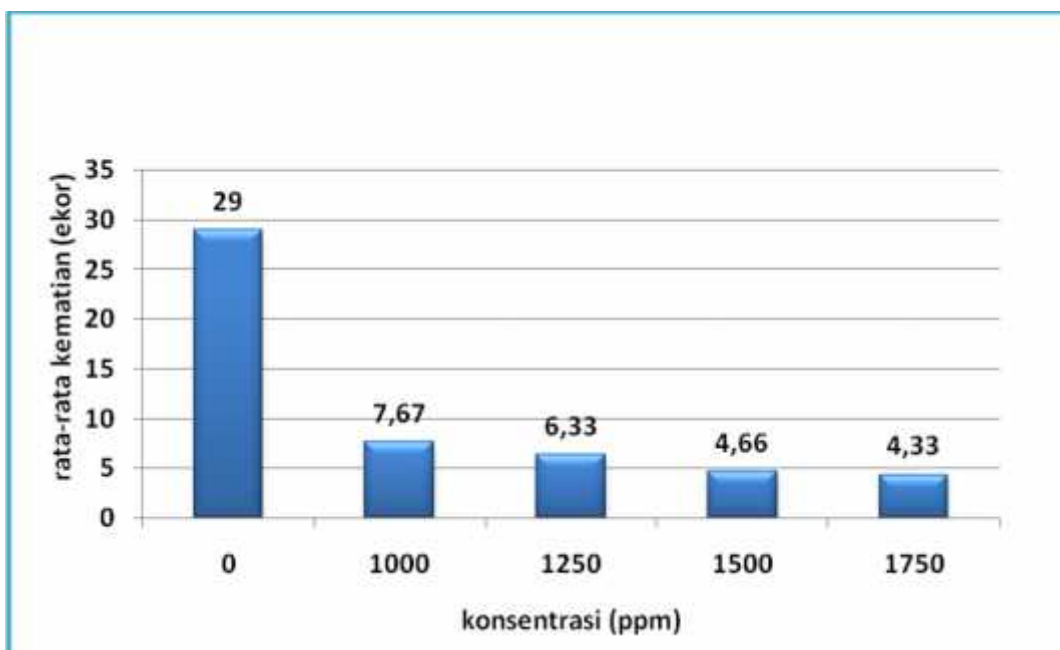
Kegiatan uji tantang dilakukan untuk mengetahui efektifitas penggunaan bahan alami daun kopasanda sebagai anti bakteri alami dalam upaya pencegahan serangan penyakit Vibriosis pada pasca larva udang windu. Semakin rendah tingkat mortalitas pasca larva udang windu maka semakin efektif digunakan dalam pencegahan penyakit Vibriosis. Uji tantang dilakukan setelah pemeliharaan udang uji dengan pemberian pakan uji sesuai dengan konsentrasi yang dicobakan, dengan tujuan meningkatkan ketahanan tubuh pasca larva udang windu..

Berdasarkan hasil pengamatan kematian pasca larva udang windu setelah uji tantang disajikan pada Tabel 6

Tabel 7.. Jumlah Kematian (Ekor) Pascalarva Udang Yang di UjiTantang dengan *V. harveyi*

Konst. (ppm)	Jumlah kematian udang pada pengamatan hari ke:							Total (Ekor)	Rata Rata
	1	2	3	4	5	6	7		
A. 0	14	14	0	0	0	0	0	28	29,00
	14	16	0	0	0	0	0	29	
	12	18	0	0	0	0	0	30	
B.1000 ppm	5	0	1	1	0	0	0	6	7,67
	4	2	2	1	0	0	0	9	
	5	1	1	0	0	0	0	7	
C. 1250 ppm	3	2	1	0	0	0	0	6	6,33
	4	1	0	1	0	0	0	6	
	3	2	2	0	0	0	0	7	
D. 1500 ppm	3	1	1	0	0	0	0	5	4,66
	2	1	1	1	0	0	0	5	
	2	1	0	1	0	0	0	4	
E. 1750 ppm	3	0	1	0	0	0	0	4	4,33
	2	1	1	1	0	0	0	5	
	2	1	0	1	0	0	0	4	

Sedangkan rata-rata mortalitas pasca larva udang windu disajikan pada Gambar 4



Gambar 4. Prosentase Mortalitas PL Udang windu setelah Uji Tantang dengan *Vibrio harveyi*

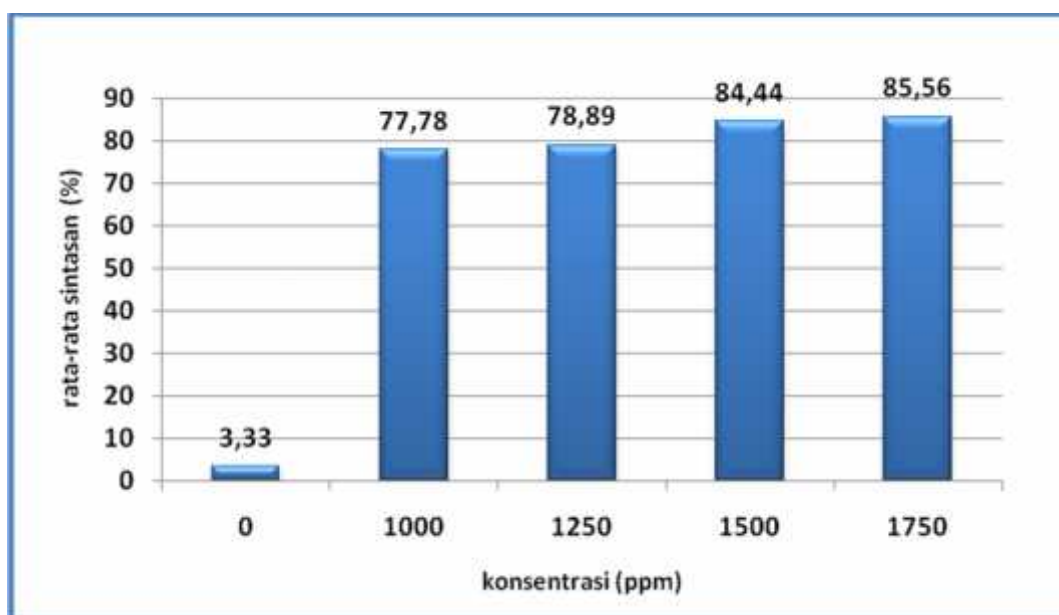
Gambar 4 menunjukkan bahwa perlakuan A (0 ppm) tanpa aplikasi bahan alami daun kopasanda sebagai anti bakteri alami diperoleh persentase kematian yang sangat tinggi mencapai 96,67 %, Sementara perlakuan dengan berbagai konsentrasi bahan alami daun kopasanda sebagai antibakteri menunjukkan tingkat mortalitas yang rendah. Terlihat pula bahwa terjadi penurunan tingkat mortalitas sejalan dengan peningkatan konsentrasi bahan alami daun kopasanda

5.3.2. Sintasan Udang windu setelah uji Tantang

Tabel 5 . Sintasan Pascalarva Udang Windu Yang di Uji setelah diuji Tantang dengan *V. harveyi*

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)	Ulangan	Total Sintasan (%)	Rata-rata
A (Kontrol)	0	1	6,67	3,33
		2	3,33	
		3	0,00	
B (1000 ppm)	1000	1	76,67	77,78
		2	76,67	
		3	80,00	
C (1250 ppm)	1250	1	80,00	78,89
		2	80,00	
		3	76,67	
D (1500 ppm)	1500	1	83,33	84,44
		2	83,33	
		3	86,67	
E (1750 ppm)	1750	1	86,67	85,56
		2	83,33	
		3	86,67	

Sedangkan rata-rata sintasan pasca larva udang windu setelah uji tantang disajikan pada Gambar 4. Berdasarkan data pada Tabel 5 dan Gambar 4 terlihat bahwa perlakuan A (0 ppm) tanpa aplikasi bahan alami daun kopasanda sebagai anti bakteri alami diperoleh persentase sintasan yang sangat rendah yaitu mencapai 3,33 %, Sementara perlakuan dengan berbagai konsentrasi bahan alami daun kopasanda sebagai antibakteri menunjukkan tingkat sintasan yang tinggi. Terlihat pula bahwa terjadi peningkatan persentase sintasan sejalan dengan peningkatan konsentrasi bahan alami daun kopasanda



Gambar 5. Rata-Rata Sintasan Pasca Larva Udang Windu setelah uji tantang *V. harveyi*

Tabel 4 Hasil Uji Statistik Sintasan (%) Pasca Larva Udang Windu setelah Uji Tantang

