

**PENGARUH PENAMBAHAN EKSTRAK *Tribulus terrestris* DENGAN
DOSIS BERBEDA PADA PAKAN FUNGSIONAL TERHADAP RESPON
IMUN UDANG VANAME (*Litopenaeus vannamei*) (Boone, 1931)**

Skripsi

Oleh

**ZIDDAN LAUDZA MUHANDIS
NPM 1914111035**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2026**

**PENGARUH PENAMBAHAN EKSTRAK *Tribulus terrestris* DENGAN
DOSIS BERBEDA PADA PAKAN FUNGSIONAL TERHADAP RESPON
IMUN UDANG VANAME (*Litopenaeus vannamei*) (Boone, 1931)**

Oleh

ZIDDAN LAUDZA MUHANDIS

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA PERIKANAN**

Pada

**Jurusan Perikanan dan Kelautan
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2026**

ABSTRAK

PENGARUH PENAMBAHAN EKSTRAK *Tribulus terrestris* DENGAN DOSIS BERBEDA PADA PAKAN FUNGSIONAL TERHADAP RESPON IMUN UDANG VANAME *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931)

Oleh

ZIDDAN LAUDZA MUHANDIS

Budidaya udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) sering mengalami serangan bakteri *patogen* yang menyebabkan penurunan respons imun, meningkatnya mortalitas, kerugian ekonomi pembudidaya. Penggunaan antibiotik terus-menerus berisiko menimbulkan resistensi bakteri, sehingga diperlukan alternatif yang lebih aman berupa imunostimulan alami. Ekstrak *Tribulus terrestris* mengandung senyawa bioaktif yang berpotensi meningkatkan sistem imun udang. Penelitian ini bertujuan menganalisis pengaruh ekstrak *Tribulus terrestris* dengan dosis berbeda terhadap respons imun udang vaname. Penelitian dilaksanakan pada April–Mei 2026 di Laboratorium Budidaya Perikanan, Universitas Lampung, menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 ulangan, yaitu perlakuan A (0 mg/kg), B (50 mg/kg), C (100 mg/kg), dan D (200 mg/kg pakan). Udang vaname PL-10 dipelihara selama 15 hari dan diberi pakan yang telah dicampur ekstrak *Tribulus terrestris*. Parameter yang diamati meliputi *Total Haemocyte Count*, *Differential Haemocyte Count*, aktivitas fagositosis, indeks fagositosis, tingkat kelangsungan hidup. Data dianalisis menggunakan ANOVA pada taraf kepercayaan 95% dan dilanjutkan uji Duncan jika terdapat perbedaan nyata. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak *Tribulus terrestris* berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap THC, DHC, aktivitas fagositosis, dan tingkat kelangsungan hidup udang vaname. Perlakuan terbaik pada dosis 50 mg/kg pakan (perlakuan B) dengan nilai THC sebesar $3,89 \pm 0,30 \times 10^4$ sel/ml, aktivitas fagositosis $58,70 \pm 1,53\%$, dan tingkat kelangsungan hidup $86,80 \pm 1,46\%$.

Kata kunci: Imunostimulan, Respon Imun, *Tribulus terrestris*, Udang vaname

ABSTRACT

THE EFFECT OF ADDING *Tribulus terrestris* EXTRACT AT DIFFERENT DOSAGES TO FUNCTIONAL FEED ON THE IMMUNE RESPONSE OF VANNAMEI SHRIMP *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931)

By

ZIDDAN LAUDZA MUHANDIS

White shrimp (*Litopenaeus vannamei*) farming is frequently challenged by pathogenic bacterial infections that suppress immune responses, increase mortality rates, and cause substantial economic losses to farmers. The prolonged use of antibiotics may lead to the development of bacterial resistance; therefore, safer and more sustainable alternatives, such as natural immunostimulants, are required. *Tribulus terrestris* extract contains various bioactive compounds that are believed to enhance the immune system of shrimp. This study aimed to examine the effect of *Tribulus terrestris* extract at varying doses on the immune response of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). The research was conducted from April to May 2026 at the Aquaculture Laboratory, University of Lampung, employing a Completely Randomized Design (CRD) with four treatments and three replications: treatment A (0 mg/kg feed), B (50 mg/kg feed), C (100 mg/kg feed), and D (200 mg/kg feed). PL-10 white shrimp were reared for 15 days and fed diets supplemented with *Tribulus terrestris* extract. The observed parameters included *Total Haemocyte Count* (THC), *Differential Haemocyte Count* (DHC), phagocytic activity, phagocytic index, and survival rate. Data were analysed using one-way ANOVA at a 95% confidence level, followed by Duncan's multiple range test where significant differences were detected. The results demonstrated that supplementation of *Tribulus terrestris* extract significantly affected ($P < 0.05$) the total haemocyte count (THC), differential haemocyte count (DHC), phagocytic activity, and survival rate. The best performance was observed in Treatment B (50 mg/kg feed), which resulted in a THC value of $3.89 \pm 0.30 \times 10^4$ cells mL^{-1} , phagocytic activity of $58.70 \pm 1.53\%$, and a survival rate of $86.80 \pm 1.46\%$. Moreover, shrimp receiving Treatment B exhibited a slower progression of clinical symptoms compared to those in the other treatments.

Keywords: Immune Response, Immunostimulant, *Tribulus terrestris*, White Shrimp

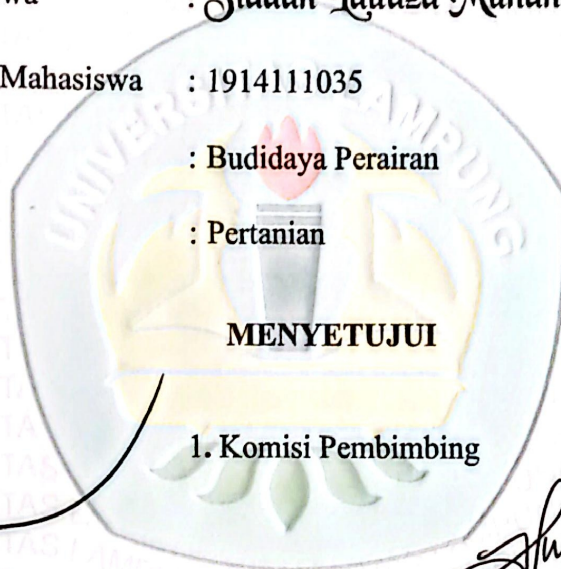
Judul skripsi : PENGARUH PENAMBAHAN EKSTRAK
Tribulus terrestris DENGAN DOSIS BERBEDA
PADA PAKAN FUNGSIONAL TERHADAP
RESPON IMUN UDANG VANAME
(*Litopenaeus vannamei*) (Boone, 1931)

Nama Mahasiswa : *Ziddan Laudza Muhandis*

Nomor Pokok Mahasiswa : 1914111035

Program Studi : Budidaya Perairan

Fakultas : Pertanian



M
Munti Sarida, S.Pi., M.Sc., Ph.D.
NIP. 198309232006042001

Hilma
Hilma Putri Fidyandini, S.Pi., M.Si
NIP. 199001282019032018

2. Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan

M
Munti Sarida, S.Pi., M.Sc., Ph.D.
NIP. 198309232006042001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : Munti Sarida, S.Pi., M.Sc., Ph.D.



Sekretaris : Hilma Putri Fidyandini, S.Pi., M.Si.



Penguji Bukan Pembimbing : Dr. Agus Setyawan S.Pi., M.P.



Dean Fakultas Pertanian



Dr. Kuswanta Futas Hidayat, M.P.
NIP. 196411181989021002

Tanggal lulus ujian skripsi: 29 Mei 2026



KEMENTERIAN PENDIDIKAN TINGGI, SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS LAMPUNG
FAKULTAS PERTANIAN
JURUSAN PERIKANAN DAN KELAUTAN

Prof. Dr. Sumantri Brojonegoro No. 1 Bandar Lampung 35145 Telp (0721) 704946 Fax (0721) 770347

PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam naskah skripsi yang berjudul “**Pengaruh Penambahan Ekstrak *Tribulus terrestris* Dengan Dosis Berbeda Pada Pakan Fungsional Terhadap Respon Imun Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) (Boone,1931)**” tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh pihak lain untuk mendapatkan karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebut dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata dalam naskah skripsi ini ditemukan dan terbukti terdapat unsur-unsur fabrikasi, falsifikasi, plagiat dan konflik kepentingan saya bersedia skripsi ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh (S1) dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku (Undang-Undang Nomor 20 Tahun 2003, Pasal 25 ayat 2 dan Pasal 70).

Bandar Lampung, Juni 2026

Yang membuat pernyataan



Ziddan Laudza M
NPM. 1914111035

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Desa Srimenanti, Kabupaten Lampung Timur, Provinsi Lampung, pada tanggal 23 September 2001 sebagai anak dari pasangan suami istri Bapak Bangun Aspono dan Ibu Nurmalia Azizah. Penulis menempuh pendidikan formal dari Taman Kanak-kanak Al-Mu'minin, Lampung Timur, Lampung pada tahun (2005 - 2007), lalu melanjutkan pendidikan dasar di SDN Sri Menanti pada tahun 2007 – 2013, dilanjutkan ke pendidikan menengah pertama di SMPN 1 Bandar Sri Bhawono pada tahun 2013 – 2016, dan pendidikan menengah atas di SMAN 1 Way Jepara pada tahun 2016 – 2019.

Penulis kemudian melanjutkan pendidikan ke jenjang pendidikan tinggi di Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada tahun 2019. Penulis aktif pada organisasi Himpunan Mahasiswa Perikanan Indonesia (HIMAPIKANI) wilayah II, dan pernah aktif pada organisasi Himpunan Mahasiswa Perikanan dan Kelautan (HIMAPIK) Universitas Lampung pada bidang pengaderan dan pernah ditunjuk sebagai Ketua pelaksana acara Evaluasi Pengurus tahun 2021.

