

**LAPORAN AKHIR
PENELITIAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI
(TAHUN KE 2)**



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

Tahun ke 2 dari Rencana 3 Tahun

Oleh:

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

Dr. ST. SUKMAWATI. S. SE.,MM (0927126403)

Dr. Ir. SYAHRUL JAFAR (0926076401)

**UNIVERSITAS MUSLIM INDONESIA MAKASSAR
OKTOBER 2017**

BAB I. PENDAHULUAN.

1.1.Latar Belakang

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 menyoroti 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), Differential Haemocyte Count (DHC). Tanaman kopasanda berfungsi sebagai irnmunostimulan yang dapat mencegah infeksi *Vibrio* spp. dengan jalan meningkatkan aktivitas fagositosis. Meningkatnya ketahanan tubuh dapat di ketahui dari meningkatnya aktifitas sel-sel fagosit dari hemosit. Sel-sel fagositik ini berfungsi untuk melakukan fagositosis terhadap benda asing yang masuk ke dalam tubuh inang. Fagositosis merupakan mekanisme pertahanan non spesifik yang secara umum 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, 2014), 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.

Penelitian tahun pertama telah dilakukan, diperoleh hasil bahwa pasca larva udang windu memiliki respon yang sangat baik terhadap pakan yang mengandung bahan alami daun kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) dapat dikonsumsi dengan baik oleh pasca larva udang windu. Hal ini dibuktikan oleh tingginya pertumbuhan dan sintasan pasca larva udang windu. Pasca larva udang windu yang dipelihara dengan pemberian pakan yang mengandung bahan alami daun kopasanda setelah diuji tantang dengan *Vibrio harveyi* menunjukkan sintasan tertinggi dicapai 85,58 % pada konsentrasi 1750 ppm dengan konsentrasi populasi *Vibrio harveyi* pada pasca larva udang terendah. Oleh karena itu perlu penelitian lanjutan pada tahun ke dua untuk mengaplikasikan hasil penelitian tahun pertama.

Penelitian tahun kedua ini adalah uji aplikasi penggunaan bahan alami daun kopasanda pada pakan (Hasil Penelitian Tahun I) terhadap gelondongan udang windu, untuk mengetahui respon imun Total Haemocyte Count (THC), Differential Haemocyte Count (DHC), pertumbuhan dan kelangsungan hidup udang windu setelah melakukan uji tantang dengan *Vibrio harveyi*. Sedangkan pada tahun ketiga akan diaplikasikan produk bahan alami daun kopasanda sebagai antibakteri alami melalui pakan pada udang windu yang dipelihara pada tambak untuk mengetahui pertumbuhan, kelangsungan hidup dan produksi udang windu.

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, efektif dan efisien 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.

1.2 Temuan yang Ditargetkan

Temuan yang ditargetkan pada penelitian ini meliputi produk berupa pakan yang mengandung bahan alami daun kopasanda sebagai antibakteri alami, teknologi tepat guna (TPT), 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 pada jurnal internasional yang bereputasi.
4. Bahan ajar

Tabel 1. Rincian Target Capaian Tahunan

No	Jenis Luaran		Indikator Capaian		
			TS1	TS2	TS3
1.	Publikasi Ilmiah	Internasional	<i>submitted</i>	<i>Submitted</i>	Publish
		Nasional Terakreditasi			
2.	Pemakalah dalam pertemuan ilmiah	Internasional		sudah dilaksanakan	
		Nasional	Sudah dilaksanakan	Sudah dilaksanakan	Sudah dilaksanakan
3.	Teknologi Tepat Guna		draf	draf	produk
4.	Buku Ajar (ISBN)		draf	draf	<i>Proses editing/sudah terbit</i>
5.	Tingkat Kesiapan Teknologi (TKT)		4	5	6

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA DAN PETA JALAN PENELITIAN

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, A., 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. Antibakteri alami

Antibakteri alami adalah substansi yang mampu menghambat/membunuh bakteri. Antimikrobal 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 (Djojsumarto, 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 system 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 genetic 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 *diacu dalam* Ekawati, 2011)). Hemosit ini dihasilkan oleh jaringan hematopoietik 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 2.

Tabel 2. Tipe Hemosit berserta fungsinya pada Crayfish dan Kepiting

Crayfish and crab haemocytes	
Haemocyte type	Function in immunity
Hyaline cell	Phagocytosis ^a
Semigranular cell	Encapsulation ^b
	Phagocytosis (limited) ^a
	Storage and release of the proPO system ^c
	Cytotoxicity ^d
Granular cell	Storage and release of the proPO system ^c
	Cytotoxicity ^d

Only references to studies using isolated haemocyte populations are included.

^aSmith and Söderhäll (1983b), Söderhäll *et al.* (1986), Thörnqvist *et al.* (1994).

^bPersson *et al.* (1987a), Kobayashi *et al.* (1990).

^cJohansson and Söderhäll (1985).

^dSöderhäll *et al.* (1985).

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.

Tabel 3 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

Dengan menggunakan mikroskop cahaya, hemosit *Penaeus monodon* dapat dibagi menjadi lima tipe seperti Tabel 1. Bila dicermati dalam gambaran ultra strukturnya dengan mikroskop elektron (Gambar 2) hemosit dapat dibagi dalam sel hialin, semi glanular, dan glanular. 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 dikarakteristikan 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)

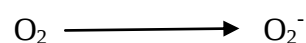
Sel granulose dikarakteristikkan dengan terdapatnya granula dalam jumlah yang besar di sitoplasma. Sel berperan dalam menghasilkan, menyimpan dan mensekresi senyawa antimikroba. Sel granula tidak berperan dalam aktifitas fagositosis dan sedikit berperan dalam proses enkapsulasi. Fungsi utamanya adalah 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 hemotopoietic 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 (protein darah) (Efendi *et al.*, 2004)

Peranan Anion Superoksida dalam system Imun Udang

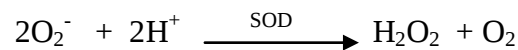
Dalam proses fagositosis yang dilakukan oleh sel hyaline, akan disertai dengan metabolisme berupa letupan atau lonjakan respirasi (respiratory burst). Dalam peristiwa letupan tersebut akan terjadi kenaikan konsumsi oksigen, pembentukan reaktif oksigen intermediate (ROIs), yaitu radikal bebas seperti 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.

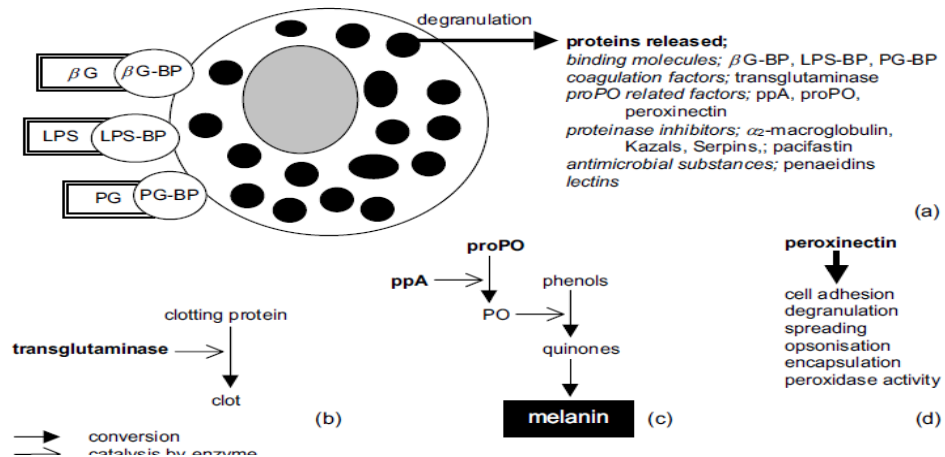
Protease adalah enzim yang berperan dalam proses proteolisis dimana proses katabolismenya terjadi dengan cara menghidrolisis ikatan peptide yang menghubungkan asam-asam amino dalam rantai polipeptida. Protease dapat diklasifikasikan dalam 6 kelompok yaitu serine, threonine, cysteine, asam aspartat, metalloprotease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

Gambaran secara skematik dari beberapa factor penting dalam system pertahanan pada krustase yang diperantarai hemosit dapat dilihat pada gambar 2.