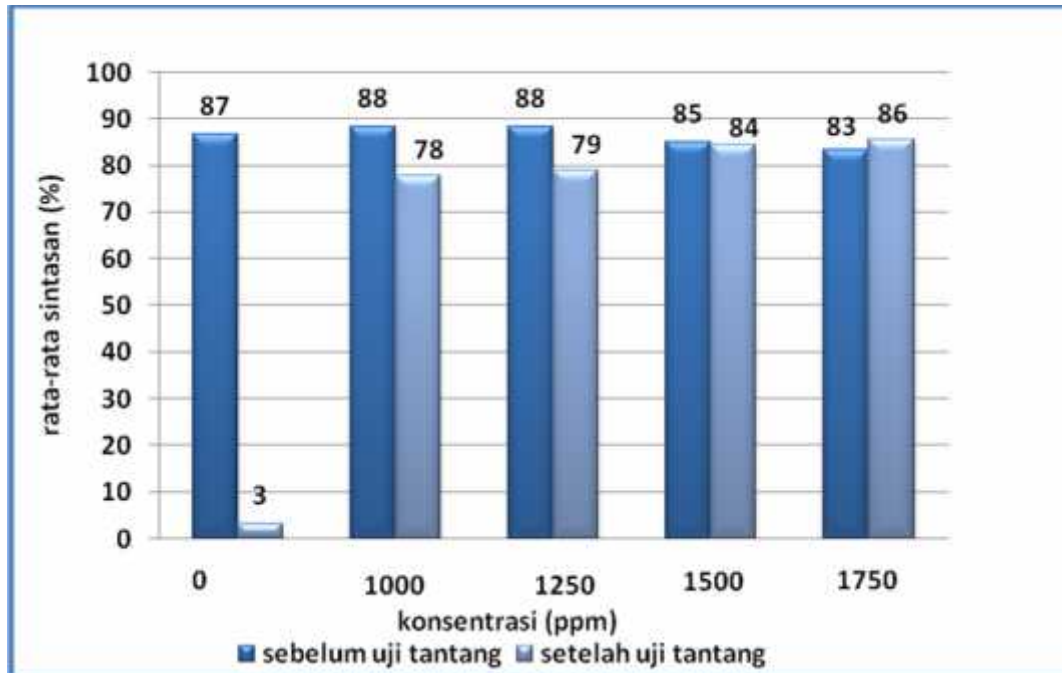
Konsentrasi Senyawa Bioaktif (ppm)	Sintasan (%)
A. Kontrol	3,33 ^a
B. 1000	77,78 ^b
C. 1250	78,89 ^b
D. 1500	84,44 ^{ac}
E. 1750	85,56 ^d

Keterangan: Huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

Berdasarkan hasil uji statistic pada Tabel 4 menunjukkan pemberian bahan alami daun kopasanda dalam pakan memberi pengaruh yang nyata terhadap rata-rata sintasan pasca larva udang windu.

Perlakuan yang memberikan sintasan tertinggi adalah Perlakuan sengan konsentrasi 1750 ppm dengan tingkat sintasan 85,56 %.

Pada Gambar 6 memperlihatkan nilai sintasan yang diperoleh sebelum dan sesudah uji tantang *Vibrio harveyi*. Dari Gambar tersebut menjelaskan bahwa aplikasi bahan alami daun kopasanda dalam upaya pencegahan penyakit Vibriosis pada larva udang windu efektif digunakan dengan cara melalui pemberian pakan,



Gambar 6. Sintasan Pasca Larva Udang windu sebelum dan Sesudah Uji Tantang dengan *V. harveyi*

Bila dibandingkan larva udang windu yang tidak diberi bahan alami daun kopasanda dan tidak diuji tantang dengan *Vibrio harveyi* dapat mencapai sintasan sebesar 87 %, sementara apabila diuji tantang dengan *Vibrio harveyi* tanpa aplikasi bahan alami daun kopasanda sintasan yang diperoleh hanya 3,33 %. Perlakuan yang terbaik menghasilkan sintasan yang tinggi setelah diuji tantang dengan *V. harveyi* adalah 1750 ppm

5.3.3 Pengamatan Populasi *V. harveyi* pada tubuh Pasca Larva Udang Windu

Tabel 8 .Data Populasi Bakteri (CFU/mL) Pada Tubuh Pasca Larva Udang Windu dengan Pengobatan Beberapa Konsentrasi Senyawa Bioaktif Daun Kopasada

	Ulangan	Waktu Pengamatan hari ke -					
		1	2	3	4	5	6
A. Kontrol	1	181.10 ⁴	273.10 ⁴	381.10 ⁴	525.10 ⁴	230.10 ³	131.10 ³
	2	192.10 ⁴	268.10 ⁴	374.10 ⁴	521.10 ⁴	228.10 ³	124.10 ³
	3	173.10 ⁴	275.10 ⁴	379.10 ⁴	524.10 ⁴	234.10 ³	116.10 ³
Rata-rata		1,82 .10 ⁶	1,82.10 ⁶	3,78 .10 ⁶	5,23.10 ⁶	2,30.10 ⁵	1,23.10 ⁵
B. 1000 ppm	1	113.10 ³	53.10 ³	113.10 ²	41.10 ²	21.10 ²	11.10 ²
	2	135.10 ³	35.10 ³	105.10 ²	33.10 ²	34.10 ²	14.10 ²
	3	157.10 ³	57.10 ³	107.10 ²	36.10 ²	27.10 ²	27.10 ²
Rata-Rata		1,35 .10 ⁵	4,83.10 ⁴	1,08 .10 ⁴	3,66.10 ³	2,73.10 ³	1,73.10 ³
C 1250 ppm	1	315.10 ²	214.10 ¹	121.10 ¹	71.10 ¹	38.10 ¹	8.10 ¹
	2	312.10 ²	225.10 ¹	136.10 ¹	74.10 ¹	41.10 ¹	3.10 ¹
	3	311.10 ²	211.10 ¹	127.10 ¹	82.10 ¹	32.10 ¹	2.10 ¹
Rata-Rata		3,12 .10 ³	2,16.10 ³	1,28 .10 ³	7,50.10 ²	3,70.10 ²	4,3.10 ¹
D 1500 ppm	1	210.10 ¹	110.10 ¹	93.10 ¹	47.10 ¹	26.10 ¹	3.10 ¹
	2	223.10 ¹	132.10 ¹	91.10 ¹	42.10 ¹	22.10 ¹	2.10 ¹
	3	224.10 ¹	135.10 ¹	87.10 ¹	48.10 ¹	27.10 ¹	3.10 ¹
Rata-Rata		2,19 .10 ³	1,25.10 ³	9,03 .10 ²	4,56.10 ²	2,50.10 ²	2,67.10 ¹
E 1750 ppm	1	181.10 ¹	82.10 ¹	61.10 ¹	12.10 ¹	4. 10 ¹	2.10 ¹
	2	159.10 ¹	69.10 ¹	50.10 ¹	15.10 ¹	3. 10 ¹	1. 10 ¹
	3	182.10 ¹	83.10 ¹	62.10 ¹	14.10 ¹	4. 10 ¹	3. 10 ¹
Rata-Rata		1,74..10 ³	7,80.10 ²	5,76.10 ²	1,20.10 ²	3,67.10 ¹	2,00.10 ¹

Tabel 8 menunjukkan populasi *Vibrio harveyi* selama pemeliharaan, terlihat bahwa terjadi penurunan populasi *V. harveyi* sejalan dengan peningkatan konsentrasi bahan alami daun kopasanda

5.3.4. Pengamatan Kualitas Air Media Pemeliharaan

Untuk mempertahankan kualitas air yang baik, kondisi fisik dan kimia air pemeliharaan seharusnya dipertahankan pada level yang aman. Pengukuran kualitas air dilakukan pada awal, tengah dan akhir percobaan dengan parameter suhu, salinitas, pH, dan oksigen terlarut. Dari data kualitas air yang didapatkan (Tabel 9) terlihat bahwa faktor-faktor kualitas air sebagai media kehidupan pascalarva udang pada saat penelitian berlangsung secara umum berada pada kondisi yang optimal untuk pertumbuhan pascalarva udang windu. Ini menunjukkan bahwa kualitas air tidak berpengaruh terhadap kematian udang windu, sehingga kematian udang windu semata-mata hanya disebabkan oleh faktor pemberian senyawa bioaktif daun kopasanda.