Penulis pernah menjadi asisten dosen pada mata kuliah Manajemen dan Teknologi Perbenihan Ikan (MTPI) pada 2023 dan Bioteknologi Akuakultur (BOA) pada

tahun 2021. Penulis mengikuti Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Labuhan Ratu V, Kecamatan Labuhan Ratu, Kabupaten Lampung Timur, Provinsi Lampung selama 40 hari pada bulan Januari-Februari 2023 sebagai Koordinator Desa dan Wakil Koordinator Kecamatan. Penulis juga telah melaksanakan kegiatan Praktik Umum di Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Kabupaten Jepara, Jawa Tengah.

Untuk orang tua tercinta, Ibu Nurmalia Azizah dan Bapak Bangun Aspono,
serta seluruh keluarga yang tiada henti selalu mendoakan yang terbaik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis ucapkan ke hadirat Tuhan yang Maha Esa, karena atas rahmat dan hidayah-Nya skripsi ini dapat diselesaikan.

Skripsi dengan judul “*Pengaruh Penambahan Ekstrak Tribulus terrestris Dengan Dosis Berbeda Pada Pakan Terhadap Respon Imun Udang vanname (Litopenaeus vannamei)*” adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana perikanan di Universitas Lampung.

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P. selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung;
2. Munti Sarida, S.Pi. M.Sc. Ph.D. selaku Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan sekaligus Dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan ilmu, kritik saran, arahan, dan waktu untuk selalu membimbing sehingga proses penyelesaian skripsi ini berjalan dengan sebaik-baiknya;
3. Hilma Putri Fidyandini, S.Pi., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Pembantu/ Sekretaris yang telah memberikan ilmu, kritik saran, arahan, dan waktu untuk selalu membimbing sehingga proses penyelesaian skripsi ini berjalan dengan sebaik-baiknya;
4. Dr. Agus Setyawan S.Pi., M.P. selaku Penguji Utama dan Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan ilmu, kritik saran, arahan, dan waktu untuk selalu membimbing sehingga proses penyelesaian skripsi ini berjalan dengan sebaik-baiknya;
5. Seluruh dosen dan staf Jurusan Perikanan dan Kelautan yang sudah turut membantu kelancaran selama penyelesaian skripsi;

6. Kedua orang tua Ibu Nurmalia Azizah dan Bapak Bangun Aspono yang selalu memberikan doa, dukungan, saran serta motivasi kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini;
7. Kakakku tercinta Rizky Amanda Arlina, adik-adikku Najmi Orianadine, M. Fauzantara, Aurelia Raissanda dan keluarga besar yang selalu memberikan doa, dukungan serta motivasi kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini;
8. Rekan-rekan seperjuangan Agung Saputra, Dimas Rimansa, Faishal Zulkarnain, Ikhsan Putra Pratama, M. Daffa Varisco, Mei Arnita A, Nurfadila Maulana H, Raehan Kenhardi, Resti Ayu A, Rossa Paramita, Rutmaida Boru, Safira Usmani, Sandi M. Afriansyah, Sesar Dermawan, Yogi Pratama dan Keluarga Besar Budidaya Perairan 2019 atas segala bantuan, semangat, dan doa selama masa perkuliahan sampai penyelesaian skripsi ini;

Bandar Lampung, Juni 2026

Ziddan Laudza Muhandis

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--|---------|
| DAFTAR TABEL | v |
| DAFTAR GAMBAR | vi |
| DAFTAR LAMPIRAN | vii |
| I. PENDAHULUAN | 8 |
| 1.1 Latar Belakang | 8 |
| 1.2 Tujuan Penelitian | 10 |
| 1.3 Manfaat Penelitian | 10 |
| 1.4 Kerangka Penelitian | 10 |
| 1.5 Hipotesis | 13 |
| II. TINJAUAN PUSTAKA | 15 |
| 2.1 Morfologi <i>Tribulus terrestris</i> | 15 |
| 2.2 Klasifikasi Udang Vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>) | 16 |
| 2.3 Morfologi Udang Vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>) | 18 |
| 2.4 Sistem imun pada udang vaname | 19 |
| 2.5 Imunostimulan | 20 |
| III. METODE PENELITIAN | 22 |
| 3.1 Waktu dan Tempat | 22 |
| 3.1.1 Waktu Penelitian..... | 22 |
| 3.1.2 Tempat Penelitian | 22 |
| 3.2 Bahan dan Alat | 22 |
| 3.2.1 Bahan | 22 |
| 3.2.2 Alat | 23 |
| 3.3 Rancangan Penelitian | 25 |
| 3.4 Prosedur penelitian | 26 |
| 3.4.1 Pembuatan Ekstrak | 26 |
| 3.4.2 Persiapan Wadah Uji | 26 |
| 3.4.3 Persiapan Udang Uji | 27 |
| 3.4.4 Pencampuran Pakan | 27 |
| 3.4.5 Pemeliharaan Udang | 27 |

| | |
|---|-----------|
| 3.5 Parameter Penelitian | 28 |
| 3.5.1 <i>Total Haemocyte Count</i> (THC) | 28 |
| 3.5.2 <i>Differential Haemocyte Count</i> (DHC) | 29 |
| 3.5.3 Aktivitas dan Indeks Fagositosis..... | 29 |
| 3.5.4 Tingkat Kelangsungan Hidup | 30 |
| 3.6 Kualitas Air | 31 |
| 3.7 Analisis Data | 31 |
| IV. HASIL DAN PEMBAHASAN..... | 32 |
| 4.1 Hasil | 32 |
| 4.1.1 <i>Total Haemocyte Count</i> (THC) | 32 |
| 4.1.2 <i>Differential Haemocyte Count</i> (DHC) | 33 |
| 4.1.3 Aktivitas dan Indeks Fagositosis | 34 |
| 4.1.4 Tingkat Kelangsungan Hidup..... | 35 |
| 4.1.5 Kualitas Air | 36 |
| 4.2 Pembahasan | 37 |
| V. SIMPULAN DAN SARAN | 40 |
| 5.1 Simpulan | 40 |
| 5.2 Saran | 40 |
| DAFTAR PUSTAKA | 42 |
| LAMPIRAN | 50 |

DAFTAR TABEL

| Tabel | Halaman |
|--|---------|
| 1. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian | 22 |
| 2. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian | 23 |
| 3. Pengukuran kualitas air dalam media pemeliharaan udang vaname | 38 |

DAFTAR GAMBAR

| Gambar | Halaman |
|---|---------|
| 1. Kerangka Pikir Penelitian | 12 |
| 2. <i>Litopenaeus vannamei</i> | 17 |
| 3. Letak penempatan perlakuan wadah udang uji pada penelitian..... | 25 |
| 4. <i>Total haemocyte count</i> udang vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>) pada sebelum dan sesudah perlakuan..... | 32 |
| 5. <i>Differential Haemocyte Count</i> udang vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>) hari ke-0 sebelum diberikan perlakuan..... | 32 |
| 6. <i>Differential Haemocyte Count</i> udang vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>) hari ke-15 setelah pemberian ekstrak <i>Tribulus terrestris</i> | 32 |
| 7. Aktivitas fagositosis udang vaname sebelum dan sesudah perlakuan | 33 |
| 8. Indeks fagositosis udang vaname sebelum dan sesudah perlakuan | 34 |
| 9. Tingkat kelangsungan hidup udang vaname sebelum dan sesudah perlakuan .. | 35 |

DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran | Halaman |
|--------------------------|---------|
| 1. Uji Normalitas..... | 54 |
| 2. Uji Homogenitas | 54 |
| 3. Uji Anova..... | 55 |
| 4. Uji Duncan..... | 56 |

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang dan Masalah

Udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) adalah komoditas perikanan bernilai ekonomi tinggi. Keberhasilan dari tingginya nilai ekonomi budidaya udang vaname tidak terlepas dari pertumbuhan yang relatif pesat, kemampuan bertahan pada kondisi lingkungan yang bera-gam, tingginya minat pasar terhadap produk tersebut dan padat tebar yang tinggi (Muzahar, 2022). Jumlah produksi budidaya udang vaname di Indonesia tahun 2026 sebesar 786.378 ton dimana produksi sedikit turun dibandingkan tahun 2025 sebesar 786.382 ton (Statistik KKP, 2026). Namun, berdasarkan studi yang dilakukan oleh Prastianti (2021) menunjukkan nilai produksi budidaya udang vaname di Indonesia sering terjadi ketidakstabilan contohnya seperti tahun 2014 terjadi penurunan produksi sebesar 0,79%.

Penurunan produktivitas budidaya udang vaname dapat dipengaruhi oleh kepadatan pemeliharaan yang tinggi serta pemberian pakan dalam jumlah berlebih. Praktik tersebut dapat meningkatkan akumulasi bahan organik di media pemeliharaan sehingga kualitas air tambak menjadi kurang optimal. Praktik budidaya yang tidak diimbangi dengan pengawasan kualitas air yang memadai dapat memicu stress pada udang. Kondisi ini berpotensi menurunkan efektivitas sistem imun sehingga dapat menyebabkan serangan penyakit dan kegagalan budidaya akibat serangan patogen (Supono, 2017). Contoh dari serangan patogen salah satunya melalui bakteri *Vibrio parahaemolyticus*, kondisi ini dapat menyebabkan tingginya tingkat kematian pada stadia larva dan pascalarva, dengan nilai mortalitas yang berpotensi mencapai lebih dari 30%. (Boyd et al., 2018). *Vibrio parahaemolyticus* dilaporkan sebagai bakteri toksin dari agen yang menghasilkan *Acute hepatopancreatic necrosis disease* (AHPND) (Tran et al.,

2013). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa organisme dengan respon imun yang kuat memiliki kelangsungan hidup yang lebih baik ketika terpapar oleh patogen (Zainal et al., 2023). Respon imun menjadi faktor kunci dalam menjaga kesehatan dan mencegah kematian udang akibat infeksi patogen.