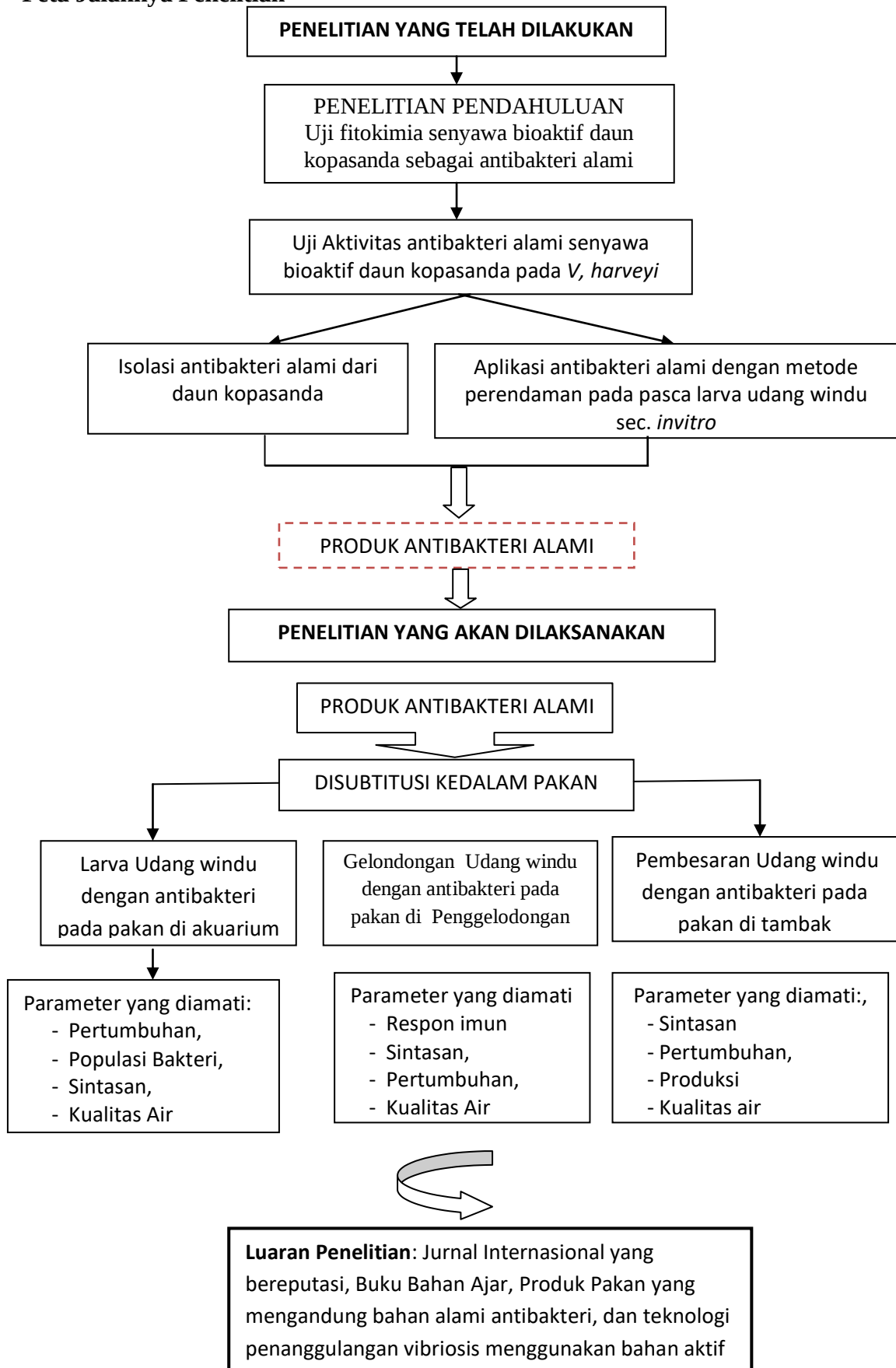
Gambar 2 Gambaran secara Skematik dari beberapa Faktor Penting dalam Sistem Pertahanan Crustacea

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 seluler 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

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; (d) 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.

Peta Jalannya 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.

Pada tahun kedua dilakukan penambahan produk bahan alami daun kopasanda sebagai antibakteri alami melalui pakan (Hasil Penelitian Tahun I) yang diberikan pada gelondongan udang windu untuk mengetahui respon imun Total Haemocyte Count (THC), Differential Haemocyte Count (DHC), pertumbuhan dan kelangsungan hidup udang windu setelah melakukan uji tantang dengan *Vibrio harveyi*. Sedangkan pada tahun ketiga akan diaplikasikan produk bahan alami daun kopasanda sebagai antibakteri alami melalui pakan pada udang windu yang dipelihara pada tambak untuk mengetahui pertumbuhan, kelangsungan hidup dan produksi udang windu serta menganalisis tingkat kelayakan aplikasi pada budidaya di tambak.

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 pengembangan iptek 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 III METODE PENELITIAN

Penelitian Tahun II. Pemberian Produk Bahan Alami dengan Metode Pencampuran pada Pakan pada juvenil udang windu

1. Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bahan Alami Fakultas Farmasi UMI Makassar untuk persiapan produk bahan alami sebagai Antibakteri alami, sedangkan persiapan pakan uji dan aplikasinya pada juvenil udang windu akan dilakukan di Laboratorium Basah Kesehatan dan Lingkungan Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Payau Maros. Aplikasi pakan uji pada penggelondongan udang windu dilaksanakan di Laboratorium Lapang Tambak Fak Perikanan dan Ilmu Kelautan UMI di Kan Pangkep. Keseluruhan rangkaian kegiatan penelitian berlangsung dari bulan April sampai Oktober 2017.

2. Alat dan Bahan Penelitian

Penelitian ini diawali dengan sterilisasi alat-alat dengan mencuci hingga bersih dengan air suling, kemudian alat-alat gelas dikeringkan lalu dibungkus dengan kertas dan disterilkan dengan menggunakan oven pada suhu 180°C selama 2 jam. Alat-alat gelas yang berskala dan tidak tahan dengan terhadap pemanasan dan yang terbuat dari plastik disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit. Jarum ose disterilkan dengan cara dipijarkan pada lampu spiritus.

3. Persiapan Antibakteri Alami

V. harveyi diperoleh dari Laboratorium Patologi dan Kesehatan Lingkungan Balai Riset Pengembangan Budidaya Air Payau (BRPBAP) Maros. Bakteri biakan murni *V. harveyi* disiapkan dan diperbanyak dengan cara meremajakan kembali pada tabung-tabung reaksi yang berisi NA.