Tabel 9. . Kualitas Air Media Pemeliharaan Pasca Larva Udang Windu

Konsent (ppm)	Salinitas (ppt)	pH	Suhu (°C)	Amoniak (NH ₃)	O ₂ terlarut (mg/L)
A. Kont	28,65±0,29	7,12±0,06	26,74±0,39	0,048±0,003	5,87±0,26
B. 1000	28,72±0,19	7,18±0,12	26,77±0,33	0,043±0,025	5,83±0,16
C. 1250	28,68±0,25	7,16±0,13	26,76±0,31	0,053±0,026	5,84±0,12
D. 1500	28,69±0,19	7,11±0,05	26,71±0,19	0,054±0,028	5,83±0,16
E. 1750	28,71±0,30	7,14±0,06	26,82±0,38	0,054±0,028	5,92±0,23

Udang windu, merupakan organisme eurihalin, kisaran salinitas yang optimum perlu dipertahankan. Udang windu mampu menyesuaikan diri terhadap salinitas 3-45 ppt, namun untuk pertumbuhan optimum diperlukan salinitas 15-25 ppt (Jang *et al.*, 2013). Tabel 9 menunjukkan bahwa nilai salinitas selama periode pemeliharaan berkisar 28,65-28,72. nilai pH yang diobservasi selama periode pemeliharaan pasca larva berkisar antara 7,11-7,18. Kisaran pH yang baik untuk pertumbuhan udang windu *P. monodon* adalah 7,5-8,7 dengan pH optimum 8,0-8,5 (Jang *et al.* 2013). Derajat keasaman (pH) adalah salah satu karakteristik lingkungan yang vital untuk kelangsungan hidup dan pertumbuhan

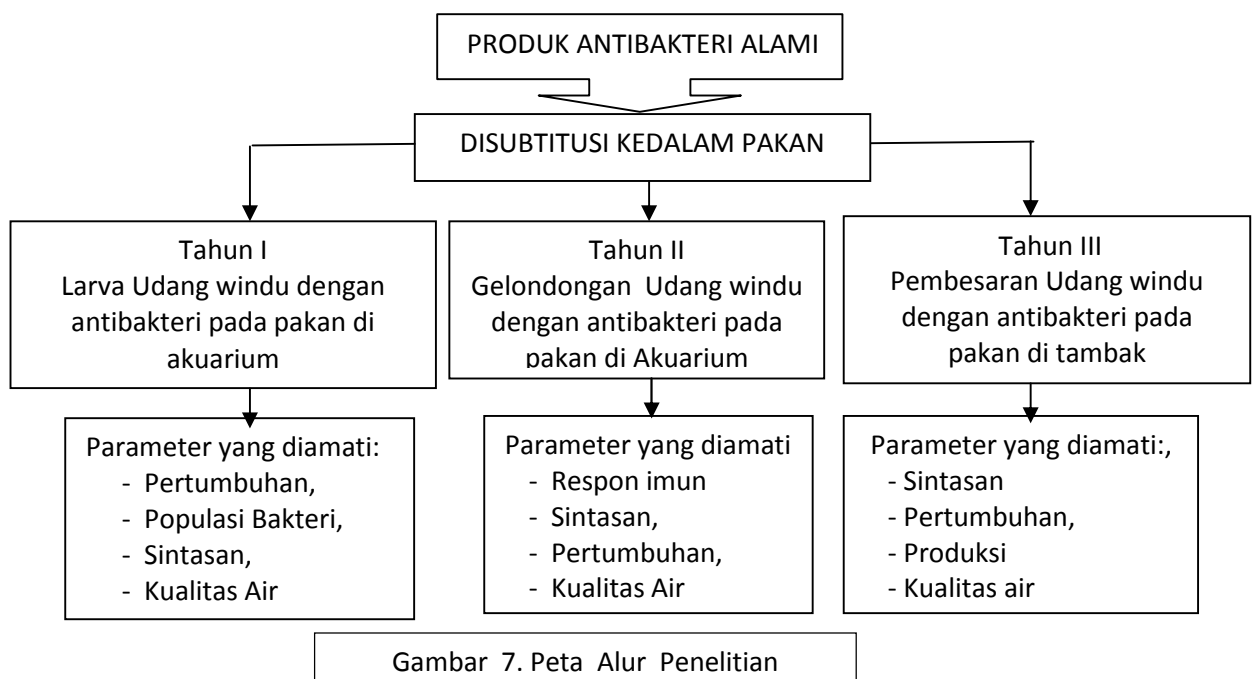
budidaya udang. Tabel 8 juga memperlihatkan suhu pemeliharaan air berkisar antara 26,71-26,82 °C. Pertumbuhan yang optimum *P.monodon* suhu seharusnya berkisar antara 25-31°C dan oksigen terlarut berkisar antara 4-8 mg/mL. Pada penelitian ini diperoleh oksigen terlarut berada pada kisaran yang optimum untuk pertumbuhan udang windu *P.monodon* yaitu sebesar 5,83-5,92 ppm. Berdasarkan nilai kisaran parameter kualitas air selama penelitian berada pada kisaran yang layak untuk kehidupan pasca larva udang windu

BAB VI RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA

Rencana penelitian ” Strategi Pencegahan Penyakit Vibriosis pada Udang Windu (*Penaeus monodon* Fabr.) Menggunakan Produk Bahan Alami” terdiri dari 3 Tahap (Tiga Tahun) Tahun Pertama telah dilaksanakan untuk mengetahuiEfektifitas pemanfaatan bahan alami daun kopasanda sebagai antibakteri alami dalam pakan dalam upaya pencegahan penyakit vibriosis pada pasca larva udang windu skala laboratorium. Selanjutnya rencana tahun berikutnya:

Tahun ke dua pada tahun 2017 akan dilakukan penelitian pada gelondongan udang windu dengan menggunakan formulasi pakan yang mengandung bahan alami daun kopasanda sebagai antibakteri (Hasil Penelitian Tahun I) dengan tujuan mengetahui respon imun, pertumbuhan biomassa, serta sintasan gelondongan udang windu dalam upaya pencegahan serangan penyakit Vibriosis

Tahun ke tiga pada tahun 2018 akan dilakukan uji coba aplikasi produk pakan yang mengandung bahan alami daun kopasanda.sebagai antibakteri alami (Hasil Peneliti Tahun II) pada pembesaran udang windu di tambak dalam upaya pencegahan serangan penyakit Vibriosis pada budidaya udang windu.penyebab kematian massal udang windu..Untuk lebih jelasnya rencana kegiatan pada tahap selanjutnya disajikan pada peta alur penelitian pada Gambar 7



BAB VII. KESIMPULAN DAN SARAN

7.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Penggunaan bahan alami daun kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) dalam pakan pasca larva udang windu efektif digunakan dalam pencegahan penyakit vibriosis pada pasca larva udang windu.
2. Pertumbuhan mutlak dan kelangsungan hidup pasca larva udang windu sebelum uji tantang dengan *Vibrio harveyi* tertinggi diperoleh pada konsentrasi bahan alami daun kopasanda 1000 ppm dan 1250 ppm, terendah diperoleh pada perlakuan dengan konsentrasi 1750 ppm,
3. Mortalitas dan populasi *vibrio harveyi* pasca larva udang windu yang diuji tantang dengan *Vibrio harveyi*. tertinggi pada perlakuan kontrol(tanpa bahan alami daun kopasanda), dan mengalami penurunan sejalan dengan meningkatnya konsentrasi bahan aktif daun kopasanda
4. Sintasan tertinggi diperoleh pada perlakuan 1750 ppm
5. Kualitas Air selama penelitian berada pada kondisi yang layak untuk udang windu

7.2 Saran

Sehubungan dengan hasil penelitian tahun pertama ini, diperlukan penelitian lebih lanjut efek bahan alami daun kopasanda pada pakan terhadap sistem imun udang windu ukuran gelondongan.