Infeksi patogen pada budidaya udang umumnya dikendalikan melalui penggunaan antibiotik. Namun, pemakaian antibiotik berlebihan dapat mendorong terbentuknya bakteri yang resisten serta meninggalkan residu yang berpotensi membahayakan kesehatan manusia. Selain itu, munculnya resistensi bakteri pada sistem budidaya udang vaname dapat meningkatkan risiko terjadinya wabah penyakit yang berujung pada penurunan produktivitas, kerugian ekonomi, bahkan degradasi kualitas lingkungan tambak. Pengendalian yang lebih bersahabat dengan lingkungan dapat dilakukan melalui pemberian imunostimulan berbahan alami lewat pakan. Penggunaan bahan herbal sebagai imunostimulan diharapkan mampu meningkatkan sistem pertahanan tubuh udang sehingga kesehatan dan kualitasnya dapat terjaga secara optimal. (Zahra et al., 2021).

Sebagai alternatif pengendalian penyakit yang ramah lingkungan, tumbuhan rujak polo (*Tribulus terrestris*) dapat digunakan karena terbukti mengandung berbagai senyawa bioaktif yang berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. Selain itu, pemanfaatan tanaman ini juga dapat mendukung peningkatan respons imun udang dan membantu mempertahankan kualitas lingkungan budidaya. Berdasarkan hasil penelitian Linayati et al. (2023), *Tribulus terrestris* memiliki kandungan senyawa bioaktif berupa flavonoid, alkaloid, dan minyak atsiri yang berpotensi meningkatkan palatabilitas pakan serta berperan sebagai sumber antioksidan alami. Dalam praktik pengobatan tradisional di Cina dan India, *Tribulus terrestris* telah lama dimanfaatkan sebagai sumber bahan herbal karena diyakini memiliki berbagai khasiat yang bermanfaat dalam penanganan beragam gangguan kesehatan (Chhatre et al., 2014). Manfaat *Tribulus terrestris* tidak hanya berkaitan dengan pengendalian penyakit, tetapi juga mencakup pemanfaatannya dalam peningkatan performa reproduksi dan kajian genetika pada organisme perairan khususnya ikan. Contohnya seperti ikan lele, nila, bawal bintang bahkan lobster air tawar. Berdasarkan penelitian terdahulu menunjukkan bahwa ekstrak *Tribulus terrestris* dapat meningkatkan respon imun

pada organisme akuatik. Misalnya, penelitian Rachma (2024) melaporkan peningkatan ketahanan ikan bawal bintang terhadap patogen dengan penambahan ekstrak *Tribulus* melalui pakan dengan dosis berbeda dapat terbukti berpengaruh nyata. Penelitian saat ini mencoba mencari perbedaan respon imun ketika menggunakan dosis ekstrak *Tribulus terrestris* yang bervariasi, khusus dalam konteks infeksi *Vibrio parahaemolyticus*. Begitu pula dengan penelitian oleh (Azizah et al., 2024) pada calon induk bawal bintang melalui pemberian pakan yang mengandung *Tribulus terrestris* dengan konsentrasi 0, 50, dan 250 mg/kg pakan serta dengan penambahan hormone gonadotropin berpengaruh signifikan terhadap peningkatan respon imun.

Meskipun demikian, hingga saat ini masih belum dilakukannya kajian lebih lanjut terkait penggunaan ekstrak *Tribulus terrestris* dalam upaya mengatasi infeksi pada udang vaname. Meskipun ekstrak *Tribulus terrestris* berpotensi digunakan sebagai imunostimulan, pengaruh suplementasinya terhadap respons imun nonspesifik udang vaname masih perlu dibuktikan melalui penelitian yang terukur.

1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini memiliki tujuan untuk mengkaji pengaruh pemberian ekstrak *Tribulus terrestris* pada dosis yang berbeda terhadap respons imun udang vaname (*Litopenaeus vannamei*).

1.3 Manfaat Penelitian

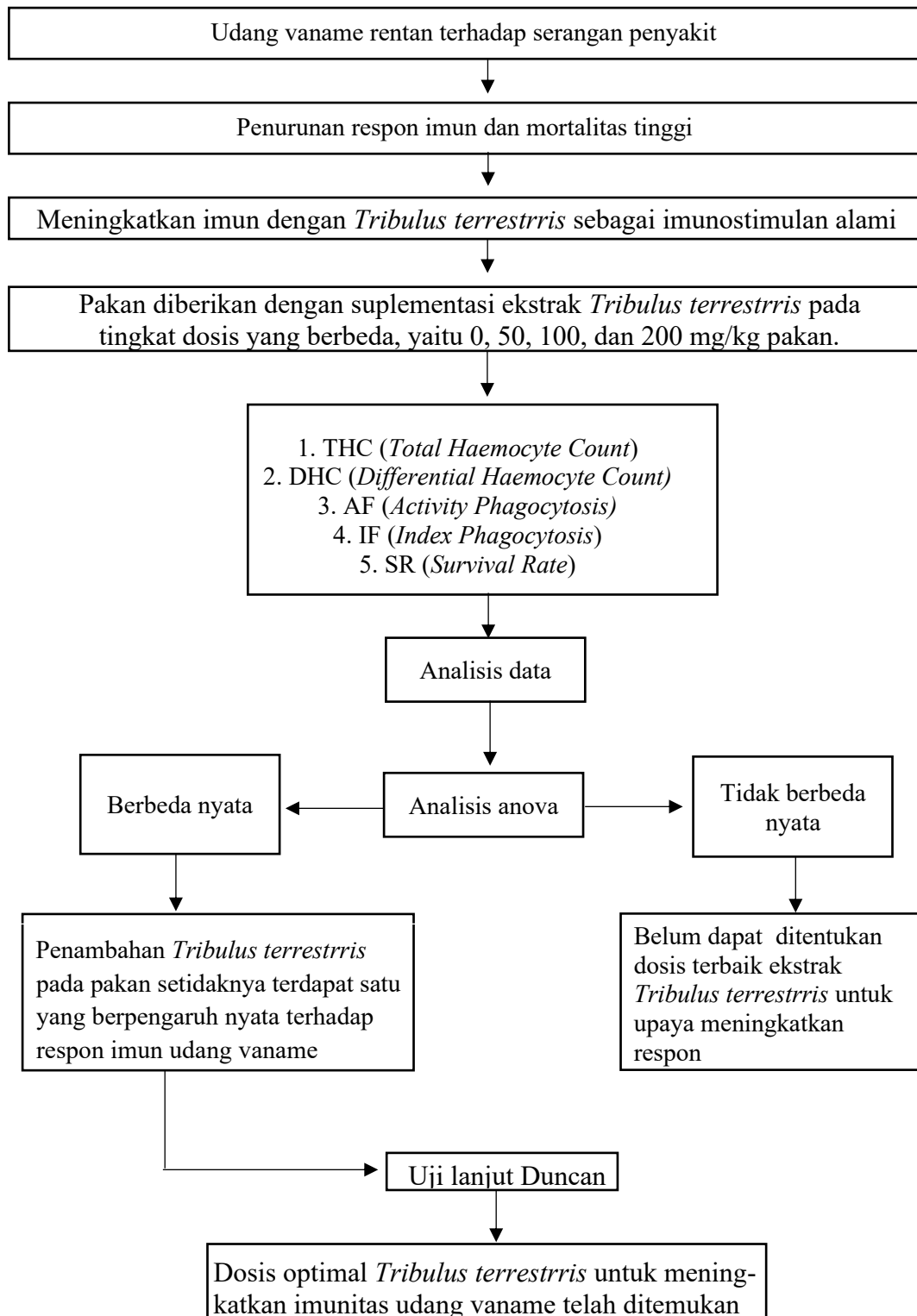
Penulis berharap hasil penelitian nantinya dapat memberi tambahan pengetahuan dan informasi mengenai pemanfaatan *Tribulus terrestris* sebagai imunostimulan pada udang vaname, serta menjadi referensi bagi penelitian lanjutan untuk memperdalam dan menyempurnakan kajian yang telah dilakukan.

1.4 Kerangka Penelitian

Masih banyaknya angka kematian disaat proses budi daya udang vaname (*Litopenaus vaname*) menandakan kurang berkualitaskannya udang yang dibudi daya, hal ini disebabkan belum optimalnya upaya dalam meningkatkan kualitas reproduksi udang vaname. Kurangnya ketersediaan udang yang baik dari segi kualitas maupun kuantitas menjadi permasalahan berkurangnya jumlah hasil panen. Produksi udang yang terus mengalami peningkatan tiap tahunnya terkadang membuat pembudidaya melupakan standar budi daya yang ada, salah satu contoh berlebihnya kepadatan tebar yang menyebabkan banyaknya udang stres. Kondisi stres dapat menyebabkan penurunan kemampuan sistem imun pada udang. Ketika sistem pertahanan tubuh melemah, risiko infeksi oleh berbagai agen patogen akan meningkat. Salah satu bakteri yang memiliki tingkat virulensi tinggi dan sering menimbulkan kerugian pada kegiatan budidaya udang adalah *Vibrio parahaemolyticus*.

Vibrio parahaemolyticus adalah patogen utama dalam budidaya udang karena mampu menginfeksi organ hepatopankreas dan memicu terjadinya *Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease* (AHPND). Infeksi penyakit tersebut umumnya ditandai dengan berbagai gejala klinis, antara lain penurunan aktivitas, cangkang yang menjadi lebih lunak, perubahan warna otot menjadi pucat atau keputihan, saluran pencernaan yang kosong, pertumbuhan yang terhambat, serta kondisi hepatopankreas yang mengalami atrofi dan tampak pucat dengan adanya garis-garis berwarna gelap. Untuk mengurangi risiko infeksi dan meningkatkan ketahanan tubuh udang upaya yang dapat digunakan yaitu suplementasi imunostimulan ke dalam pakan. Dalam hal ini, ekstrak *Tribulus terrestris* berpotensi digunakan sebagai sumber senyawa bioaktif alami yang dapat mendukung sistem pertahanan tubuh udang vaname.

Kerangka pikir penelitian diilustrasikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Kerangka Pikir Penelitian

1.5 Hipotesis Penelitian

Hipotesis pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. THC (*Total Haemocyte Count*)

H₀; semua $\tau_i = 0$

Pemberian ekstrak *Tribulus terrestris* dengan dosis berbeda tidak berpengaruh nyata terhadap *Total Haemocyte Count* udang vaname.