Sebelum *V. harveyi* digunakan dalam penelitian, terlebih dahulu dilakukan Uji Postulach Koch. Hal ini dilakukan untuk memastikan bahwa bakteri tersebut

adalah bakteri *V. harveyi* dengan pertimbangan menghindari kekeliruan jenis bakteri uji yang digunakan, dengan cara menularkan bakteri pada pascalarva udang windu yang sehat melalui perendaman. Larva udang yang terlihat secara klinis mendapat serangan *V. harveyi* digerus kemudian dikultur pada media agar-agar.

Koloni bakteri berpendar yang tumbuh kemudian dimurnikan dengan cara ditanam kembali pada media TCBSA (*Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose Agar*) dalam cawan petri serta pada media TSA (*Tryptic Soy Agar*) dalam tabung reaksi dengan metode gores dan diinkubasi pada suhu 28°C. Setelah itu diamati karakter morfologinya dengan mengamati bentuk koloni, warna, bau dan kemampuan berpendarnya. Isolat bakteri yang tetap dapat tumbuh dengan baik serta tetap berpendar dilanjutkan dengan uji biokimia untuk diidentifikasi kembali berdasarkan metode yang dilakukan oleh Austin (1993); Baumann *et al*, (1994); Brock *et al*, (1994).

- **Pembuatan Biakan Bakteri *V. harveyi* untuk Penginfeksian**

Sebelum dilakukan uji tantang *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 (Kadriah *et al.*, 2012) dengan cara perendaman (Hameed 1995) ke dalam wadah pemeliharaan udang uji.

3. Persiapan Wadah dan Hewan Uji

udang windu (*P.monodon*) diperoleh dari kegiatan penggelondongan petani tambak dengan bobot rata-rata 15,00 - 20,00 g dan panjang rata-rata 2,00-2,5 cm, dipelihara dalam akuarium sebanyak 20 ekor perwadah. Untuk mengurangi stres akibat pengaruh dari luar, bagian samping akuarium ditutup plastik biru. Sebelum digunakan, semua peralatan dan air disterilkan menggunakan kaporit dan dinetralsir dengan Natrium Thiosulfat dan diaerasi kuat, Penyiponan dan pergantian air dilakukan 2 kali sehari yaitu pagi dan sore hari. Pemelihara udang windu dilakukan selama 30 hari dengan frekuensi pemberian pakan tiga kali sehari. Sebelum diberi pakan perlakuan dengan konsentrasi antibakteri alami sesuai dengan perlakuan pada tahun I, udang windu dipuasakan selama 24 jam untuk menghilangkan sisa pakan dalam tubuh, serta mengurangi stres dengan meminimalkan metabolisme tubuh.

3. Persiapan Pakan Uji

3.1 Pengolahan bahan baku pakan

a. Bahan baku hewani (Ikan kering dan kepala udang)

Ikan kering yang diperoleh dari tempat pendaratan ikan terlebih dahulu dikeringkan di bawah sinar matahari ataupun di dalam open, setelah itu ditepungkan dengan menggunakan saringan kasar yang berdiameter 5 mm, selanjutnya dikeringkan lagi dan ditepungkan lagi dengan menggunakan saringan

yang berdiameter 0,5 mm, hasil penepungan inilah yang digunakan didalam pakan.

Kepala udang yang diperoleh cold storage terlebih dahulu dikukus selama 10 menit setelah air mendidih, selanjutnya dikeringkan setelah kering ditepungkan. Proses penepungan sama dengan proses penepungan tepung ikan.

b. Bahan baku nabati (kedelai, jagung, bungkil kopra dan daun kopasanda)

Kedelai dan jangung terlebih dahulu rendam selama kurang lebih 8 jam, supaya lebih memudahkan dalam proses pengukusan, pengukusan dilakukan selama 20 menit setelah air mendidih, pengukusan ini dimaksudkan untuk menghilangkan sat anti nutrisi kedua bahan tersebut, selanjutnya kedua bahan tersebut dihancurkan dengan menggunakan mesin pencetak pellet untuk memecahkan atau menghancurkan, supaya dalam proses pengeringan lebih cepat kering, Selanjutnya dikeringkan di bawah sinar matahari ataupun di dalam opensetelah kering ditepungkan, proses penepungan sama dengan proses penepungan ikan dan kepala udang.

Daun kopasanda yang diperoleh langsung dikeringkan di bawah sinar matahari ataupun di dalam open, setelah kering langsung ditepungkan dengan menggunakan saringan halus berdiameter 0,5 mm atau bisa juga diblende. Proses pengolahannya jauh lebih muda dibandingkan dengan dengan bahan baku lainnya.

3.2 Alat dan bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam proses pembuatan pakan dapat dilihat pada

Tabel 1. Bahan dan Alat Pembuatan Pakan Uji

Nama	Kegunaannya
Baskom timbangan kompor mesin pencetak pellet gelas ukur para-para tepung ikan, tepung kepala udang, tepung kedelai, tepung bungkil kopra, tepung jagung, tepung terigu, vitamin dan daun kopasanda, serta air tawar	untuk mencampur bahan pakan untuk menimbang bahan baku untuk memanaskan air untuk mencetak pakan untuk menakar air wadah pellet pada saat pengeringan sebagai bahan baku pakan

3.3 Prosedur pembuatan pakan uji

Bahan yang akan digunakan sudah dalam bentuk tepung, maka dilakukan penimbangan sesuai dengan kebutuhan yang telah ditentukan didalam formulasi pakan. Masing-masing bahan yang telah ditimbang dicampur dalam baskom, sistem pencampuran dilakukan terlebih dahulu pada bahan baku yang jumlahnya paling kecil selanjutnya diikuti pada bahan yang lebih besar, supaya bahan yang lebih kecil mempunyai kesempatan untuk bercampur dengan bahan baku yang lebih besar, sambil diaduk baik menggunakan tangan ataupun juga menggunakan mikser sampai homogen. Setelah homogen, maka dilakukan penambahan air panas yang telah mendidih sebanyak 40-50% sedikit demi-sedikit sambil diaduk sampai airnya merata. Setelah homogen bahan tersebut dicetak dengan menggunakan mesin pencetak pellet, ukuran pellet yang diinginkan bisa disesuaikan dengan menggunakan ukuran die pencetak pelletnya. Setelah pellet dicetak langsung dijemur dibawah sinar matahari ataupun di open sampai kering (kadar airnya $\pm 8-6\%$). Setelah kering pakan tersebut disimpan di tempat yang suhunya bisa konstan.

Kualitas pakan secara fisik sangat ditentukan oleh tekstur bahan, semakin halus bahan baku maka semakin baik kualitas fisik pakan

3.4 Pakan Uji

Sebanyak 500 gram daun kopasanda kering dihaluskan dengan menggunakan blender, kemudian ditimbang sesuai dengan perlakuan dan dicampurkan ke dalam pakan udang windu yang telah diformulasi..Pakan yang telah diformulasi dan ditambahkan bahan alami daun kopasanda sesuai konsentrasi hasil penelitian tahun pertama dimasukkan ke dalam kantong plastic 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. Formulasi pakan udang yang dicobakan pada setiap perlakuan disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Formulasi pakan udang windu (% berat kering)

Bahan	Perlakuan			
	A	B	C	D
Tepung ikan	40	40	40	40
Tepung kepala udang	10	10	10	10
Bungkil kopra	9	9	9	9
Tepung jagung	12	12	12	12
Tepung kedelai	17	17	17	17
Tepung terigu	10	10	10	10
Vitamin dan mineral	2	2	2	2
Daun kopasanda (mg/kg pakan)	0	1250	1500	1750
Total	100	100	100	100
protein kasar (%)	38,21	38,21	38,21	38,21
lemak kasar (%)	9,27	9,27	9,27	9,27
serat kasar (%)	4,52	4,52	4,52	4,52
kadar abu (%)	12,48	12,48	12,48	12,48
NFE (%)	32,86	32,86	32,86	32,86
Energi total (Kcal/kg pakan)	1646	1646	1646	1646