DAFTAR PUSTAKA

- Akinmoladun, A.C., E.O.Ibokun and I.A. Dan-Ologe. 2007. Phytochemical constituents and antioxidant properties of extracts from the leaves of *Chromolaena odorata*. Scientific Research and Essay Vol. 2 (6), pp. 191-194
- Anonim 2014. http://en.wikipedia.org/wiki/Chromolaena_odorata (Diakses 10 Pebruari 2014).
- Bourne, D., L. H. J., N. Webster, M. Payne, M. Skinderse, M. Givskov and M. Hall, 2007. Microbiological Aspects of Phyllosoma Rearing of the Ornate Rock Lobster *Panulirus ornatus*. Aquaculture, 268: 274-287
- Brown, J. H. 1989. Antibiotics, their use and abuse in aquaculture. *Aquaculture* 2:34-43.
- Diggles, B.K., G.A. Moss, J. Carson and C.D. Anderson, 2000. Luminous vibriosis in Rock lobster *Jasus verreauxi* (Decapoda: Palinuridae) phyllosoma larvae associated with infection by *Vibrio harveyi*. *Dis. Aquat. Organ.*, 43:127-137
- Djojoseumarto, P. 2012. Fungisida dan bakterisida yang berasal dari alam. Artikel. <http://www.gerbangpertanian.com/2011/12/fungisida-dan-bakterisida-alami.html>.
- Fitriyani E., S. Kusmardiyanti, I. Firdianny. 2007. Isolasi Suatu Flavonol dari Fraksi Etil Asetat Daun Kirinyuh (*Eupatorium pallescens* DC, Asteraceae). Skripsi. Sekolah Farmasi Institut Teknologi Bandung
- Harlina, A. Prajitno, E. Suprayitno, dan H. Nursyam 2013a. Uji fitokimia, Uji aktivitas antibakteri ekstrak senyawa aktif daun kopasanda terhadap *Vibrio harveyi* dan Uji toksisitas ekstrak daun kopasanda terhadap pascalarva udang windu secara *In vitro*.
- Harlina, A. Prajitno, E. Suprayitno, dan H. Nursyam 2013b. The Identification of Chemical Compound and Antibacterial Activity Test of Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) Leaf Extract Against Vibriosis-Causing *Vibrio harveyi* (MR 275 Rif) on Black Tiger Shrimp. *Aquatic Science and Technology* Vol 1 No 2 2013 ISSN 2168-9148
- Harlina, Hasnidar dan Rusli, 2013c. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Kopasanda (*Chromolaena odorata*) Terhadap Bakteri *V. harveyi* Penyebab Vibriosis pada Pasca Larva Udang Windu (*Penaeus monodon* Fabricius). Prosiding (In Progresif). Seminar Nasional Kelautan dan Perikanan. Kupang, 12 Oktober 2013.
- Harlina, A. Prajitno, E. Suprayitno, dan H. Nursyam, 2014. Uji Toksisitas Ekstrak Daun kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) Terhadap Pasca Larva Udang Windu (*Penaeus monodon* Fabricius). Prosiding. Seminar

- Harlina, A. Prajitno, E. Suprayitno, dan H. Nursyam, 2014. Potential Study of Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) Leaves as Antibacterial Against *Vibrio harveyi*, Disease Causative Agent of Tiger Shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius) Post Larvae. *Journal of Applied Aquaculture*, 26, 3, 2014 (Accepted Letter)
- Harlina, M.Kasnir, Rustam and Jayadi, .2016. Isolation and Identification of Bioactive Compound of Kopasanda Leaf to Fight *Vibrio harveyi* on Post Larvae Tiger Prawn (*Penaeus monodon* Fabricius) *International Journal of Tropical Medicine*, 11 (4) 72-79
- Isnansetyo, A.Trijoko, Setyowati, E. P, and Anshory, H. H. 2009. *In vitro* antibacterial activity of methanol extract of asponge, *Geodia* sp. Against oxytetracyclin-resistant *Vibrio harveyi* and its toxicity. *J. Biol. Sci* 9: 224-230.
- Jivaranichpaisal, P.T.,T. Miyasaki and C.Limsuwan, 1994. Histopathology, biochemistry and pathogenicity of *Vibrio harveyi* infecting black tiger prawn *Penaeus monodon*. *J. Aquat. Ann. Health*, 6: 27-35.
- KarunaSagar, I., R.Pai, G.R.Malathi and I.KarunaSagar, 1994. Mass mortality of *Penaeus monodon* larvae due to antibiotic resistant *Vibrio harveyi* infection. *Aquaculture*, 128: 203-209.
- Kamiso, H.N. 1996. Vibriosis pada Ikan dan Alternatif Cara Penanggulangannya. *J.Perikanan UGM (GMU J.Fish. Sci)* 1(1): 78-86.
- Kasnir M., Harlina, Rosmiati. 2014 Water Quality Parameter Analysis for the Feasibility of Shrimp Culture in Takalar Regency, Indonesian. *Modern Applied Science. Canadian of Science and Education.*, 8(6) 2014 ISSN 1913-1813-1844 E-ISSN 1913-1852
- Kasnir M., Harlina, Jayadi .2014. Soil Quality Analysis of Brackishwater Shrimp Farming In Coastal Areas of Takalar Regency-Indonesia., *Journal of Environment and Ecology*, Published by Macrothink Institute. 5(2) 2014 ISSN 2157-6092
- Kodria, I.A.; E. Susianingsih; Sukenda; Munti Yuhana, Enang Harris 2012 Patogenitas Bakteri *Vibrio harveyi* yang Diisolasi dari Lokasi Berbeda. *Jurnal Akuakultur Indonesia (Inprogres)*.
- Liu, P.C., K.K.Lee, K.C.Yii, G.H.Kou and S.N.Chen, 1996. Isolation of *Vibrio harveyi* from diseased kuruma prawns *Penaeus japonicus*. *Curr. Microbiol.*, 33: 129-132
- Mariyono, A. Wahyudi and Sutomo. 2002. Teknik penanggulangan penyakit udang menyala melalui pengendalian populasi bakteri di laboratorium.

- Prajitno.A., 2006. Pengendalian Penyakit *Vibrio harveyi*. Dengan Ekstrak Rumput Laut (*Halimeda opuntia*) pada Udang Windu (*Penaeus monodon* Fab.PL13. Disertasi. Program Pascasarjana. Universitas Brawijaya. Malang
- Prajitno.A., 2007. Penyakit Ikan-Udang: Bakteri. Penerbit Universitas Negeri Malang, (UM Press) 115 hal.
- Robertson, P.A.W., J.Calderon, L.Carrera, J.R.Stark, M.Z herdmantand B.Austin, 1998. Experimental *Vibrio harveyi* infections in *Penaeus vannamei* larvae. Dis. Aquat. Organ., 32: 151-155
- Saeed, M., O., 1995. Association of *Vibrio harveyi* with mortalities in cultured marine Fish in Kuwait. Aquaculture. 136: 21-29.
- Saravanakumar A., K. VenkaTeshwaran, J. Vanitha, M. Ganesh, M. Vasudevan and T. Sivakumar. 2009. Evaluation of Antibacterial Activity, Phenol and Flavonoid Contents of *Thespesia Populnea* Flower Extracts. J. Pharm. Sci., 22.(3), July 2009, pp. 282-286
- Soto-Rodriguez, S.A., A. Roque, M.L. Lizarraga-Partida, A.L. Guerra-Flores and B. Gomez-Gil, 2003. Virulence of luminous vibrios to *Artemia franciscana* nauplii. Dis. Aquat. Organ., 53: 231-240
- Sunaryanto, A. and A. Mariam. 1986. Occurrence of pathogenic bacteria causing luminescent in Penaeid larvae in Indonesia hatcheries. Bull. Brackish Water Aqua. Dev. Cent. 8(2): 64-70.
- Suryati, E. and Hala, Y. 1993. Bioactivity of *Isotomalongi flora* on *Pseudomonas* sp. In *Proceeding of 30th Faculty of Mathematics and Natural Science seminar*, ed. M. Kumanireng, pp 31-33. Ujung Pandang: Hasanuddin University.
- Vital P.G., W. L. Rivera. 2009. Antimicrobial Activity and Cytotoxicity of *Chromolaena odorata* (L.f.) King and Robinson and *Uncaria perrottetii* (A. Rich) Merr. Extracts. Journal of Medicinal Plants Research Vol. 3(7). Pp. 511-518.
- Zafrandan D. Rosa. 1993 Teknik Penanggulangan Penyakit Udang menyal di Hatchery melalui Pengendalian Populasi Bakteri. Jurnal Penelitian Budidaya Pantai Vo 19 No 2 Sub Balai Penelitian Perikanan Budidaya Pantai Gondol Bali

LAMPIRAN

Lampiran 1.Instrumen Capaian

Luaran yang direncanakan dan capaian

No	Luaran yang direncanakan	Capaian
1.	Seminar Nasional	Sudah dilaksanakan pada tgl 18-20 Agustus 2016 (Sertifikat terlampir
2.	Jurnal Internasional/ Nasional bereputasi	Submit pada Aquaculture International
3.	Produk yang dihasilkan	Metode
4.	HKI (Paten sederhana)	Buku ajar Di Tahun ke 3

Mahasiswa Terlibat

No	Nama/NIM	Judul Skripsi
1.	Iswadi Akmal/ 07120100013	Pertumbuhan dan Kelangsungan Hidup Pasca Larva Udang Windu yang diberi Bahan alami daun kopasanda

Lampiran 2 Sertifikat Seminar Nasional



**Lampiran 3. Draft Jurnal (Status Submit pada jurnal International:
Aquaculture International)**

**STUDY OF EFFECTIVENESS OF NATURAL INGREDIENTS
KOPASANDA LEAVES IN FEED ON GROWTH, SURVIVAL RATE AND
THE POPULATION OF *Vibrio harveyi* ON TIGER SHRIMP (*Penaeus
monodon* Fabricius)**

Harlina¹⁾, Syahrul Djafar¹⁾, Sitti Hadijah¹⁾

¹⁾Faculty of Fisheries and Marine Science, Muslim University of Indonesia, Urip Sumoharjo Km
05 Street, Makassar 90245, Indonesia,