H₁; minimal ada satu $\tau_i \neq 0$

Minimal satu dosis ekstrak *Tribulus terrestris* berpengaruh nyata terhadap *Total Haemocyte Count* udang vaname.

2. DHC (*Differential Haemocyte Count*)

H₀; semua $\tau_i = 0$

Pemberian ekstrak *Tribulus terrestris* dengan dosis berbeda tidak berpengaruh nyata terhadap *Differential Haemocyte Count* udang vaname.

H₁; minimal ada satu $\tau_i \neq 0$

Minimal satu dosis ekstrak *Tribulus terrestris* berpengaruh nyata terhadap *Differential Haemocyte Count* udang vaname.

3. AF/IF (Aktivitas Fagositosis/Indeks Fagositosis)

H₀; semua $\tau_i = 0$

Pemberian ekstrak *Tribulus terrestris* dengan dosis berbeda tidak berpengaruh nyata terhadap AF/IF (Aktivitas Fagositosis/Indeks Fagositosis) udang vaname

H₁; minimal ada satu $\tau_i \neq 0$

Minimal satu dosis ekstrak *Tribulus terrestris* berpengaruh nyata terhadap AF/IF (Aktivitas Fagositosis/Indeks Fagositosis) udang vaname

4. SR (*Survival Rate*)

H₀; semua $\tau_i = 0$

Pemberian ekstrak *Tribulus terrestris* dengan dosis berbeda tidak berpengaruh nyata terhadap *Survival Rate* udang vaname

H₁; minimal ada satu $\tau_i \neq 0$

Minimal satu dosis ekstrak *Tribulus terrestris* berpengaruh nyata terhadap *Survival Rate* udang vaname

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Morfologi *Tribulus terrestris*

Menurut United States Department of Agriculture *Plant Database* (2014) klasifikasi dari *Tribulus terrestris* dapat dilihat seperti dibawah.

| | |
|------------|------------------------------|
| Kingdom | : Plantae |
| Subkingdom | : Tracheobionta |
| Subdivisi | : Spermatophyta |
| Divisi | : Magnoliophyta |
| Kelas | : Magnoliopsida |
| Subkelas | : Rosidae |
| Ordo | : Sapindales |
| Famili | : Zygophyllaceae |
| Genus | : <i>Tribulus L.</i> |
| Spesies | : <i>Tribulus terrestris</i> |

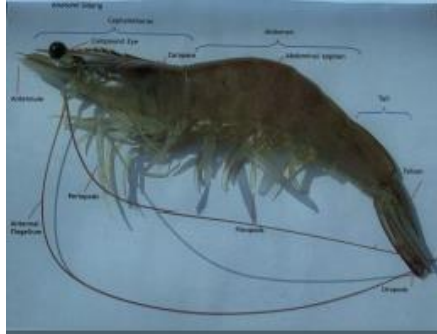
Tribulus terrestris merupakan tanaman herbal menjalar yang tumbuh di daerah tropis dan subtropis, meliputi Eropa Selatan, Asia Selatan, Afrika, dan Australia (Samanhudi et al., 2018). Panjang batang *Tribulus terrestris* mencapai sekitar 2 m dan dapat dicirikan dengan daun majemuk menyirip, bunga berwarna kuning berukuran kecil serta buah berduri. Setiap segmen memiliki duri dengan ukuran yang berbeda sehingga menjadi salah satu karakteristik morfologi yang membedakan spesies ini dengan tanaman lain dalam famili Zygophyllaceae.

Dalam praktik budidaya, tanaman ini sering dikenal sebagai gulma yang tumbuh secara liar pada berbagai habitat, seperti padang rumput, pinggiran jalan, dan lahan yang tidak dimanfaatkan untuk produksi tanaman. Studi menggunakan analisis *Gas Chromatography-Mass Spectroskopi* (GC-MS) untuk ekstrak *Tribulus terrestris* mengungkapkan bahwa ekstrak tersebut mengandung banyak senyawa yang sebagian besar telah dikenal memiliki fungsi aktif biologis seperti flavonoid, glikosida flavonol, glikosida steroid, saponin steroid, saponin, furostanol, saponin furosteroid, sapogenin, glikosida furostanol, dan alkaloid (Choudhary et al., 2021). Berdasarkan Gaziansyah (2024), tanaman ini mengandung asam *p-coumaroylquinic* yang termasuk senyawa bioaktif dengan aktivitas antioksidan. Aktivitas tersebut berfungsi dalam menghambat aktivitas radikal bebas yang berpotensi menimbulkan kerusakan gangguan pada sel dan jaringan. Ștefănescu et al (2020) melaporkan bahwa kandungan saponin pada *Tribulus terrestris* berperan dalam meningkatkan kadar beberapa hormon yang berkaitan dengan fungsi reproduksi dan metabolisme, antara lain testosteron, *luteinizing hormone*, *dehydroepiandrosterone*, *dihydrotestosterone*, serta *dehydroepiandrosterone sulphate*. *Tribulus terrestris* sendiri telah beberapa kali digunakan dalam penelitian di dunia perikanan. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa *Tribulus terrestris* berpotensi meningkatkan sistem imun organisme akuatik. Rachma (2024) dan Azizah et al. (2024) melaporkan peningkatan respon imun pada ikan bawal bintang setelah pemberian ekstrak *Tribulus terrestris*. Selain itu, Saifulloh (2023) menunjukkan bahwa ekstrak tanaman ini juga berpengaruh terhadap keberhasilan sex reversal lobster air tawar. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, *Tribulus terrestris* memiliki potensi sebagai imunostimulan alami pada udang vaname. Namun, penelitian mengenai pengaruhnya terhadap respons imun udang yang diuji tantang bakteri *Vibrio parahaemolyticus* masih terbatas, sehingga penelitian ini perlu dilakukan.

2.2 Klasifikasi Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*)

Supono (2017) menjelaskan bahwa udang vaname awalnya diberi nama ilmiah *Penaeus vannamei* oleh Boone pada tahun 1931. Pada tahun 1997 Perez

Farfante dan Kensley mengusulkan perubahan genus menjadi *Litopenaeus*, sehingga nama ilmiah yang digunakan saat ini adalah *Litopenaeus vannamei*. Spesies ini dikenal dengan berbagai nama, antara lain *white leg shrimp* (Inggris), *crevette pattes blanches* (Prancis), dan *camarón patiblanco* (Spanyol) menurut FAO.



Gambar 2. *Litopenaeus vannamei*

Sumber : Supono,2017

Klasifikasi udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) dapat dilihat dibawah.

Filum : Arthropoda
 Kelas : Crustacea
 Subkelas : Malacostraca
 Seri : Eumalocastraca
 Ordo : Decapoda
 Subordo : Dandrobanchiata
 Famili : Penaeidea
 Genus : *Penaeus*
 Spesies : *Litopenaeus vannamei*

2.3 Morfologi Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*)

Budidaya udang vaname terus ditingkatkan untuk memenuhi permintaan pasar domestik dan internasional (Zaidy et al., 2021). Fase reproduksi optimal betina udang vaname *Litopenaeus vannamei* berdasarkan frekuensi pemijahan dan kualitas larva dicapai pada usia 12 bulan. Telur udang vaname berdiameter 0,26-0,29 mm. Sekitar 13 jam setelah pemijahan, mereka menetas menjadi larva

naupliar yang memakan kuning telurnya dan melewati enam subtahap (N1 hingga N6) sebelum tumbuh menjadi sekitar 0,46 mm, berubah menjadi zoea. Pada tahap ini, larva memakan fitoplankton dan melewati tiga subtahap (Z1 hingga Z3). Ketika mencapai ukuran sekitar 2,1 mm, larva ini berubah menjadi larva mysis, ketika udang mencapai tahap larva ini mereka lebih suka memakan rotifera, *Artemia* atau makanan buatan. Ukuran mysis mencapai 3,80 mm setelah melewati tiga subtahap (M1 hingga M3) dan berenang terbalik atau menahan tubuhnya dalam posisi vertikal dengan kepala di bawah. Pada tahap berikutnya, postlarva (PL1), udang yang panjangnya sekitar 4,2 mm ini memegang tubuhnya secara horizontal dan menjadi organisme bentik. Tahap ini berlanjut hingga hewan tersebut menyelesaikan perkembangan morfologinya dan menjadi remaja (Pedrazzani et al., 2023).

Perluasan dan intensifikasi praktik akuakultur telah membuat *Litopenaeus vannamei* sangat rentan terhadap berbagai penyakit. Banyaknya penyakit bakteri, jamur dan parasit yang muncul telah menimbulkan kerugian ekonomi yang signifikan pada industri udang. Salah satu penyakit yang muncul adalah penyakit acute hepatopancreas necrosis disease (AHPND), yang telah menyebar menyebar dengan cepat di seluruh wilayah budidaya *Litopenaeus vannamei* secara global sejak 2009. Penyakit ini menyebar cepat dengan mortalitas mencapai 80-90% dan menyebabkan penurunan produksi udang global produksi udang global. Udang AHPND menunjukkan ciri-ciri histopatologi yang khas, termasuk nekrotik yang luas dan terlepas sel epitel saluran hepatopankreas tanpa adanya bakteri kolonisasi (Hu et al., 2024). Dari uraian tersebut dapat disimpulkan bahwa udang vaname memiliki prospek ekonomi yang tinggi karena karakteristik pertumbuhannya yang cepat. Meskipun demikian, risiko serangan penyakit yang cukup tinggi menjadikan pengelolaan kesehatan sebagai aspek penting dalam keberhasilan budidaya.