4. Uji Tantang *Vibrio harveyi*

Persiapan bakteri untuk uji tantang sama dengan yang dilakukan pada tahun pertama hanya dilakukan pada hari ke 30 dengan cara bakteri *Vibrio* patogen dengan konsentrasi 10^6 CFU/mL diinfeksi dengan metode perendaman. Setelah uji tantang, udang windu dipelihara kembali dan diberi pakan dengan konsentrasi sesuai perlakuan yaitu; A : Pakan Formulasi ditambah produk antibakteri alami 1000 ppm (kg/mg/berat pasca larva), B : Pakan Formulasi ditambah antibakteri alami 1250 ppm (kg/mg/berat pasca larva), C : Pakan Formulasi ditambah antibakteri alami 1500.ppm, B : Pakan Formulasi ditambah antibakteri alami 1750 ppm, E : Pakan Formulasi tanpa Produk antibakteri Alami tetapi diinfeksi *V. harveyi* (Kontrol)

5. Parameter Pengamatan

Parameter pengamatan yang diukur dalam penelitian ini meliputi gambaran hemosit Total Hemocyte Count (THC) dan Differential Haemocyte Count (DHC), Aktivitas Phenoloksidase dan tingkat kelangsungan hidup udang windu.

5.1. Gambaran hemosit

Pengambilan darah udang windu dilakukan pada hari ke-0, 14, 28 perlakuan Antibakteri dan hari ke-1, 7 dan 14 setelah uji tantang . Pengamatan gambaran hemosit yang dilakukan meliputi Total Haemocyte Count (THC), Differential Haemocyte Count (DHC), uji resistensi dan sintasan.

5.1.1. Total Haemocyte Count (THC)

Total hemosit atau total haemocyte count (THC) dilakukan dengan mengacu pada metode Chen et al., (2002) dalam Rantetondok dkk., (2008). Benur dari masing-masing ulangan perlakuan pakan yang mengandung bahan alami daun kopasanda dan setelah uji tantang (n=5 ekor) masing-masing dimasukkan ke dalam Effendorf volume 1,5 ml yang telah berisi antikoagulan 400 µl (Na- sitrat 3,8%). Benur kemudian digerus menggunakan *pastel* plastik kemudian dihomogenkan dengan cara menggoyangkan tangan membentuk angka delapan. Hemolim diambil dengan cara memipet cairan gerusan tadi dan selanjutnya diteteskan ke hemositometer (*Improved Neubauer type*). Perhitungan total hemosit dilakukan dengan melakukan pengamatan di bawah mikroskop cahaya binokuler dengan pembesaran 40 x 100 kali (Blaxhalland Daishley, 1973) Total hemosit dihitung menggunakan rumus

$$N = \left(\frac{n_1+n_2+n_3+n_4+n_5}{5} \right) \times 25 \times 10^4$$

Dimana:

N = Jumlah sel hemosit (sel/mL)

n1, n2, n3, n4, n5 = Jumlah sel hemosit dalam kotak kecil hemositometer (sel)

5.1.2. Differential Haemocyte Count (DHC).

Diferensiasi hemosit atau diferensial haemosit count (DHC) dilakukan dengan mengacu pada Martin dan Graves (1995). Hemolim ditetaskan pada gelas obyek dan dibuat ulasan, kemudian dikeringkan di udara. Selanjutnya preparat difiksasi dengan metanol selama 5-10 menit kemudian dikeringkan di udara kembali. Preparat direndam dalam larutan pewarna Giemsa selama 15-20 menit lalu dicuci dengan air mengalir dan dibiarkan kering. Diferensiasi hemosit kemudian dihitung dengan mengelompokkan sel hemosit kedalam 3 tipe sel (granular, semigranular dan hialin) di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali. Total tipe sel hemosit yang dihitung adalah 100 sel lalu persentase tiap jenis sel dihitung dengan menggunakan rumus:

Persentase jenis sel hemosit =

$$\frac{\text{Jumlah tiap jenis sel hemosit}}{\text{Total hemosit}} \times 100\%$$

Pengamatan dan pembedaan antar sel haemosit dilakukan dengan menggunakan deskripsi Johansson dan Söderhäll (1989).

5.1.3. Aktifitas Phenoloksidase

Aktifitas phenoloksidase (PO) diamati dengan mengacu pada prosedur Liu & Chen (2004) diukur dengan menggunakan spektrofotometer merek Genquant dengan kerapatan optik absorban 490 nm. Pengamatan dilakukan dengan melihat perekaman pembentukan dopachrome yang dihasilkan oleh *Ldihydroxyphenil alanine* (L-DOPA) dengan mengacu pada prosedur yang dijelaskan oleh Liu and Chen (2004). Hemolim disentrifuge dengan kecepatan 700 x g pada 4°C selama 20 menit. Cairan supernatan dibuang dan pellet dibilas dengan 1 ml *cocodylate-citrate buffer* (0,01 M *sodium cacodylate*, 0,45 M *Sodium chloride*, 0,10 M *Trisodium citrate*; pH 7) lalu disentrifuge kembali dengan kecepatan yang sama.. Setelah selesai disentrifuge, pellet hemosit kemudian dilarutkan dengan *cacodylate buffer* (0,01 M *Sodium cacodylate*; 0,45 M *Sodium Chloride*; 0,01 M kalsium kloride; 0,26 M *Magnesium Chloride*; pH 7) dan dihomogenkan. Larutan kemudian dibagi dua masing-masing sebanyak 100 µl. Larutan pertama diinkubasi selama 10 menit pada 25° C dengan 50 ml *trypsin* (1 mg.mL⁻¹ *cacodylate buffer*) sebagai *elisator*, kemudian ditambah 50 µl L-DOPA dan 5

menit kemudian ditambahkan 800µl *cacodylate buffer*. Larutan kedua sebanyak 100 µl *suspension* sel ditambah dengan 50 µl *cacodylate buffer* (penggati tripsin) dan 50 µl LDOPA digunakan sebagai kontrol untuk *background* aktifitas phenoloksidase pada semua kondisi uji. Kerapatan optik dari aktifitas PO diukur menggunakan *spektrofotometer*, absorban 490 nm. Optical density (OD) dari aktivitas PO semua kondisi uji dinyatakan sebagai formasi dopachrome dalam 50 µl hemolim.

5. 2. Sintasan

Sintasan larva udang windu yang papar bakteri *V. harveyi* dihitung menggunakan rumus Effendi (1997):

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

di mana:

Sintasan (SR) = tingkat kelangsungan hidup
 N_t = jumlah udang yang hidup pada akhir penelitian
 N_o = jumlah udang yang ditebar pada awal penelitian

5.3. Kualitas Air

Pengukuran parameter kualitas air dilakukan setiap 12 jam 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 pH meter (Meterlab PHM 201, 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.