E-mail : linausman1965@yahoo.com

Abstract: Kopasanda (*Chromolaena odorata* L) leaves has tested its antibacterial activity against *Vibrio harveyi* causes vibriosis in black tiger shrimp larvae and the results show that the natural ingredients leaf kopasanda (*C. odorata* L.) can indirectly improve survival, improve resistance to diseases with method soaking .. But the obstacles encountered is that the application by the immersion method is inefficient because it takes a product other than natural materials in larger quantities , as well as more wasted on maintenance media , given the vastness of the area of aquaculture. This study aimed to test the effectiveness of a natural ingredient kopasanda leaves in feed on the growth and survival rate and the population of *Vibrio harveyi* on black tiger shrimp , natural antibacterial treatment additions to the diet at levels kopasanda leaves as follows : A. without a natural antibacterial leaves kopasanda (Control), B. 1000 ppm ; C. 1250 ppm ; D. 1500 ppm, E. 1750 ppm and . Maintained for 14 days and is observed the growth and survival rate . Furthermore, the challenge test with *Vibrio harveyi* 10⁶ CFU / mL . Data were analyzed by analysis of variance using SPSS. The results showed that the leaf kopasanda as a natural antibacterial that is applied through a feed mixing method effective and efficient in the prevention of vibriosis attacks characterized by an increase in the growth and survival of post larvae of tiger shrimp and suppress bacteria population vibriosis in the larval body tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius)

1. INTRODUCTION.

Tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius) is a commodity in the field of aquaculture , it proved to be a commodity that gets top priority in the Programme of the Ministry of Maritime Affairs and Fisheries is to make Indonesia as a producer of a major fishery , known as Policy

Revolution Blue (The Blue Revolution Policy) with increased production by 353 % of production in 2010 (Subyakto , 2011)

The main problem in the development of black tiger shrimp farming is the low survival rate of tiger shrimp due to the mass death caused by disease. One type of disease is a serious problem is a disease caused by the

attack , especially vibriosis *Vibrio harveyi* (Mariyono *et al.* , 2002) . According Isnansetyo *et al* , 2009, this bacterium infects nearly all marine aquaculture organisms such as crustaceans , mollusks and fish . The results of in vivo studies demonstrated that pathogenic *Vibrio harveyi* in post larvae (PL-14) with a density of 10^7 CFU / ml (Khodria *et al.* , 2012) . High mortality in the post- larval stage is a serious problem that must be addressed as well as possible .

Until now a common way to control vibriosis disease is still relying on chemicals and antibiotics . The use of chemicals and antibiotics to continuous and uncontrollable impact resistance in bacteria , the presence of residues in shrimp body and pollute the environment (Harlina , 1996) . In addition due to the antibiotics that accumulate in the body of the shrimp by the use of antibiotics led to the UNEP countries continue to highlight the Indonesian fishery products last few years and enforce zero tolerance of Indonesian fishery products mainly tiger prawns. Even EU countries threatened to embargo the Indonesian fishery products , especially if they indicated shrimp contaminated with antibiotics , pesticides and other chemicals (Fattah , *et al*, 2008) .

Alternative prevention vibriosis disease a safe target organism, the environment and the consumer is to use a natural antibacterial products such as natural materials leaves *kopasanda* (*C. odorata* L.). The use of bioactive compounds leaves *kopasanda* as the product of a natural antibacterial indirectly enhance the growth and survival, increases resistance to disease and can modulate parameters of immune (Total Haemocyte Count (THC), and Differential Haemocyte Count (DHC). The function of the plant

kopasanda as immunostimulant can prevent infection with *Vibrio* spp. by increasing the phagocytic activity. the increasing resistance of the body can be in the know of the increased activity of phagocytic cells of hemocytes. the phagocytic cells serves to perform phagocytosis against bcnda foreign investments in the host's body. phagocytosis is a mechanism non-specific defense that umurn able to protect their disease.

Various previous studies have been conducted Harlina *et al* (2013a), studies proved that the *kopasanda* leaves contain bioactive compounds that potential is used as a natural antibacterial, namely flavonoids, alkaloids, steroids, saponins and tannins. Based on the test antibacterial activity of bioactive compounds leaves *kopasanda* have known that the leaf extract *kopasanda* antibacterial activity strong and is a promising candidate for development as a source of bioactive compounds naturally because it can suppress the population of *vibrio harveyi* causes of disease vibriosis in vitro (Harlina *et al*, 2013b) , Further Harlina *et al* (2013c) reported that the application of bioactive compounds leaves *kopasanda* to a concentration of 2500 ppm is not toxic to the post-larval tiger shrimp, as evidenced by histopathological analysis, soaking the active compound leaves *kopasanda* not destroy tissue hepatopancreas larvae of tiger shrimp (Harlina, *et al* 2014), so it is safe to use as a natural antibacterial in the prevention of vibriosis in tiger shrimp cultivation.

The use of natural antibacterial through immersion method has been carried out , the result that the effective concentration of 1250 ppm pressing *Vibrio* populations and obtained the survival of up to 84.14 % , but the obstacles encountered is that the

application by the immersion method is not efficient because in addition to antibacterial needed in larger quantities , also more wasted on maintenance media , given the vastness of the area of aquaculture . Therefore, it is necessary vibriosis disease prevention study in black tiger shrimp using natural antibacterial kopasanda leaves are applied through the method of mixing into the feed .

RESEARCH METHODS

1. Place and Time

Research will be conducted in a testing laboratory Quarantine Fish Quality Control Makassar . Feed manufacturing test preparation for the extraction of products of natural ingredients leaves kopasanda , while the preparation of feed testing and product application of natural materials as a natural antibacterial method of mixing the feed in the Laboratory of Health and Environmental Research Institute for Aquaculture Development Brackish (BRPBAP) Maros which will take place from April until August 2016 .

2. Preparation of Animal Test

Containers and Collection

Post- larvae of tiger shrimp (*P. monodon*) 13 is obtained from an activity pembenih in Brackish Water Aquaculture Centres Takalar kept in aquariums as many as 10,000 chickens perwadah . Prior to use , all equipment and the water is sterilized using chlorine and neutralized with sodium thiosulfate and aerated strong , penyiiponan and water change is done 2 times a day ie morning and afternoon .

3. Feed Preparation

A total of 500 grams of dried leaves kopasanda smoothed by using a blender , and then weighted according to the treatment and mixed into feed tiger prawns. Feed mixes and natural ingredientskopasanda leaves put in a plastic bag is then shaken until homogeneous . After homogeneous poured into a container , add water as much as 40 % stirring until blended , then do the printing by using the printing press feed

4. Preparation of Animal Test

Animal testing in the form of fries PL (Post Larvae) 13 taken hatchery in Brackish Water Aquaculture Centres Takalar acclimatized for 7 days to reach PL 20. During the maintenance period, juveniles given commercial feed as many as 2 x per day, given the strong aeration, disipon and by the turn of the day for two (2) times a day. Fry and then selected by the length and weight of each fry was 1.04 ± 0.02 cm and 0.003 ± 0.0007 g (mean $\pm$ standard deviation). Samples of the batch has passed the selection of numerical namely the selection of macroscopic and microscopic, including testing by PCR. Fry are then washed in formalin (formaldehyde 38%) with a concentration of 200 ppm for 25 minutes and strong aeration. The purpose of soaking the formalin test is to ensure that animals are free from infectious pathogens (Chanratchakool et al., 1998).

Fry were selected and then kept in 15 pieces of glass containers (5 treatments with 3 replications) capacity of 20 birds / 2 L sterile sea water 30 ppt. Post larvae of tiger shrimp adapted for 24 hours and fasted. After

adaptation, juveniles given treatment; Post-larvae then maintained for 14 days. During maintenance of post-larvae fed according to treatment two times a day, by aeration disipon and do water changes

5. Treatment

Addition of natural antibacterial treatment on feed consisting of :

- A. Feed without natural antibacterial (control) ,
- B. Feed plus natural ingredients leaf kopasanda 1000 ppm
- C. Feed plus natural ingredients leaf kopasanda 1250 ppm ,
- D. Feed plus natural ingredients leaf kopasanda 1500 ppm and
- E. Feed plus natural ingredients leaf kopasanda 1750 ppm

6. Challenge Test

Challenge test performed on the 14th day , the bacteria *Vibrio harveyi* isolates were cultured using a liquid SWC in shaker speed of 180 rpm at a temperature of 29 oC . Harvesting is carried out in accordance bacteria attainment time exponential phase (10 hours) The results of bacterial culture obtained is then measured density value or optical density (OD) to determine the bacterial populations using a spectrophotometer.