2.4 Sistem Imun Pada Udang Vaname

Berbeda dengan vertebrata, udang mengandalkan sistem imun bawaan atau *innate immunity* sebagai mekanisme pertahanan utama terhadap patogen. Sistem ini bekerja melalui komponen humoral dan seluler tanpa melibatkan pembentukan

memori imunologis sehingga respons yang dihasilkan bersifat cepat namun tidak spesifik terhadap patogen tertentu. Faktor genetik dan lingkungan merupakan komponen utama yang berperan dalam menentukan respons kekebalan alami udang. Variasi pada kedua faktor tersebut dapat menimbulkan perbedaan tingkat ketahanan tubuh antarspesies, famili, maupun kondisi budidaya (Kurniawan et al., 2018). Sistem pertahanan udang meliputi hemosit dan aktivasi *propenoloxidase* yaitu enzim yang terlibat dalam produksi metabolit toksik yang membantu menghancurkan patogen. Sebagai salah satu komponen pertahanan seluler, hemosit berperan dalam melindungi tubuh udang dari infeksi dengan cara mensintesis serta mensekresikan protein mikrobisidal. Novriadi (2015) menjelaskan bahwa hemosit merupakan sistem pertahanan pertama pada udang dan invertebrata yang mampu menghilangkan partikel asing dalam hemolim melalui aktivitas fagositosis dan enkapsulasi.

Hemosit memiliki peranan utama dalam sistem pertahanan tubuh udang dengan menjalankan berbagai mekanisme imun, seperti fagositosis, enkapsulasi, dan pembentukan nodul. Fagositosis ialah proses dimana hemosit mengidentifikasi dan menelan patogen. Enkapsulasi yaitu teknik dimana hemosit membungkus patogen dengan membentuk lapisan di sekitarnya yang membantu dalam isolasi dan pengendalian infeksi, lalu ada formasi nodulasi yaitu pembentukan nodul untuk menampung patogen yang tidak dapat dihancurkan secara langsung. Udang mengandalkan sistem imun nonspesifik sebagai mekanisme pertahanan utama terhadap invasi mikroorganisme patogen. Sistem pertahanan bawaan tersebut bekerja dengan memberikan respons secara cepat terhadap agen infeksi. Menurut Surur (2018), efektivitas respons imun nonspesifik dapat dievaluasi melalui aktivitas fagositosis dan nilai *Total Haemocyte Count* (THC).

2.5 Imunostimulan

Untuk menekan risiko penyakit yang dapat menyebabkan penurunan hasil produksi, organisme budidaya perlu memperoleh dukungan sistem imun yang optimal. Pendekatan yang dapat diterapkan adalah dengan menambahkan imuno-

stimulan pada pakan, karena senyawa ini diketahui berperan dalam meningkatkan ketahanan tubuh terhadap infeksi. Kemampuan udang dalam melawan infeksi didukung oleh sistem imun nonspesifik yang berfungsi sebagai mekanisme pertahanan utama. Menurut Ridlo et al. (2014), hemosit menjadi komponen yang sangat penting dalam sistem ini karena terlibat dalam aktivitas fagositosis, enkapsulasi, dan nodulasi terhadap benda asing. Imunostimulan berperan dalam meningkatkan kemampuan sistem imun udang, termasuk aktivitas fagositosis dan respons pertahanan tubuh terhadap agen patogen. Menurut Wang et al. (2016), penerapan imunostimulan dalam budidaya dinilai lebih aman dibandingkan metode lainnya karena dapat mengurangi dampak negatif terhadap lingkungan dan menunjang praktik budidaya yang berkelanjutan. Dalam budidaya perikanan modern, penggunaan imunostimulan menjadi salah satu strategi preventif yang telah banyak diterapkan dalam meningkatkan ketahanan organisme budidaya terhadap infeksi. Berbeda dengan antibiotik yang bekerja secara langsung terhadap patogen, imunostimulan berfungsi mengoptimalkan mekanisme pertahanan terhadap penyakit dan menstimulan aktivitas sistem imun dalam penanganan infeksi penyakit agar dapat ditekan secara lebih berkelanjutan (Martinus et al., 2019).

Imunostimulan lebih banyak dipergunakan dalam strategi pencegahan dibandingkan pengobatan. Dengan demikian penerapannya tidak direkomendasikan pada kondisi ketika agen penyakit telah menginfeksi tubuh inang. Sistem imun bawaan udang mencakup berbagai mekanisme pertahanan, di antaranya sistem mikroba, aktivasi propenoloksidase (proPO), koagulasi, fagositosis, enkapsulasi, pembentukan bintil, senyawa oksigen reaktif, dan mobilisasi hemosit. Imunostimulan tidak menghasilkan respon spesifik pada antigen tertentu namun memberikan dampak terhadap respon yang mempercepat pengenalan dan eliminasi berbagai agen patogen dan partikel asing yang berasal dari beragam sumber (Kumar et al., 2023).

Penanganan penyakit akibat infeksi *Vibrio parahaemolyticus* pada udang sering kali dilakukan setelah gejala penyakit muncul. Padahal, upaya pencegahan dapat ditempuh dengan meningkatkan sistem imun organisme melalui pemberian pakan bernutrisi dan suplementasi imunostimulan. Berbagai bahan yang dapat

digunakan sebagai imunostimulan meliputi bakteri yang telah dimatikan, kompleks karbohidrat, ekstrak hewan, ekstrak tumbuhan, serta senyawa sintesis seperti oksitetrasiklin dan enrofloksasin. Menurut Kurniawan et al. (2018), imunostimulan mampu mengaktifasi sistem imun sehingga respons sel pertahanan tubuh terhadap infeksi menjadi lebih efektif.

Tingkat keberhasilan imunostimulan dalam meningkatkan respons imun dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti frekuensi pakan, dosis, dan metode aplikasi. Pemberian imunostimulan secara independen ataupun bersama vaksin, pemberian sebelum vaksinasi bertujuan untuk mengaktifasi sistem kekebalan tubuh sehingga respons terhadap antigen vaksin dapat berlangsung lebih efektif. Selain itu, variasi dosis yang diberikan akan menentukan tingkat kemanjuran dan efektivitas imunostimulan.

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

3.1.1 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada April–Mei 2026, meliputi tahap persiapan, pemeliharaan, pemberian perlakuan, dan pengumpulan data.

3.1.2 Tempat penelitian

Penelitian bertempat di Laboratorium Budidaya Perikanan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

3.2 Bahan dan Alat

3.2.1 Bahan

Bahan yang digunakan disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian

| No | Bahan yang digunakan | Konsentrasi | Merek | Fungsi |
|----|----------------------------|-------------|-------|-------------------------------|
| 1 | Udang vaname | 3600 ekor | PL 10 | Objek uji. |
| 2 | <i>Tribulus terrestris</i> | - | - | Bahan yang digunakan ekstrak. |
| 3 | Media TSA | - | Merck | Media kultur bakteri. |
| 4 | Media TSB | - | Merck | Media kultur bakteri. |
| 5 | Aquades | - | - | Pelarut bahan kimia. |
| 6 | Etanol | 90% | - | Larutan fiksatif histologi. |
| 7 | Alkohol | 70% | - | Sebagai antiseptik. |

| No | Bahan yang digunakan | Konsentrasi | Merek | Fungsi |
|----|---------------------------------------|-------------|--------|----------------------|
| 8 | Isolat <i>Vibrio parahaemolyticus</i> | - | - | Bakteri uji. |
| 9 | Pakan komersil | 10 kg | Fengli | Pakan buatan. |
| 10 | Formalin | 10% | - | Bahan pengawet. |
| 11 | Etanol | 96% | - | Bahan pelarut kimia. |

3.2.2 Alat

Alat - alat yang digunakan disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian

| No | Alat yang digunakan | Jumlah/Dimensi/Volume | Merek | Fungsi |
|----|---------------------|-----------------------|-----------|---|
| 1 | Kontainer | 40x30x30 cm | Lion star | Media pemeliharaan. |
| 2 | Pompa | 1 Unit | - | Alat untuk mensuplai kebutuhan oksigen. |
| 3 | Selang aerasi | 24 m | - | Pendukung aerasi. |
| 4 | Baskom | 4 Unit | - | Tempat pencampuran pakan. |
| 5 | Nampan | 4 Unit | - | Tempat pengeringan pakan. |
| 6 | Botol spray | 4 Unit | - | Menyemprotkan TT ke pakan. |
| 7 | <i>Autoclaf</i> | 24 L | Gea Y | Sterilisasi alat dan bahan |
| 8 | Timbangan analitik | Ketelitian 0,01 | OEM | Alat untuk mengukur bobot udang. |
| 9 | Botol sampel | 36 unit | - | Tempat menyimpan histologis udang. |
| 10 | pH meter | 1 unit | - | Alat untuk mengukur derajat keasaman. |
| 11 | Kamera | 1 unit | - | Untuk dokumentasi udang. |

| No | Alat yang digunakan | Jumlah/Dimensi/Volume | Merek | Fungsi |
|----|-------------------------|---------------------------|-------------------|--|
| 12 | <i>Petri dish</i> | 8 Unit | - | Sarana kultur bakteri. |
| 13 | <i>Haemocytometer</i> | 1 Unit | - | Alat hitung sel. |
| 14 | <i>Vacum evaporator</i> | 1 Unit | - | Menguapkan filtrat. |
| 15 | <i>Sentrifuge</i> | 1 Unit | - | Pemisah sel darah. |
| 16 | Preparat | 2 Unit | - | Meletakkan objek. |
| 17 | Tabung hematokrit | 2 Unit | - | Menghitung presentase sel darah merah. |
| 18 | Mikroskop | 1 Unit | Leica | Untuk mengamati sel darah. |
| 19 | Erlenmeyer | 2 Unit | PYRE X | Untuk mencampur cairan dan mencetak media. |
| 20 | Tabung reaksi | 2 Unit | Iwaki | Wadah reaksi kimia. |
| 21 | Gelas ukur | 100 ml | - | Mengukur cairan. |
| 22 | Jarum ose | 1 Unit | - | Memindah bakteri ke media kultur. |
| 23 | Bunsen | 1 Unit | - | Alat pembakar. |
| 24 | Hot plate | 1 Unit | SH-2 digital | Menghomogenkan larutan |
| 25 | Tabung EDTA K3 | 1 unit | - | Pemeriksaan darah. |
| 26 | Jaring | 5 m ² | - | Menutup kontainer. |
| 27 | Laminary flow | 1 unit ukuran 71x26x50 cm | Nu- aire | Meja kerja untuk kultur bakteri. |
| 28 | Vortex | 200-2500 rpm | Stuart scienti | Alat pencampur larutan. |

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang

terdiri atas 4 kelompok perlakuan, dengan setiap kelompok perlakuan diulang sebanyak 3 kali untuk meningkatkan ketelitian hasil pengamatan. Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri atas:

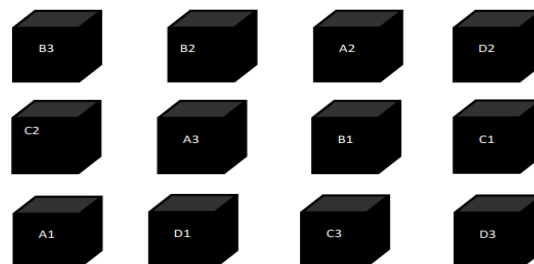
Perlakuan A (kontrol): pakan tanpa penambahan ekstrak *Tribulus terrestris* (0 mg/kg pakan).