6. Analisis Data

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan tiga ulangan. Data respon imun, dan kelangsungan hidup dianalisis menggunakan analisis ragam dengan tingkat kepercayaan 95% dan dilanjutkan dengan uji BNT untuk melihat perlakuan yang terbaik (Steel & Torrie 1998)

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

6.1. Indikator Pertahanan Tubuh

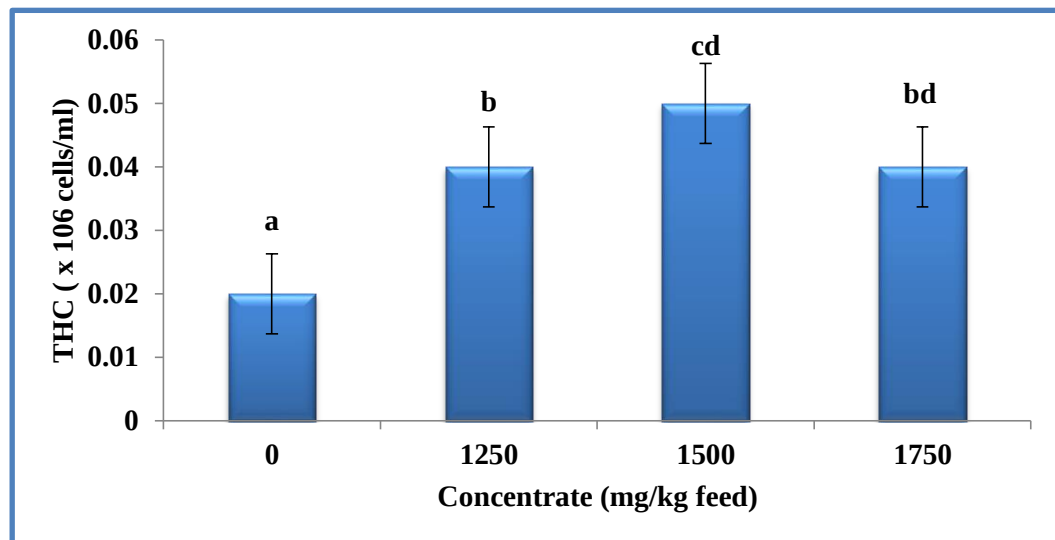
Total sel hemosit

Pertahanan tubuh krustase pertama kali adalah kulit karapak yang keras dan selanjutnya adalah hemolim. Di dalam hemolim terdapat sel yang disebut dengan hemosit. Sel hemosit ini berperan penting dalam respon imun udang terhadap infeksi penyakit (Braak, 2002).

Total sel hemosit gelondongan udang windu yang diberi pakan dengan penambahan bahan alami daun kopasanda disajikan pada Tabel 1 dan Gambar 1

Tabel 1. Total Hemosit Count (THC) Gelondongan Udang Windu selama Penelitian

Perlakuan/Ulangan	THC ($\times 10^6$ sel/mL)	Rata-Rata
A	1	5,00
	2	2,33
	3	4,00
B	1	7,33
	2	8,00
	3	6,67
C	1	10,17
	2	12,67
	3	11,67
D	1	9,61
	2	9,71
	3	9,00



Gambar 1. Total sel hemosit (THC) gelondongan udang windu yang diberi pakan yang mengandung ekstrak daun kopasanda (*Chromolaena odorata*).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa total hemosit pada udang yang yang diberi pakan yang mengandung bahan alami daun kopasanda lebih tinggi dibanding dengan perlakuan pakan yang tidak mengandung bahan alami daun kopasanda (Kontrol). Pada Gambar 1 memperlihatkan bahwa total sel hemosit tertinggi ditemukan pada perlakuan C disusul oleh perlakuan D dan B dan terendah pada perlakuan A (Kontrol). Berdasarkan hasil uji statistik menunjukkan bahwa perlakuan C berbeda nyata terhadap A dan B ($p > 0,05$), namun tidak signifikan ($p > 0,05$) terhadap perlakuan D. Total sel hemosit dapat dijadikan sebagai indikator tingkat kesehatan udang. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan ekstrak kopasanda dapat meningkatkan daya tahan tubuh gelondongan udang windu secara signifikan. Hal ini ditandai dengan tingginya total sel hemosit pada perlakuan C dibanding kontrol (perlakuan A). Hal ini dapat mengindikasikan bahwa penambahan bahan alami daun kopasanda sebanyak 1500 ppm ke dalam pakan benur gelondongan udang windu dapat berfungsi sebagai imunstimulan.

Hemosit merupakan komponen utama sistem pertahanan invertebrata tersirkulasi dalam hemolim, berperan sebagai prajurit penjaga yang siap merespon serangan patogen atau jaringan luka (Battinson *et al.*, 2003). Total hemosit dapat

mempengaruhi kemampuan inang untuk bereaksi melawan bahan asing dan berbagai respon terhadap infeksi (Johanssons *et al.*, 2000).

Aktivitas proPhenoloksidase (proPO)

Aktivitas phenoloksidase bertanggungjawab dalam penghancuran partikel asing atau patogen. Ensim ini diaktifkan oleh gen prophenoloksidase (proPO). ProPO akan mengaktifkan phenoloksidase untuk mengkatalisis oksidase fenol menjadi quinon yang selanjutnya akan mengarah pada pembentukan melanin (Braak, 2000). Hasil pengamatan terhadap aktivitas proPO gelondongan udang windu yang diberi pakan yang mengandung bahan alami daun kopasanda dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 2.

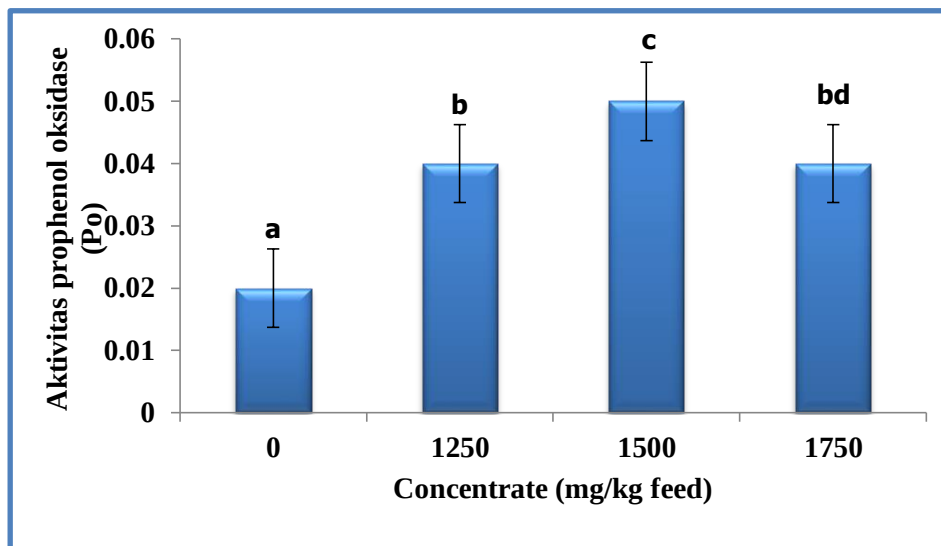
Tabel 2. Aktivitas phenoloksidase (poPro) Gelondongan Udang Windu

Perlakuan	Ulangan	Sintasan (%)	Rata-Rata
0 mg/kg pakan	1	0,026	0,02 ± 0,012
	2	0,022	
	3	0,024	
1250 mg/kg pakan	1	76,67	0,046 ± 0,008
	2	80,00	
	3	76,67	
1500 mg/kg pakan	1	86,67	0,051 ± 0,009
	2	83,33	
	3	86,67	
1750 mg/kg pakan	1	80,00	0,049 ± 0,006
	2	83,33	
	3	76,67	

Terlihat bahwa perlakuan C signifikan ($p > 0,05$) lebih baik dibanding perlakuan A, B dan D namun perlakuan B tidak signifikan terhadap perlakuan D ($p < 0,05$).