Challenge test was performed using bacteria *Vibrio* pathogens in a concentration 10⁶ CFU / mL by the method of soaking for 24 hours . The shrimp that have been infected transferred to a new container maintenance and maintained for 7 days . During maintenance , post- larvae fed the appropriate treatments,

7. Variables measured

Level Survival

The survival rate of tiger shrimp pascalarva calculated using the formula Effendie (1979)

Absolute growth

Length and weight growth pascalarva tiger shrimp was observed at the beginning and end of the study , based on a formulation Huisman (1987) :

Bacterial populations .

Measurement of bacterial populations performed on maintenance media and post- larval body black tiger shrimp on a plate count method TCBSA media after 6 , 48 hours and every 48 hours until the end of the maintenance period .

Water Quality Measurement

Measurement of water quality parameters is done every 12 hours during the study . The data is used as supporting research activities . Measurements were made of the temperature , dissolved oxygen Dissolved Oxygen (DO) , pH , salinity , total organic material (BOT) , and ammonia (NH₃) . Temperature and dissolved oxygen measurement using a DO meter (YSI 58 , Yellow Springs Instrument Co. , Inc. , USA) . PH measurement is done by using a portable pH meter (PHM Meterlab 201 , Radiometer Analytical , S.A. , France) . Salinity measurement is done using a hand refractometer (Atago S / mill - E - Japan) . BOT and ammonia measurement was conducted using a spectrophotometer.

RESULTS AND DISCUSSION

1 Absolute Growth Tiger Shrimp Post Larvae

Data on average absolute growth of post larvae of tiger shrimp for maintenance is presented in Figure 1

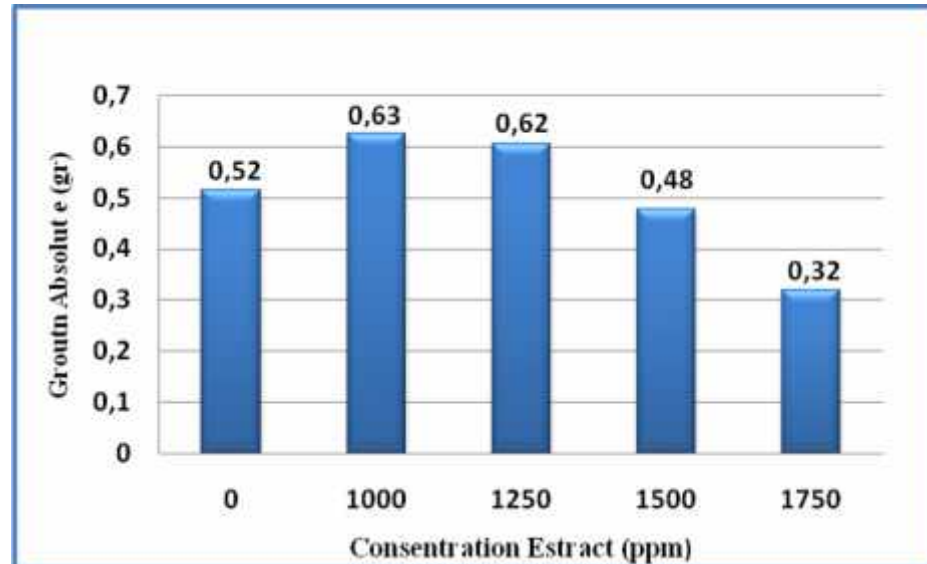


Figure 1. Absolute Growth Tiger Shrimp Post Larvae After 14 days Maintenance Period before Challenge Test

Based on Figure 1 can be explained that there are differences pascalarva growth of shrimp at various concentrations of natural ingredients leaves the highest kopasanda. Pertumbuhan obtained at a concentration of 1000 ppm and a decline in growth with increasing concentrations of natural ingredients leaves kopasanda. Results of analysis of variance showed that the control

treatment was significantly different from all treatments were tested. The treatment was not significantly different in 1000 ppm to 1250 ppm but significantly different from the treatment of 1500 ppm and 1750 ppm

Observation post larvae survival of tiger shrimp treated with natural materials kopasanda leaves with different concentrations after 14 days of maintenance is shown in Figure 2

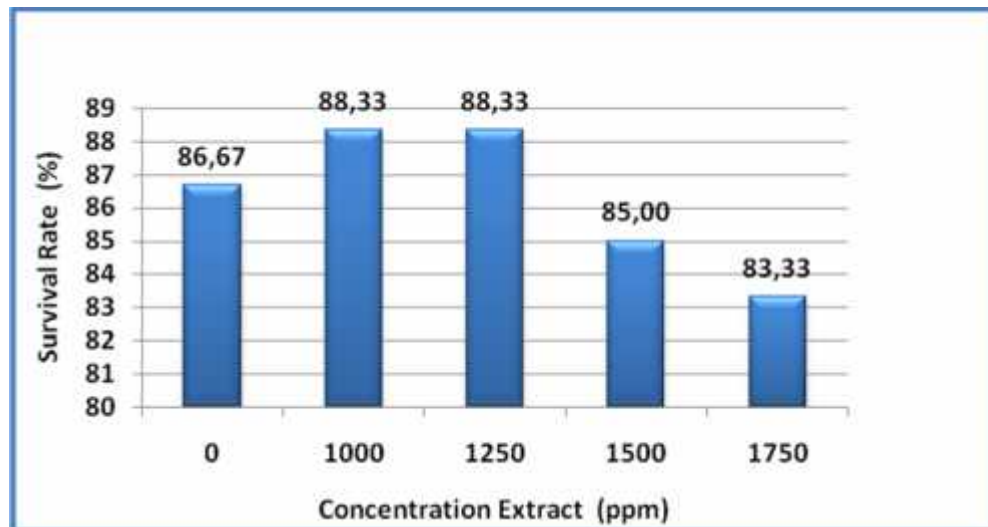


Figure 2. Survival Rate of Tiger Shrimp Post Larvae before Challenge Test

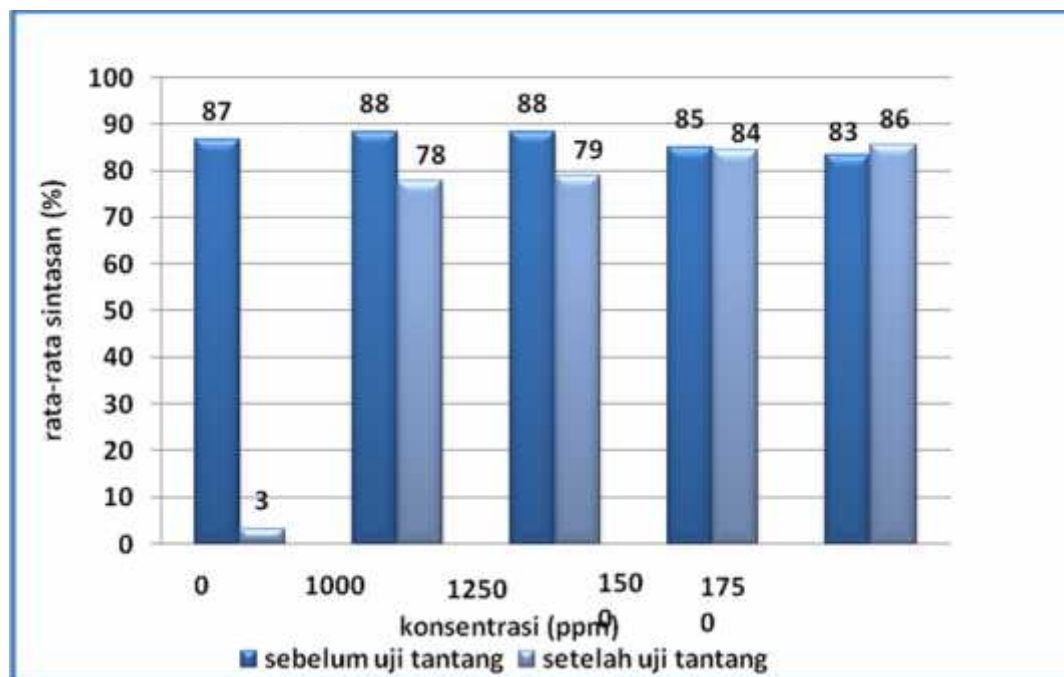


Figure 2. Survival Rate of Tiger Shrimp Post Larvae before Challenge Test and after Challenge Test

Figure 2 shows that treatment of natural ingredients leaves kopasanda at different concentrations have different effects on the average survival of tiger prawn post-larvae. The average survival of post-larvae highest

indicated by the control treatment (0 ppm) followed by treatment of the leaves kopasanda bioactive compounds at a concentration of 1000 ppm and 1250 ppm 1500 ppm after treatment and the lowest concentration of 1750

ppm . Based on the results of analysis of variance to five treatments tested showed no real influence . It concluded that the concentration of natural ingredients leaves kopasanda up to 1750 ppm are safe for consumption by tiger prawns.