Perlakuan B: pakan yang disuplementasi ekstrak *Tribulus terrestris* sebanyak 50 mg/kg pakan.

Perlakuan C: pakan yang disuplementasi ekstrak *Tribulus terrestris* sebanyak 100 mg/kg pakan.

Perlakuan D: pakan yang disuplementasi ekstrak *Tribulus terrestris* sebanyak 200 mg/kg pakan.

Layout wadah pemeliharaan yang digunakan dalam penelitian ini diilustrasikan pada Gambar 3



n : 20 ekor/kontainer

Gambar 3. Letak penempatan perlakuan wadah udang uji pada penelitian

Wadah penelitian disusun menggunakan Rancangan acak lengkap dengan empat taraf perlakuan, yaitu A (0 mg/kg pakan), B (50 mg/kg pakan), C (100 mg/kg pakan), dan D (200 mg/kg pakan). Masing-masing perlakuan memiliki tiga ulangan sehingga total unit percobaan yang digunakan berjumlah 12. Perlakuan ditempatkan secara acak pada wadah pemeliharaan untuk menghindari pengaruh faktor lingkungan yang tidak diinginkan terhadap hasil penelitian. Mengacu pada gambar tata letak, susunan wadah pemeliharaan terdiri atas tiga baris dan empat kolom. Baris pertama ditempati oleh wadah B3, B2, A2, dan D2. Baris kedua ditempati oleh wadah C2, A3, B1, dan C1. Baris ketiga ditempati oleh wadah A1, D1, C3, dan D3. Penempatan wadah secara acak bertujuan untuk meminimalkan pengaruh perbedaan kondisi lingkungan pada masing-masing unit percobaan,

sehingga variasi hasil yang diperoleh lebih mencerminkan efek perlakuan yang diuji.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pembuatan ekstrak

Ekstrak *Tribulus terrestris* dibuat dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 90%. Siapkan 100 g bubuk *Tribulus terrestris* sesuai dosis yang digunakan lalu masukkan ke dalam erlenmeyer dan dicampur dengan etanol sebagai pelarut. Hasil campuran tersebut kemudian dihomogenkan menggunakan *hot plate* di suhu 80°C selama 2 jam untuk membantu proses ekstraksi senyawa aktif. Ekstrak didinginkan lalu disaring menggunakan kertas saring untuk mendapatkan filtrat. Filtrat dikonsentrasikan dengan evaporator vakum rotari pada 85 rpm dengan suhu 45°C mengacu pada (Do et al., 2013; Sasikumar et al., 2014).

3.4.2 Persiapan Wadah Uji

Sebanyak 12 kontainer digunakan sebagai media pemeliharaan dalam penelitian ini. Seluruh wadah terlebih dahulu dicuci dan dikeringkan guna memastikan kondisi wadah bebas dari kontaminan yang berpotensi memengaruhi hasil penelitian. Selanjutnya isi kontainer dengan air laut volume 35 liter dan ditambahkan *humus star* yang berfungsi sebagai *water conditioner* untuk menjaga kualitas lingkungan pemeliharaan. Lalu aerasi dipasang pada bagian tengah kontainer dengan menyesuaikan kebutuhan oksigen udang. Wadah pemeliharaan diberi label guna membedakan perlakuan yang digunakan pada penelitian. Wadah harus aman dan jauh dari sumber kontaminasi guna meminimalkan kegagalan penelitian (Effendi et al., 2021).

3.4.3 Persiapan Udang Uji

Udang uji berupa benur vaname PL 10 yang diperoleh dari hatchery milik

Bapak Dwi Mulyadi di Kecamatan Kalianda, Lampung Selatan. Udang uji memiliki bobot rata-rata 0,02 gram per ekor dan panjang 7-10 mm. Sebelum memindahkan benur pada wadah pemeliharaan yang diberikan perlakuan, terlebih dahulu melakukan aklimatisasi pada benur vaname agar dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan pemeliharaan dalam waktu 5 hari. Pemeliharaan udang vaname dilakukan selama 20 hari di dalam kontainer. Tiap kontainer pemeliharaan memuat 300 ekor udang vaname dengan volume 35 liter (Wasiolesky et al., 2006).

3.4.4 Pencampuran Pakan

Dalam penelitian ini udang uji diberi pakan komersial Fengli yang memiliki kandungan protein sebesar 28–30 %. Ekstrak *Tribulus terrestris* dicampurkan ke dalam pakan sesuai dosis 0, 50, 100, dan 200 mg/kg (Matter et al., 2024). Agar pakan tidak mudah larut dalam air ekstrak *Tribulus terrestris* terlebih dahulu dilarutkan menggunakan *dimethyl sulfoxide* (DMSO) 100 ml sebelum dicampurkan ke dalam pakan buatan. DMSO digunakan sebagai pelarut sekaligus carrier untuk membantu ekstrak tercampur secara homogen dan melekat pada pakan. Setelah larutan perlakuan disiapkan, larutan tersebut disemprotkan secara merata ke permukaan pakan dan dikeringkan pada suhu ruang. Pakan yang telah melalui proses pengeringan kemudian disimpan pada suhu -20°C dalam wadah yang berbeda untuk setiap perlakuan serta diberi label guna memudahkan identifikasi selama penelitian.

3.4.5 Pemeliharaan Udang

Udang uji dipelihara dalam kontainer selama 15 hari, sebelum perlakuan udang uji dipuaskan selama satu hari agar nantinya udang uji menjadi lebih konsumtif selama proses pemberian pakan. Benur diberi pakan 8–12 kali per hari atau setiap 2–3 jam (Zainuddin et al., 2019). Frekuensi pemberian pakan pada udang umumnya disesuaikan dengan umur dan pertumbuhannya selama masa pemeliharaan. Seiring meningkatnya ukuran tubuh dan lamanya periode budidaya,

frekuensi pemberian pakan dapat dikurangi hingga maksimum enam kali per hari. Pada fase awal pemeliharaan, khususnya umur 1–15 hari, pakan biasanya diberikan sebanyak 3–5 kali setiap hari (Shilman et al., 2023). Pakan diberikan empat kali sehari pada pukul 07.00, 11.00, 15.00, dan 19.00 WIB.

3.5 Parameter Penelitian

3.5.1 *Total Haemocyte Count (THC)*

Hemolim diperoleh dengan menggerus 15–20 ekor benur menggunakan mortar. Hasil gerusan kemudian diambil menggunakan syringe dan dipindahkan ke dalam mikrotube (Ardiansyah et al., 2023). Sebanyak 0,1 mL sampel hemolim yang telah homogen dengan larutan antikoagulan dimasukkan ke dalam kamar hitung hemositometer dan diberi penutup berupa kaca. Sampel diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 40× untuk memperoleh data jumlah hemosit pada sampel. Hasil pengamatan kemudian dicatat dan digunakan untuk menghitung nilai *Total Haemocyte Count (THC)* berdasarkan metode yang dikemukakan oleh Jannah (2018).

Rumus perhitungan THC:

$$\text{THC} = \frac{\varepsilon \text{ sel teramati}}{\varepsilon \text{ kotak diamati}} \times 25 \times \frac{1}{\text{vol Haemocytometer}} \times \text{FP}$$

Keterangan:

FP : Faktor pengencer

3.5.2 *Differential Haemocyte Count (DHC)*

Pengamatan DHC dilakukan dengan meneteskan 0,1 mL hemolim ke gelas objek, dibuat preparat ulas, dikeringkan, lalu difiksasi dengan metanol 100% selama 10 menit. Usai difiksasi dengan metanol 100%, preparat dibiarkan mengering di udara sebelum diwarnai dengan larutan Giemsa 10% selama 15 menit. Setelah preparasi

selesai, preparat dicuci menggunakan air mengalir selama 30 detik, sampel dibiarkan mengering pada suhu ruang. Preparat diamati di bawah mikroskop cahaya perbesaran 40x untuk mengklasifikasikan hemosit menjadi sel hialin, semi granular, dan granular (Rahayu, 2018).