Berdasarkan pada Gambar 2 terlihat bahwa pada udang yang yang diberi pakan yang mengandung bahan alami daun kopasanda memiliki aktivitas Pro PO yang lebih tinggi dibanding dengan perlakuan pakan yang tidak mengandung bahan alami daun kopasanda (Kontrol). Dari Gambat tersebut juga terlihat bahwa bahwa

aktifitas prophenoloksidase tertinggi ditemukan pada perlakuan C disusul oleh perlakuan B dan D dan terendah pada perlakuan A (Kontrol).



Gambar 2. Aktifitas prophenoloksidase (proPO) gelondongan udang windu yang diberi pakan ekstrak daun kopasanda (*Chromolaena odorata*).

Berdasarkan hasil uji statistik menunjukkan bahwa perlakuan C berbeda nyata terhadap A dan B dan D ($p > 0,05$), namun perlakuan B tidak signifikan ($p > 0,05$) terhadap perlakuan D.

Aktifitas prophenoloksidase, perlakuan C masih signifikan lebih baik dibanding perlakuan lainnya termasuk kontrol kontrol (perlakuan A). Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa ekstrak kopasanda dapat mengaktifkan phenoloksidase sebagaimana terlihat bahwa nilai proPO pada perlakuan yang diberi pakan yang mengandung bahan alami daun kopasanda nyata yang lebih tinggi dan signifikan terhadap perlakuan pemberian pakan tanpa bahan alami daun kopasanda (kontrol). Sel hemosit yang berperan aktif pada aktifitas proPO adalah tipe sel granular dan semi granular sedangkan tipe sel hialin berperan dalam aktifitas fagositosis (Kakoolaki, *et al.*, 2010). Hasil pengamatan sel hemosit pada penelitian ini memperlihatkan bentuk sel hemosit yang masih seragam/belum bisa dibedakan bentuk selnya dengan menggunakan mikroskop hingga pembesaran 40x. Hal ini menyebabkan data diferensiasi hemosit belum bisa dilaporkan. Penelitian lanjutan ke tahap pembesaran gelondongan akan dilakukan supaya ukuran udang bisa lebih besar sehingga bisa dilakukan pengambilan hemolim dengan menggunakan syringe 26 gauge.

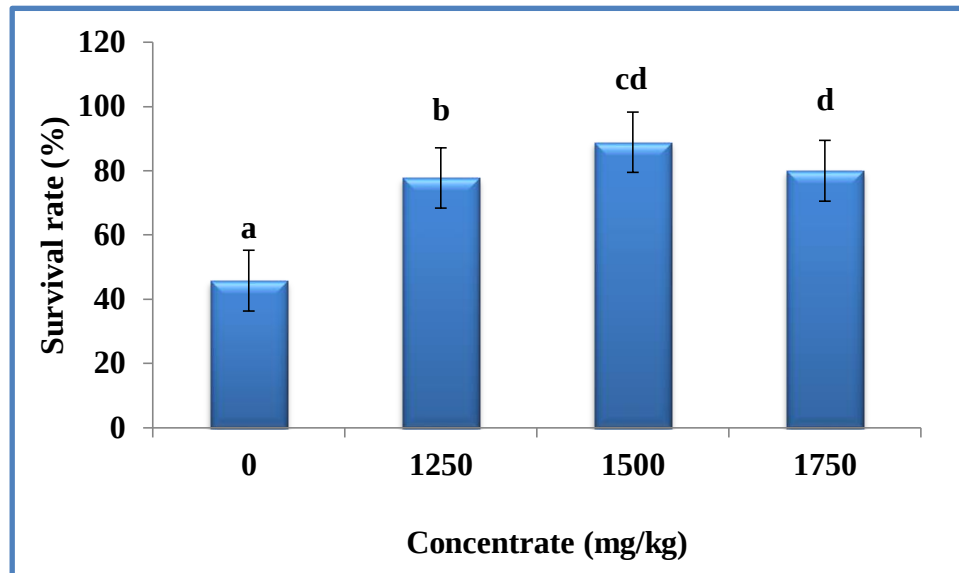
Imunitas udang windu dapat ditingkatkan dengan menggunakan β -glukan, lipopolisakarida, polisakarida dan peptin. Ekstrak daun kopasanda (*C. Odorata* L) mengandung komponen senyawa bioaktif phenolic, steroid, flavonoid, and alkaloid (Harlina et al, 2013) yang dapat berfungsi sebagai antibakteri (Ohimain and Nodu, 2013, Harlina *et al.*, 2015), antidiabetes dan antikatarak (Onkaramurthy, et al., 2013), dan antiinflamantory (Hanh,et al., 2011). Selain itu, kopasanda juga dilaporkan dapat menyembuhkan luka dan sebagai antioksidan karena mengandung komponen asam fenolik dan flavonoid (Phan, dkk. 2001); Hasil penelitian lain mengemukakan bahwa bahan alami daun kopasanda dapat meningkatkan imunitas tikus putih, yakni dengan meningkatkan aktifitas pagositosis, lysosim dan reactive oxygen species (ROS) (Nudo & Catap, 2012).

2. Kelangsungan Hidup

Data kelangsungan hidup gelondongan udang windu yang dipelihara dalam hapa disajikan pada Tabel 3 dalam bentuk gambar sebagaimana terlihat pada Gambar 3

Tabel 4. Data Sintasan Gelondongan udang windu selama Penelitian

Perlakuan	Ulangan	Sintasan (%)	Rata-Rata
0 mg/kg pakan	1	47,00	45,67
	2	50,00	
	3	40,00	
1250 mg/kg pakan	1	76,67	77,78
	2	80,00	
	3	76,67	
1500 mg/kg pakan	1	86,67	85,56
	2	83,33	
	3	86,67	
1750 mg/kg pakan	1	80,00	80,00
	2	83,33	
	3	76,67	



Gambar 3. Sintasan gelondongan udang windu yang diberi pakan ekstrak daun kopasanda (*Chromolaena odorata*).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelangsungan hidup udang yang telah di pelihara selama 21 hari dan diberi pakan yang mengandung bahan alami daun kopasanda lalu diinfeksi dengan *Vibrio harveyi* lebih tinggi dibanding kan dengan perlakuan yang diberi pakan tanpa bahan alami daun kopasanda. Hal ini dapat menjadi indikasi bahwa pemberian pakan yang mengandung bahan alami daun kopasanda memberi respon imun pada gelondongan udang windu.

Berdasarkan data pada Tabel tersebut terlihat bahwa perlakuan A (0 ppm) tanpa aplikasi bahan alami daun kopasanda sebagai anti bakteri alami diperoleh persentase sintasan yang rendah yaitu hanya mencapai 45,11 %, Sementara perlakuan dengan berbagai kosentrasi bahan alami daun kopasanda sebagai antibakteri menunjukkan tingkat sintasan yang tinggi. Persentase kelangsungan hidup tertinggi diperoleh pada perlakuan dengan pemberian pakan dengan konsentrasi 1500 mg/kg pakan dan mengalami penurunan kelangsungan hidup pada konsentrasi yang lebih tinggi namun tidak signofikan dengan perlakuan pemberian pakan dengan konsentrasi 1750 mg/kg pakan.