As the result of research Harlina et al (2013c) on toxicity test bioactive compound leaves kopasanda at a concentration of 313 ppm to 10,000 ppm indicate that the high mortality rate began to occur at concentrations of 2500, 5000, and 10000 ppm , it is thought to be caused by the presence of foam that much and the unpleasant smell of bioactive compounds kopasanda leaf applied to the immersion system . This affects the

3. The population of *Vibrio harveyi* in tiger shrimp Body

The observation of the population of *V. harveyi* in tiger prawn

decreased appetite of post- larvae tested

Further said that the presence of foam and odor indicate high concentrations due to the saponin suspected cause of death post larval tiger shrimp with the highest mortality in the amount of 68.3 % at 9 hours after maintenance , and reach up to 100 % mortality percentage . According Chauche et al. , (2012) , saponin is a surface-active compounds and are like soap . Saponins can be detected by their ability to form foam and menghemolysis blood cells . Sometimes saponin compounds are toxic and cause poisoning in livestock (eg alfalfa saponin) (Chaouche *et al.* , 2012) .

post- larvae after challenge test with *V. harveyi* with the prevention of natural ingredients leaves kopasanda presented in Chart 3 ,

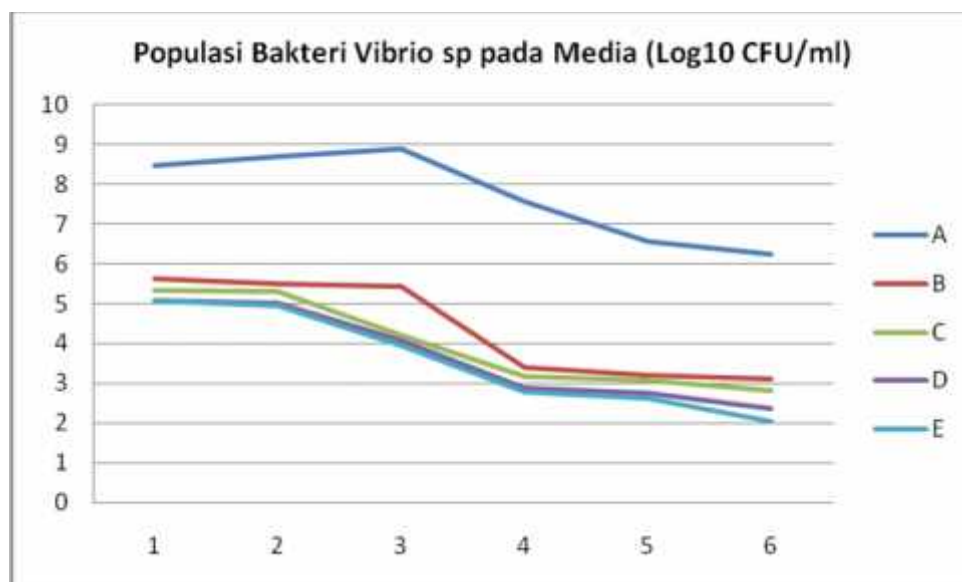


Figure 3. The population of *Vibrio harveyi* in tiger shrimp Body

Figure 3 shows that the population of *V. harveyi* in the post-larval body after administration of natural ingredients leaves kopasanda decreased and was lower than

the control. The maximum growth of *V. harveyi* all treatments given bioactive compounds discovered during 24 hours after challenge test. and gradually declined

until the end of the study. *V. harveyi* lowest population found on the treatment given bioactive compounds at a concentration of 1750 ppm ($1,20 \cdot 10^1$ CFU / mL) followed by treatment at a concentration of 1500 ppm ($1,40 \cdot 10^1$ CFU / mL), 1250 ppm ($4,3 \cdot 10^1$ CFU / mL) and 1000 ppm ($1,73 \cdot 10^3$ CFU / mL). In contrast, the highest population of *V. harveyi* indicated by the control that is 1, 23 ..105 CFU / mL.

V. harveyi population decline in the post-larval body has shown that bioactive compounds capable of inhibiting the growth of leaves *kopasanda V. harveyi*. The antibacterial activity exhibited by bioactive compounds at concentrations of 1000, 1125 and 1250 ppm. Thought to be caused by the presence of flavonoids in high concentrations. Sabir (2005) in his research explained that flavonoids have the ability to inhibit the growth of bacteria by several different mechanisms, including flavonoids causing damage to the permeability of the bacterium, microsomes and lysosomes as a result of interaction between flavonoid with bacterial DNA, distinct mechanism proposed by Di Carlo et al., (1999) and Estrela et al. (1995) which states that the hydroxyl groups contained in the structure of flavonoid compounds cause changes in the organic component and the transport of nutrients

which will eventually lead to the emergence of toxic effects on bacteria.

4.4. Water quality

Water as a living medium shrimp cultivated must meet various requirements in terms of physical, chemical and biologist. In terms of physics, the water is a place that provides space for shrimp reared. In terms of chemistry, water as a carrier of nutrients, minerals.vitamin. and dissolved gases. In terms of biology, water is a medium for biological activity in the formation and decomposition of organic material (lane, 1993).

The observation of water quality during research conducted two times at 08.00 and 16.00 are presented in Table. seen that the overall value of water quality parameters during the research is still in reasonable range for the survival of tiger shrimp post-larvae, so the mortality obtained during the research was not caused by water quality parameters. Salinity measurement results in the range of 27.49 to 29.05. Salinity measurement results are still within the range allowed for shrimp culture based on values recommended that 5-35 o / oo and necessary for optimum growth salinity 15-25 o / oo (Boyd 1990; Purnomo, 1992; Widigdo, 2002; and Soewardi , 2002).

Table .1. Range Water Quality Maintenance Media Tiger Shrimp Post Larvae that in Test V. Challenge *Harveyi*

Konsentrasi (ppm)	Salinitas (ppt)	pH	Suhu (°C)	O ₂ terlarut (mg/L)	Amoniak (NH ₃)
A Kontrol	28,65±0,29	7,12±0,06	28,84±0,39	5,87±0,26	0,031±0,028
B. 1000 ppm	28,62±0,19	7,18±0,12	28,97±0,33	5,83±0,16	0,038±0,025
C. 1250 ppm	28,68±0,25	7,16±0,13	28,86±0,31	5,84±0,12	0,041±0,023
D. 1500 ppm	28,69±0,19	7,11±0,05	28,91±0,19	5,83±0,28	0,038±0,025
E. 1750 ppm	28,71±0,30	7,14±0,06	28,92±0,38	5,92±0,23	0,045±0,027

The water temperature as one of the main limiting factor is a vital part of the life and growth of shrimp. The range of water temperature measurement results for all treatments during the study was ranged from 28.84 to 28.97 ° C. According Cholik (1988) The best temperature range for growth and survival of shrimp is located at 28 -30 ° C, but they can live at temperatures of 18 -36 ° C. wherein the level of water temperature 36 ° C shrimp is no longer active. Each shrimp species has an optimum temperature range, for black tiger shrimp is 26 -28 ° C, the temperature above 32 ° C will cause stress on the shrimp and a temperature of 35 ° C is a critical temperature for *P. monodon* and *P. merguensis*.

At a temperature of 26.5 ° C-35 ° C can still live shrimp, temperature 37.5 ° C guarantees life remained 61% and at a temperature above 37.5 ° c shrimp can not live anymore (Chiang and Liao, 1984). While Purnomo (1978) suggested that a good temperature for the growth of black tiger shrimp is 29 ° C -30 ° C .. Dissolved oxygen for all treatments range between 5,54- 7,50 ppm range is decent for shrimp as Cheng and Kuo (2003) reported that the DO value higher than 5 mg / l are often recommended for intensive tiger shrimp cultivation practice.

Salinity during the study ranged from 28.62 to 28.69 ppt, pH ranged from 7.11 to 7.18; the water temperature ranges from 28,84- 28,97oC, oxygen ammonia ranged from 5.83 to 5.92 and 0.031 to 0.045. When compared to the optimal range of post larval tiger shrimp maintenance, water quality parameters of research still shows the optimal value for the life of post-larvae of tiger shrimp.

CONCLUSION

Based on the research that has been done can be concluded that :

1. Method kopasanda leaf mixing natural materials into the black tiger shrimp feed effectively and efficiently used in the prevention of

vibriosis disease in post larvae of tiger shrimp .