Rumus perhitungan DHC:

$$\text{Jenis sel haemocyte (\%)} = \frac{\text{Jumlah tiap jenis sel haemocyte (Hialin)}}{\text{Total haemocyte}} \times 100$$

3.5.3 Aktivitas dan Indeks Fagositosis

Sebanyak 20 μL hemolim dicampurkan dengan 20 μL PBS pada mikroplat untuk analisis aktivitas dan indeks fagositosis. Campuran tersebut kemudian diberi suspensi bakteri *Vibrio* dengan konsentrasi 10^6 dan diinkubasi selama 20 menit agar proses fagositosis dapat berlangsung. 10 μl hemolim diteteskan ke kaca preparat lalu difiksasi dengan methanol 70%. Preparat diwarnai dengan Giemsa 10% selama 20 menit, dibilas dengan air, dikeringkan setelahnya diamati dan didokumentasikan di bawah mikroskop. Perhitungan aktivitas fagositosis dilakukan berdasarkan jumlah sel yang memperlihatkan kemampuan menelan atau mengikat partikel asing. Data hasil pengamatan tersebut kemudian dicatat untuk analisis lebih lanjut (Suleman et al., 2019).

$$\text{AF} = \frac{\text{Jumlah sel fagosit}}{\text{Jumlah sel yang diamati}} \times 100\%$$

$$\text{IF} = \frac{\text{Jumlah bakteri yang difagosit}}{\text{Jumlah sel fagosit}}$$

3.5.4 Tingkat Kelangsungan Hidup (*Survival Rate*)

Nilai tingkat kelangsungan hidup dihitung menggunakan rumus Effendi (2004) berikut:

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

Keterangan:

Nt :Jumlah udang hidup diakhir pemeliharaan (ekor)

N0 :Jumlah udang hidup diawal pemeliharaan (ekor)

3.6 Kualitas Air

Kualitas air merupakan faktor penting dalam budidaya udang. Parameter yang diamati meliputi suhu, pH, dan oksigen terlarut yang diukur setiap pagi atau sore hari sebagai data pendukung penelitian. Baku mutu air tambak mencakup parameter fisika berupa suhu optimal 28–32°C dengan batas toleransi 26-35°C, salinitas optimal 15-25 ppt dengan batas toleransi 0-35 ppt sedangkan parameter kimia, seperti: pH 7,5-8 dengan batas toleransi 7-8,5 (WWF Indonesia, 2014). Pergantian air dan penyiponan dilakukan setiap tiga hari sekali sebanyak 10% untuk menjaga kebersihan air.

3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dari pengamatan gejala klinis dan kualitas air dianalisis secara deskriptif untuk memberikan gambaran mengenai kondisi organisme dan media pemeliharaan selama penelitian. Sementara itu, data kuantitatif yang meliputi tingkat kelangsungan hidup (*Survival Rate*), aktivitas fagositosis, indeks fagositosis, serta *total hemosit count* dianalisis menggunakan Microsoft Excel 2021. Data kemudian dianalisis secara statistik menggunakan ANOVA. Jika terdapat perbedaan signifikan antarperlakuan, dilakukan uji lanjut Duncan pada taraf kepercayaan 95% menggunakan SPSS Statistics 20.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Simpulan dari penelitian ini menunjukkan bahwa penambahan ekstrak *Tribulus terrestris* ke dalam pakan memberikan pengaruh nyata terhadap respons imun nonspesifik udang vaname berupa THC, DHC, AF dan tingkat kelangsungan hidup. Perlakuan B (50 mg/kg pakan) merupakan dosis paling optimal dengan nilai tertinggi pada parameter THC, sel granular (DHC), aktivitas fagositosis (AF), dan SR..

5.2 Saran

Saran yang diberikan oleh penulis untuk penelitian selanjutnya adalah :

1. Penelitian selanjutnya disarankan menguji rentang dosis ekstrak *Tribulus terrestris* yang lebih luas atau lebih spesifik di sekitar dosis terbaik, guna memperoleh dosis optimum yang lebih akurat dalam meningkatkan respon imun udang vaname.
2. Perlu penelitian lanjutan dengan durasi pemeliharaan yang lebih panjang, sehingga dapat diketahui efek jangka panjang pemberian ekstrak *Tribulus terrestris* terhadap pertumbuhan, kesehatan, dan ketahanan udang.
3. Disarankan untuk menambahkan parameter lain seperti pertum-

buhan (SGR, FCR) dan analisis histopatologi (*hepatopankreas*) agar hasil penelitian lebih komprehensif.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdi, R., Setyowati, D. N., & Mukhlis, A. (2022). Pengaruh penambahan ekstrak daun jeruju (*Acanthus ilicifolius*) dengan dosis berbeda pada pakan terhadap sistem imun udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang diinfeksi *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal Perikanan*, 12 (1), 33–44. <https://doi.org/10.29303/jp.v12i1.271>
- Abraham, T.J. & Sasmal. D. (2009). Influence of Salinity and Management Practices on the Shrimp (*Penaeus monodon*) Production and Bacterial Counts of Modified Extensive Brackishwater Ponds. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 9 (2), 91-98
- Amin, M., Liliyanti, M. A., Nufus, N. H., & Ali, M. (2020). Screening of anti-vibrio producing lactic acid bacteria originated from aquatic animals as probiotic candidates. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 441, 012092. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/441/1/012092>
- Apriliani, M., Sarjito, & Haditomo, A. H. C. (2016). Keanekaragaman agensia penyebab vibriosis pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) dan sensitivitasnya terhadap antibiotik. *Journal of Aquaculture Management and Technology*, 5(1), 98–107. <https://doi.org/10.31093/joas.v4i2.75>
- Azizah, A., Sarida, M., Adiputra, Y. T., Susanto, G.N., & Setyawan, A. (2024). Profil hematologi calon induk bawal bintang (*Trachinotus blochii*) dengan induksi hormonal dan fitobiotik melalui pakan. *Jurnal Ilmiah Program Studi Perairan*, 6(1). <https://doi.org/10.51179/jipsbp.v6i1.2521>
- Boyd, C. E., & Phu, T. Q. (2018). Environmental factors and acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) in shrimp ponds in Vietnam: Practices for reducing risks. *Asian Fisheries Science*, 31(S1), 121–136. <https://doi.org/10.33997/j.afs.2018.31.S1.009>
- Chau, N. T. T., Hieu, N. X., Thuan, L. T. N., Matsumoto, M., & Miyajima, C. (2011). Identification and characterization of *Pseudomonas* sp. P9

antagonistic to pathogenic *Vibrio* spp. isolated from shrimp culture pond in Thua Thien Hue, Vietnam. *Journal of the Faculty of Agriculture, Kyushu University*, 56(1), 23–31. <https://doi.org/10.5109/19533>

- Chhatre, S., Nesari, T., Somani, G., Kanchan, D., & Sathaye, S. (2014). Phytopharmacology overview of *Tribulus terrestris*. *Pharmacognosy Reviews*, 8(15), 45–51. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.125530>
- Choudhary, S., Kaurav, H., & Chaudhary, G. (2021). Gokhru (*Tribulus terrestris* and *Pedaliium murex*): Medicinal importance of chota gokhru and bada gokhru in ayurveda and modern science. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 14(6), 6–13. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2021.v14i6.41366>
- Damongilala, L. J. (2009). Kadar air dan total bakteri pada ikan roa (*Hemirhampus* sp.) asap dengan metode pencucian bahan baku berbeda. *Jurnal Ilmiah Sains*, 9(2), 190–198
- Darwantin, K., & Romziah, S. (2016). Efisiensi Penggunaan Imunostimulan dalam Pakan Terhadap Laju Pertumbuhan, Respon Imun dan Kelulushidupan Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Biosains*, 18(2). <https://doi.org/10.20473/jbp.v18i2.2016.123-139>
- Dimitrova, Z. (2012). Antioxidant activity of *Tribulus terrestris*: A natural product in infertility therapy. *Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(4), 508–511
- Do, J., Choi, S., Choi, J. & Hyun, J.S. (2013). Effects and mechanism of action of a *Tribulus terrestris* extract on penile erection. *Korean Journal of Urology*, 54(3), pp.183-188. <https://doi.org/10.4111/kju.2013.54.3.183>
- Effendi, I. (2004). *Pengantar akuakultur*. Penebar Swadaya.
- Effendi, I., Simanjuntak, A. M., & Sahibuddin, M. Q. (2021). *Standard operasional dan prosedur (SOP) budidaya udang putih (Litopenaeus vannamei) Kepulauan Seribu*. Pusat Kajian Sumberdaya Pesisir dan Lautan.
- Feliatra, F., Zainuri, M., & Yoswaty, D. (2014). Pathogenitas bakteri *Vibrio* sp. terhadap udang windu (*Penaeus monodon*). *Jurnal Sungkai*, 2(1), 23–36. <https://doi.org/10.30606/js.v2i1.466>

- Fuady M.F., M.N. Supardjo & Haeruddin. (2013). Pengaruh Pengelolaan Kualitas Air terhadap Tingkat Kelulushidupan dan Laju Pertumbuhan Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) di PT. Indokor Bangun Desa, Yogyakarta. *Diponegoro Journal of Maquares*. 2(4):155-162
- Gaziansyah, M. P., Anggraeni, J. W., & Anisa, N. D. (2024). Efek rujak polo (*Tribulus terrestris*) dan ginseng India (*Withania somnifera*) sebagai terapi mutakhir terhadap infertilitas pria. *Journal Majority*, 8(2), 215–220. <https://doi.org/10.37287/jppp.v6i5.425>
- Jannah, M., Junaidi, M., Setyowati, D. N., & Azhar, F. (2018). Pengaruh pemberian *Lactobacillus* sp. dengan dosis yang berbeda terhadap sistem imun udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang diinfeksi bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. *Jurnal Kelautan*, 11(2), 140–151. <https://doi.org/10.21107/jk.v11i2.3980>
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. (2026). Produksi perikanan. Statistik KKP Satu Data. Jakarta. https://statistik.kkp.go.id/home.php?m=prodikan_prov&i=2
- Kumar, S., Verma, A. K., Singh, S. P., & Awasthi, A. (2023). Immunostimulants for shrimp aquaculture: paving pathway towards shrimp sustainability. *Environmental science and pollution research international*, 30(10). <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2010.00388.x>
- Kurniawan, M. H., Putri, B., & Elisdiana, Y. (2018). Efektivitas pemberian bakteri *Bacillus polymyxa* melalui pakan terhadap imunitas non spesifik udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*, 7(1), 739–750. <https://doi.org/10.23960/jrtbp.v7i1.p739-750>
- Kusmarwati, A., Yennie, Y., & Indriati, N. (2017). Resistensi antibiotik pada *Vibrio parahaemolyticus* dari udang vaname asal pantai utara Jawa untuk pasar ekspor. *JPB Kelautan dan Perikanan*, 12(2), 91–106. <https://doi.org/10.15578/jpbkp.v12i2.352>
- Martinus, A. T., Dachlan, A. S., & Halim, E. (2019). Penggunaan imunostimulan dalam bidang dermatovenerologi. *Media Dermato Venereologica Indonesiana (MDVI)*, 46(2), 111–115. <https://doi.org/10.33820/mdvi.v46i2.65>
- Matter, A. F., Raslan, W. S., Soror, E. I., Khalil, E. K., Kadah, A., & Youssef, H.