Hasil analisis ragam menunjukkan adanya pengaruh nyata ($p < 0,05$) dari perlakuan dan setelah diuji lanjut dengan menggunakan uji Tukey. Terlihat bahwa perlakuan C berbeda nyata terhadap A dan B ($p > 0,05$), namun perlakuan B tidak signifikan ($p > 0,05$) terhadap perlakuan D. Hal ini menunjukkan pemberian pakan yang mengandung bahan alami daun kopasanda dapat meningkatkan respon imun

gelondongan udang windu terhadap bakteri patogen *Vibrio harveyi*. Tingginya sintasan ini disebabkan oleh adanya interaksi positif dari beberapa parameter imun. Sebagaimana pada perlakuan pemberian pakan dengan konsentrasi bahan alami daun kopasanda 1500 mg/kg pakan (Gambar 1) menunjukkan jumlah hemosit sebesar $11,17 \pm 1,56 \times 10^6$ sel/ml) tertinggi sehingga kelangsungan hidup yang diperoleh juga tinggi yaitu sebesar 88,89 %. penambahan bahan alami daun kopasanda sebanyak 1500 ppm ke dalam pakan benur gelondongan udang windu dapat berfungsi sebagai imunstimulan, sehingga dapat mencegah serangan *Vibrio harveyi* yang pada akhirnya dapat menekan laju mortalitas sehingga kelangsungan hidup gelondongan udang windu tinggi. Sebagaimana diketahui bahwa sistem pertahanan tubuh pada krustace termasuk udang windu adalah pertahanan tubuh yang didominasi dilakukan oleh hemosit yang ada pada hemolim. Apabila ada patogen yang masuk dalam tubuh maka udang akan meningkatkan produksi hemolim. Di dalam hemolim akan terjadi aktifitas fagositosis oleh sel hialin dan semigranular, penghancuran patogen oleh aktifitas phenoloksidase dan juga pengaktifan antibakteri oleh antimicrobial peptides (AMPs) seperti penaidins, crustin dan antilipopolysaccharide factors (ALFs) (Tassanakajon et al., 2011).

3. Kualitas air

Pengukuran kualitas air dilakukan pada awal, tengah dan akhir percobaan dengan parameter suhu, salinitas, pH, dan oksigen terlarut.

Tabel 4. . Kualitas Air Media Pemeliharaan Gelondongan 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

Dari data kualitas air yang didapatkan (Tabel 4) terlihat bahwa faktor-faktor kualitas air sebagai media kehidupan gelondongan udang pada saat penelitian berlangsung secara umum berada pada kondisi yang optimal untuk pertumbuhan gelondongan 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.

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 4 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.

5.2. Luaran yang dicapai

Luaran yang direncanakan dan capaiannya disajikan pada tabel 5 berikut:

Tabel 5. Luaran yang Direncanakan dan Dicapai

No	Luaran yang direncanakan	Capaian
1.	Seminar Internasional	Sudah dilaksanakan Conference International Asian-Pasific Aquaculture 2017 pada tgl 24-28 Agustus 2017 di Kuala Lumpur Malaysia (Sertifikat terlampir)
2.	Seminar Nasional	Telah dilaksanakan Seminar Nasional pada tanggal 12 September 2017 di Politeknik Pertanian Pangkep (sertifikat terlampir)
3.	Jurnal Internasional/ Nasional bereputasi	Status Submit
4.	Produk yang dihasilkan	Metode
	HKI (Paten sederhana)	Buku ajar Di Tahun ke 3

BAB VI RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA

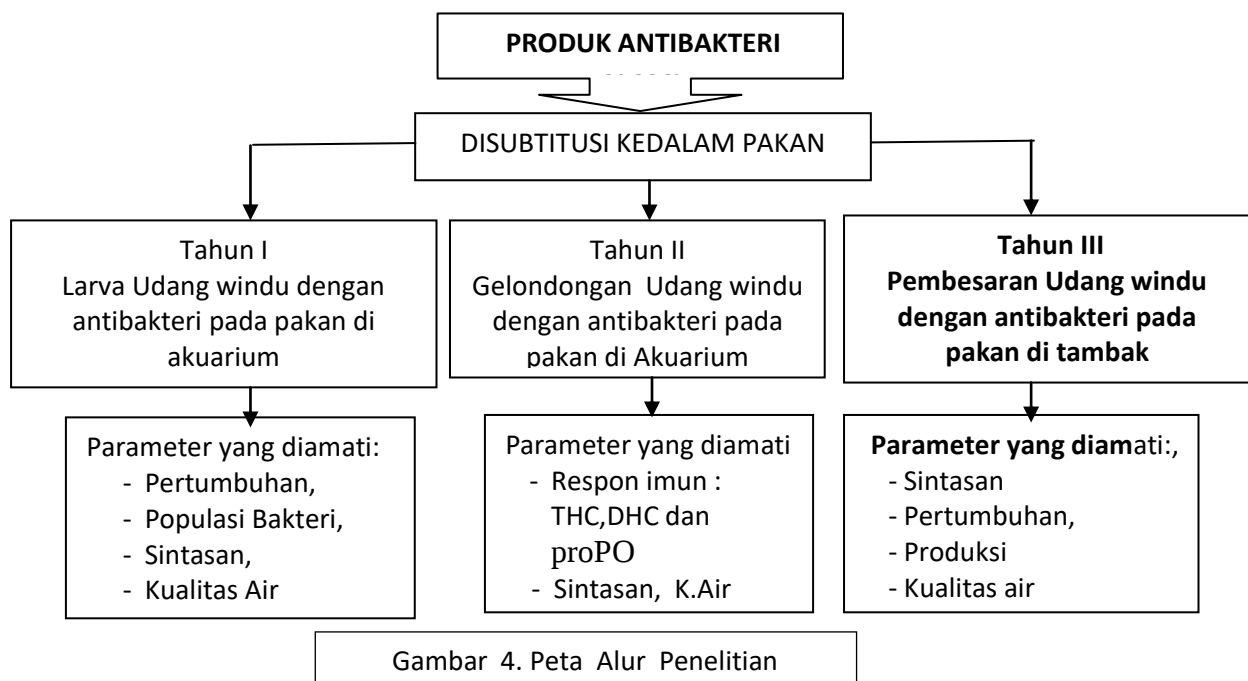
Rencana penelitian ” Strategi Pencegahan Penyakit Vibriosis pada Udang Windu (*Penaeus monodon* Fabr.) Menggunakan Produk Bahan Alami” terdiri dari 3 Tahap (Tiga Tahun)

Tahun Pertama telah dilaksanakan untuk mengetahui Efektifitas pemanfaatan bahan alami daun kopasanda sebagai antibakteri alami dalam pakan dalam upaya pencegahan penyakit vibriosis pada pasca larva udang windu skala laboratorium.

Tahun ke dua pada tahun 2017 telah dilaksanakan 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

Selanjutnya rencana tahun berikutnya:

Tahun ke tiga pada tahun 2018 akan dilakukan uji coba aplikasi produk pakan yang mengandung bahan alami daun kopasanda sebagai antibakteri alami (Hasil Penelitian 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 4



BAB IV. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Hasil penelitian ini dapat disimpulkan, bahwa pemberian pakan yang mengandung bahan alami daun kopasanda dapat meningkatkan respon imun gelondongan udang windu (*P. Monodon* Fabr.) yang diinfeksi *Vibrio harveyi*, ditandai dengan meningkatnya jumlah hemosit (THC), dan aktivitas phenoloksidase (PO). Respon imun tertinggi diperoleh dengan pada konsentrasi 1500 mg/kg pakan. Meningkatnya respon imun udang menyebabkan daya tahan udang terhadap infeksi *Vibrio harveyi* meningkat, sehingga kelulushidupan

gelondongan udang windu *P.monodon* yang diinfeksi *V. harveyi* lebih tinggi dari pada perlakuan tanpa bahan alami daun kopasanda (kontrol).