2. The highest absolute growth was obtained at a concentration of 1000 ppm and 1250 ppm , obtained in the treatment with the lowest concentration of 1750 ppm
3. Mortality and population of vibrio sp .tiger shrimp post- larvae tested challenged with *Vibrio* sp . The highest in the control treatment , and decreased with increasing concentration of active ingredient leaf kopasanda
4. Water Quality for the study are in the proper conditions for black tiger shrimp

Reference

- Akinmoladun, A.C., E.O. IbokunandI. A. Dan-Ologe. 2007. Phytochemical constituents and antioxidant properties of extracts from the leaves of *Chromolaena odorata*. Scientific Research and Essay Vol. 2 (6), pp. 191-194
- Anonim2012.http://en.wikipedia.org/wiki/Chromolaena_odorata(Diakse s10Pebruari2012).
- Bourne,D.,L.Hj,N.Webster,M.Payne,M .Skinderse,M.Givskovand M.Hall, 2007. Microbiological Aspects of Phyllosoma Rearing of the Ornate Rock Lobster *Panulirus ornatus*. Aquaculture, 268: 274-287
- Brown, J. H.1989. Antibiotics, their use and abuse in aquaculture. *Aquaculture* 2:34-43.
- Diggles,B.K., G.A.Moss, J.Carsonand C.D.Anderson, 2000.Luminous vibriosis in rock lobster *Jasus verreauxi* (Decapoda: Palinuridae)

- phyllosoma larvae associated with infection by *Vibrio harveyi*. *Dis. Aquat. Organ.*, 43:127-137
- Djojosumarto, P. 2012. Fungisida dan bakterisida yang berasal dari alam. Artikel. <http://www.gerbangpertanian.com/2011/12/fungisida-dan-bakterisida-alami.html>.
- Fitriyani E., S. Kusmardiyanti, I. Firdianny. 2007. Isolasi Suatu Flavonol dari Fraksi Etil Asetat Daun Kirinyuh (*Eupatorium pallescens* DC, Asteraceae). Skripsi. Sekolah Farmasi Institut Teknologi Bandung
- Harlina, A. Prajitno, E. Suprayitno, dan H. Nursyam 2013a. Uji fitokimia, Uji aktivitas antibakteri ekstrak senyawa aktif daun kopasanda terhadap *Vibrio harveyi* dan Uji toksisitas ekstrak daun kopasanda terhadap pascalarva udang windu secara *In vitro*.
- Harlina, A. Prajitno, E. Suprayitno, dan H. Nursyam 2013b. The Identification of Chemical Compound and Antibacterial Activity Test of Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) Leaf Extract Against Vibriosis-Causing *Vibrio harveyi* (MR 275 Rif) on Black Tiger Shrimp. *Aquatic Science and Technology* Vol 1 No 2 2013 ISSN 2168-9148
- Harlina, Hasnidardan Rusli, 2013c. Aktivitas Anti bakteri Ekstrak Metanol Daun Kopasanda (*Chromolaena odorata*) Terhadap Bakteri *V. harveyi* Penyebab Vibriosis pada Pasca Larva Udang Windu (*Penaeus monodon* Fabricius).
- Prosiding (In Progresif). Seminar Nasional Kelautan dan Perikanan. Kupang, 12 Oktober 2013.
- Harlina, A. Prajitno, E. Suprayitno, dan H. Nursyam, 2014. Uji Toksisitas Ekstrak Daun kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) Terhadap Pasca Larva Udang Windu (*Penaeus monodon* Fabricius). Prosiding. Seminar Nasional Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Lampung Mangkurat Volume 1/2014 ISBN:978-602-713774-00
- Harlina, A. Prajitno, E. Suprayitno, dan H. Nursyam, 2015. Potential Study of Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) Leaves as Antibacterial Against *Vibrio harveyi*, Disease Causative Agent of Tiger Shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius) Post Larvae. *Journal of Applied Aquaculture*, 26, 3, 2014 (Accepted Letter)
- Harlina, M. Kasnir, Rustam and Jayadi, 2016. Isolation and Identification of Bioactive Compound of Kopasanda Leaf to Fight *Vibrio harveyi* on Post Larvae Tiger Prawn (*Penaeus monodon* Fabricius) *International Journal of Tropical Medicine*, 11 (4) 72-79
- Isnansetyo, A. Trijoko, Setyowati, E. P., and Anshory, H. H. 2009. *In vitro* antibacterial activity of methanol extract of asponge, *Geodia* sp. Against oxytetracycline-resistant *Vibrio harveyi* and its toxicity. *J. Biol. Sci* 9: 224-230.

- Jivaranichpaisal, P.T., T. Miyasaki and C. Limsuwan, 1994. Histopathology, biochemistry and pathogenicity of *Vibrio harveyi* infecting black tiger prawn *Penaeus monodon*. J. Aquat. Ann. Health, 6: 27-35.
- Karuna Sagar, I., R. Pai, G. R. Malathi and I. Karuna Sagar, 1994. Mass mortality of *Penaeus monodon* larvae due to antibiotic resistant *Vibrio harveyi* infection. Aquaculture, 128: 203-209.
- Kamiso, H.N. 1996. Vibriosis padalkan dan Alternatif Cara Penanggulangannya. J. Perikanan UGM (GMU J. Fish. Sci) 1(1): 78-86.
- Kasnir M., Harlina, Rosmiati. 2014. Water Quality Parameter Analysis for the Feasibility of Shrimp Culture in Takalar Regency, Indonesian. Modern Applied Science. Canadian of Science and Education., 8(6) 2014 ISSN 1913-1813-1844 E-ISSN 1913-1852
- Kasnir M., Harlina, Jayadi .2014. Soil Quality Analysis of Brackishwater Shrimp Farming In Coastal Areas of Takalar Regency-Indonesia., Journal of Environment and Ecology, Published by Macrothink Institute. 5(2) 2014 ISSN 2157-6092
- Kodria, I.A.; E Susianingsih; Sukenda; Munti Yuhana, Enang Harris 2012. Patogenitas Bakteri *Vibrio harveyi* yang Diisolasi dari Lokasi Berbeda. Jurnal Akuakultur Indonesia (Inprogres).
- Liu, P.C., K.K. Lee, K.C. Yui, G.H. Kou and S.N. Chen, 1996. Isolation of *Vibrio harveyi* from diseased kuruma prawns *Penaeus japonicus*. Curr. Microbiol., 33: 129-132
- Mariyono, A. Wahyudi and Sutomo. 2002. Teknik penanggulangan penyakit udang menyala melalui pengendalian populasi bakteri di laboratorium. Buletin Teknik Pertanian Vol 7(1): 25-27.
- Prajitno, A., 2006. Pengendalian Penyakit *Vibrio harveyi*. Dengan Ekstrak Rumput Laut (*Halimeda opuntia*) pada Udang Windu (*Penaeus monodon* Fab. PL13). Disertasi. Program Pascasarjana. Universitas Brawijaya. Malang
- Prajitno, A., 2007. Penyakit Ikan-Udang: Bakteri. Penerbit Universitas Negeri Malang, (UM Press) 115 hal.
- Robertson, P.A.W., J. Calderon, L. Carrera, J.R. Stark, M. Zherdmant and B. Austin, 1998. Experimental *Vibrio harveyi* infections in *Penaeus vannamei* larvae. Dis. Aquat. Organ., 32: 151-155
- Saeed, M., O., 1995. Association of *Vibrio harveyi* with mortalities in cultured marine Fish in Kuwait. Aquaculture. 136: 21-29.
- Saravanakumar A., K. Venka Teshwaran, J. Vanitha, M. Ganesh, M. Vasudevan and T. Sivakumar. 2009. Evaluation of Antibacterial Activity, Phenol and Flavonoid Contents of *Thespesia Populnea* Flower Extracts. J. Pharm. Sci., 22(3), July 2009, pp. 282-286
- Soto-Rodriguez, S.A., A. Roque, M.L. Lizarraga-Partida, A.L. Guerra-

- Flores and B. Gomez-Gil, 2003. Virulence of luminous vibrios to *Artemia franciscana* nauplii. *Dis. Aquat. Organ.*, 53: 231-240
- Sunaryanto, A. and A. Mariam. 1986. Occurrence of pathogenic bacteria causing luminescent in Penaeid larvae in Indonesia hatcheries. *Bull. Brackish Water Aqua. Dev. Cent.* 8(2): 64-70.
- Suryati, E. and Hala, Y. 1993. Bioactivity of *Isotomalongi flora* on *Pseudomonas* sp. In *Proceeding of 30th Faculty of Mathematics and Natural Science seminar*, ed. M. Kumanireng, pp 31-33. Ujung Pandang: Hasanuddin University.
- Vital P.G., W. L. Rivera. 2009. Antimicrobial Activity and Cytotoxicity of *Chromolaena odorata* (L.f.) King and Robinson and *Uncaria perrottetii* (A. Rich) Merr. Extracts. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 3(7). Pp. 511-518.
- Zafrandan D. Rosa. 1993. Teknik Penanggulangan Penyakit Udang menyala di Hatchery melalui Pengendalian Populasi Bakteri. *Jurnal Penelitian Budidaya Pantai* Vol 9 No 2 Sub Balai Penelitian Perikanan Budidaya Pantai Gondol Bali