Saran

Sehubungan dengan hasil penelitian tahun ke dua ini, diperlukan penelitian lebih lanjut efek bahan alami daun kopasanda pada pakan pada pembesaran udang windu di Tambak.

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
- Anderson dan Siwicki, A.K. 1993. Basic haematology and serology for fish health program. Paper Presented. In second symposium on disease in Asian Aquaculture "Aquatic Animal Health and the environment" Phuket, Thailand. 25-29th October 1993.
- Battison, A., Cawthorn, R. & Horney B. (2003). Classification of *Homarus americanus* hemocytes and the use of differential hemocyte counts in lobsters infected with *Aerococcus viridans* var. *homari* (Gaffkaemia). *Journal of Invertebrate Pathology*, 84:177-197.
- Blaxhall, P. And Daishley, K. 1973. Some Blood parameters of the Rainbow Trout. The Kamloops variety. *J. Fish. Biol.* 5:1-8
- Braak, K. Van den. 2002. Haemocytic Defence in Black Tiger Shrimp (*Panaeus monodon*). PhD thesis, Wageningen University – with ref. – with summary in Dutch. Netherlands. 159 pages
- Bourne, D., L. Hj, 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
- Chen, T.T., 2000. Aquaculture biotechnology and fish disease. In: Hardjito, L. (Ed.). International Symposium.
- Djojosumarto, P. 2012. Fungisida dan bakterisida yang berasal dari alam. Artikel. <http://www.gerbangpertanian.com/2011/12/fungisida-dan-bakterisida-alami.html>. tgl akses 21 Maret 2012.
- 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 <http://bahan-alam.fa.itb.ac.id>
- Effendi, I. 1997 Biologi Perikanan. Yayasan Pustaka Nusantara. Yogyakarta.
- Harlina, A. Prajitno, E. Suprayitno, and H. Nursyam, 2013. 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 Tiger Prawn. *Aquatic Science and Tecnology*, 1(2), 15-29. <http://dx.doi.org/10.5296/ast.plii.3558>.
- Harlina, H., A. Prajitno, E. Suprayitno, H. Nursyam and Rosmiati 2015. Potential Study of Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) Leaves as Antibacterial Against *Vibrio harveyi*, Disease Causative Agent of Tiger Prawn (*Penaeus monodon* Fabricius) Post Larvae. *J. Aquac Res Development*, 6(10) [http://dx.doi.org/ 10.4172/2155-9546.1000372](http://dx.doi.org/10.4172/2155-9546.1000372)
- Harlina Kasnir, M., Rustam, Jayadi and Rosmiati, 2016. Isolation and Identification of Bioactive Compound of Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) Leaf to Fight *Vibrio harveyi* on Post Larval Tiger Prawn (*Penaeus monodon* Fabricius). *International Journal of Tropical Medicine* 11(4):92-97, 2016.
- Hanh, T. T. H., Hang, D. T. T., Van Minh, C., & Dat, N. T. (2011). Anti-inflammatory effects of fatty acids isolated from *Chromolaena odorata*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 4(10), 760–763 [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(11\)60189-2](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(11)60189-2)
- Isnansetyo, A. T., E. P. Setyowati, and H. H., Anshory, 2009. *In vitro* Antibacterial Activity of Methanol Extract of a Sponge, *Geodia* sp. Against oxytetracyclin-resistant *Vibrio harveyi* and its toxicity. *J. Biol. Sci* 9: 224-230.
- Johansson, M.W, P. Keyser, K. Sritunyaluksana & K. Soderhall. (2000). Crustacean haemosytes and haematopoiesis. *Aquacultur* 191 : 45-92
- Kadriah, I.A.K. 2012. Analisis Keragaman Morfologi, Fisiologi dan Genetik serta Uji patogenitas Isolat-isolat *Vibrio* sp. Tesis. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor. 127 hal.
- Kakoolaki, S., Soltani, M., Ebrahimzadeh, M.H.A., Sharifpour, I., Mirzargar, S., Afsharnasab, M. dan Motalebi, A.A. 2011. The effect of different salinities on mortality and histopathological changes of SPF imported *Litopenaeus vannamei*, experimentally exposed to white spot virus and a new differential hemocyte staining method. *Iranian Journ. of Fisheries sciences*. hal. 10(3): 447 – 460.
- Liu C.H. and J.C. Chen. 2004. Effect of ammonia on the immune respons of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and susceptibility to *Vibrio alginolyticus*. *Fish and Shelfish Immunology*. 16:321 – 334.
- Maftuch, Toban, M.H., & Risjani, Y. (2012). Administration of marine algae (*Gracillaria verrucosa*) immunostimulant enhances some innate immune

- parameters in black tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fabricus) against *Vibrio harveyi* infection. *Journal of Applied Sciences research*. 8(2):1052-1058. ISSN 1819-544X.
- Mariyono, A. Wahyudi and Sutomo. 2002. Teknik penanggulangan penyakit udang menyala melalui pengendalian populasi bakteri di laboratorium. *Buletin Teknik Pertanian*, 7(1): 25-27.
- Martin, G.G. and L.B. Graves. 1985. Structur and classification of shrimp haemocytes. *J. Morfology*. 185:339-348
- Nudo, L. P., & Catap, E. S. (2012). Anti-immunosuppressive effects of *chromolaena odorata* (Lf.) king & robinson (asteraceae) leaf extract in cyclophosphamide-injected Balb/C mice. *Philippine Journal of Science*, 141(1), 35–43.
- Onkaramurthy, M., Veerapur, V. P., Thippeswamy, B. S., Madhusudana Reddy, T. N., Rayappa, H., & Badami, S. (2013). Anti-diabetic and anti-cataract effects of *Chromolaena odorata* Linn.; In streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 145(1), 363–372. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.11.023>
- Ohimain E, and Nodu M. 2013. Antibacterial Activity of Ethanol , Crude and Water Extract of *Chromolaena Odorata* Leaves on S Typhi and E Coli. *Greener Journal of Microbiology and Antimicrobials*, vol. 1, issue 2354-2284 (2013).
- Subyakto, S., 2011. Kondisi Terkini Sumberdaya Ikan Hasil Budidaya dalam Mendukung Industrialisasi Perikanan. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya. Disampaikan pada Kuliah Umum dalam Rangka Bulan Mutu dan keamanan Hasil Perikanan FPIK UB 19 Nopember 2011.
- Phan, T., Wang, L., See, P., Grayer, R.J., Chan, S., dan Lee, S.T. 2001. Phenolic Compounds of *Chromolaena odorata* protect cultured skin cells from oxidative damage: Implication for cutaneous wound healing. *Biol. Pharm. Bull.* 24(12) 1373-1379.
- 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 *Isotoma longiflora* on *Pseudomonas* sp. In *Proceeding of 30th Faculty of Mathematics and Natural Science seminar*, ed. M. Kumanireng, pp 31-33. Ujung Pandang: Hasanuddin University.
- Tassanakajon, A. dan Somboonwiwat, K. 2011. Antimicrobial Peptides From The Black Tiger Shrimp *Penaeus monodon* – A review. Diseases in Asian Aquaculture VII. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Selangor, Malaysia. hal: 229 – 240.