- A. (2024). Comparable to 17 α -methyl testosterone, dietary supplements of *Tribulus terrestris* and *Mucuna pruriens* promote the development of mono-sex, all-male tilapia fry, growth, survival rate and sex-related genes (Amh, Sox9, Foxl2, Dmrt1). *BMC Veterinary Research*, 20, 326. <https://doi.org/10.1186/s12917-024-04162-0>
- Nadhif, M. (2016). Pengaruh pemberian probiotik pada pakan dalam berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan dan mortalitas udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) [Skripsi, Universitas Airlangga]. Repository Universitas Airlangga. Surabaya..
- Novriadi, R. (2015). Meneropong Sistem Kekebalan Tubuh Udang. *Jurnal Akuatekno*.
- Pedrazzani, A. S., Cozer, N., Quintiliano, M. H., Tavares, C. P. D. S., da Silva, U. A. T., & Ostrensky, A. (2023). Non-invasive methods for assessing the welfare of farmed white-leg shrimp (*Penaeus vaname*). *Animals (MDPI)*, 13(5), 807. <https://doi.org/10.3390/ani13050807>
- Praja, K. R., & Dwi, P. S. (2018). The infection of *Vibrio parahaemolyticus* in shrimp and human. *Oceana Biomedicina Journal*, 1(1), 44–58. <https://doi.org/10.30649/obj.v1i1.6>
- Prastianti, A. I. (2021). Faktor-faktor yang mempengaruhi produksi udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) di desa pantai Bahagia, Kecamatan Muara Gembong. [Skripsi, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah]. Repository UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Pratama, A. F., Tarsim & Susanti, O. (2018). Kajian Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleiferalam*) sebagai Immunostimulan untuk Meningkatkan Imunitas Non Spesifik Udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). [Skripsi, Universitas Lampung]. Repository Universitas Lampung. Lampung.
- Putri, A. Y. (2021). Nisbah kelamin dan performa budidaya nila (*Oreochromis niloticus*) dengan ekstrak biji tribulus (*Tribulus terrestris*) [Skripsi, Universitas Lampung]. Repository Universitas Lampung. Lampung.
- Rachma, N. M. (2024). Efektivitas Ekstrak *Tribulus terrestris* Untuk Meningkatkan Respon Imun Non-Spesifik Ikan Bawal Bintang (*Trachinotus blochii*) Terhadap Infeksi *Vibrio parahemolyticus*. [Skripsi, Universitas Lampung]. Repository Universitas Lampung. Lampung.

- Rahayu, M. (2018). Pengaruh pemberian bakteri *Bacillus coagulans* pada pakan terhadap imunitas nonspesifik udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). [Skripsi, Universitas Lampung]. Repository Universitas Lampung. Lampung.
- Ridlo, A., & Pramesti, R. (2014). Aplikasi ekstrak rumput laut sebagai agen imunostimulan sistem pertahanan non spesifik pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Ilmu Kelautan*, 14(3), 133–137. <https://doi.org/10.14710/ik.ijms.14.3.133-137>
- Rosmawaty, R., Rosidah., & Liviawaty, E. (2016). Pemanfaatan Ekstrak Kulit Jengkol dalam Pakan Ikan Untuk Meningkatkan Imunitas Benih Gurame (*Osphronemus gouramy*) terhadap Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Perikanan Kelautan*, 7(1), 14–22. <https://jurnal.unpad.ac.id/jpk/issue/view/726/>
- Saifulloh, M. (2023). Studi Pengaruh Pemberian Ekstrak Rujak Polo *Tribulus terrestris* Pada Juvenil Lobster Air Tawar *Cherax quadricarinatus* Melalui Pakan: Persentase Jantan, Performa Pertumbuhan dan Tingkat Kelangsungan Hidup. [Skripsi, Universitas Lampung]. Repository Universitas Lampung. Lampung.
- Samanhudi, Y. A., Pujiasmanto, B., Widijanto, H., & Septyaningsih, W. N. (2018). Respon pertumbuhan *Tribulus terrestris* terhadap cekaman air dan naungan. *National Seminar*, 2(1), 296–303. <https://doi.org/10.20935/AcadEnvSci7463>
- Sasikumar, S., Eagappan, K. & Brindha, D. (2014). Qualitative Characterization of Solvent and Cooked Extracts of *Tribulus terrestris* L. Fruit. *European Journal of Medicinal Plants*, 4(8), pp.907-919. <https://doi.org/10.9734/EJMP/2014/8091>
- Shilman, M. I., Suparmin, S., Irmawan, F., & Budiman, B. (2023). Efisiensi pemberian pakan pada usaha pembesaran udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) pola tambak intensif Pusat Unggulan Teknologi (PUT) Politeknik Negeri Pontianak di Mempawah. *Manfish Journal*, 4(1), 19–26. <https://doi.org/10.29406/jr.v1i1i2.4820>
- Ștefănescu, R., TeroVescan, A., Negroiu, A., Aurică, E., & Vari, C. E. (2020). A comprehensive review of the phytochemical, pharmacological, and toxicological properties of *Tribulus terrestris*. *Journal Biomolecules*, 10(5), 752. <https://doi.org/10.3390/biom10050752>

- Sugiani, D., Taukhid, T., Purwaningsih, U., & Lusiastuti, A. (2018). Vaksin kering beku sel utuh bakteri *Aeromonas hydrophila* untuk pencegahan penyakit motile *Aeromonas septicemia* pada ikan lele, nila, dan gurami. *Jurnal Riset Akuakultur*, 13(2), 159–167. <https://doi.org/10.15578/jra.13.2.2018.159-167>
- Suleman, Sri, A., & Yuniarti, A. (2019). Potensi ekstrak kasar *Ulva lactuta* dalam meningkatkan total haemocyte count (THC) dan aktivitas fagositosis pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Ilmu Perikanan*, 10(1). <https://doi.org/10.35316/jsapi.v10i1.230>
- Suparman, A., & Saptarini, N. M. (2019). Formulasi tablet imunostimulan ekstrak daun pepaya, herba meniran dan rimpang kunyit. *Jurnal Farmaka*, 17(2), 111–117. <https://doi.org/10.24198/jf.v17i2.21867>
- Supono. (2017). *Teknologi Produksi Udang. Plantaxia*, Yogyakarta. 163 hal.
- Surur, M. (2018). Pengaruh pemberian pakan tersuplementasi Ekstrak Sodium alginat terhadap respon imun udang vaname (*Litopenaeus vaname*). [Skripsi, Universitas Islam Nahdlatul Ulama Jepara]. Repository Universitas Islam Nahdlatul Ulama Jepara. Jawa Timur.
- Tran, L., Nunan, L., Redman, R. M., Mohny, L. L., Pantoja, C., Fitzsimmons, K., & Lightner, D. V. (2013). Determination of the infectious nature of the agent of acute hepatopancreatic necrosis syndrome affecting penaeid shrimp. *Diseases of Aquatic Organisms*, 105, 45–55. <https://doi.org/10.3354/dao02621>
- Wang, W., Sun, J., Liu, C., & Xue, Z. (2016). Review application of immunostimulants in aquaculture: Current knowledge and future perspective. *Journal of Aquaculture Research*, 34(1), 1–23. <http://doi.org/10.20546/ijcmas.2016.509.048>
- Wasiolesky, W., Jr., Atwood, H., Stokes, A., & Browdy, C. L. (2006). Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Jurnal Aquaculture*, 258(4), 396–403. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.04.030>
- WWF Indonesia. (2014). *Budidaya udang vaname (Litopenaeus vannamei) tambak semiintensif dengan pengolahan air limbah (IPAL)*. Seri Panduan

Perikanan Skala Kecil.

- Yilmaz, S., Ergun, S., Kaya, H., & Gurkan, M. (2014). Influence of *Tribulus terrestris* extract on the survival and histopathology of *Oreochromis mossambicus* (Peters, 1852) fry before and after *Streptococcus iniae* infection. *Journal of Applied Ichthyology*, 51(2), 1–7. <https://doi.org/10.1111/jai.12458>
- Yolanda, S., Wahjuningrum, D., & Nuryati, S. (2020). Respons imun dan kinerja pertumbuhan udang vaname *Litopenaeus vannamei* yang diberi meniran, jahe, dan kunyit serta kombinasinya. [Thesis, Institut Pertanian Bogor]. Repository IPB. Bogor.
- Zahra, A., Wulandari, R., & Yuliana, A. (2021). Pemberian ekstrak *Sargassum* sp. melalui pakan komersil terhadap nilai hematokrit dan diferensial leukosit pada ikan bawal bintang *Trachinotus blochii*. *Jurnal Intek Akuakultur*, 5(2), 36–49. <https://doi.org/10.31629/intek.v5i2.3092>
- Zaidy, A. B., Anggoro, A. D., & Kasmawijaya, A. (2021). Pengaruh penggunaan nanobubble dalam transportasi udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Akuatika Indonesia*, 6(2), 50–56. <https://doi.org/10.24198/jaki.v6i2.35723>
- Zainal, U., Kurniaji, A., Anton, Yunarty, Supryady, Hamka, M. S., & Saputra, H. K. (2023). Aplikasi berbagai jenis probiotik dan imunostimulan komersial pada budidaya udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) secara intensif di tambak plastik. *Jurnal Pengelolaan Sumberdaya Perairan*, 7(2), 73–74. <https://doi.org/10.36355/semahjpsp.v7i2.1235>
- Zainuddin, Z., Aslamyah, S., & Nur, K. (2019). The effect of dosage combination and feeding frequency on growth and survival rate of vaname shrimp juveniles in ponds. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 370, 012033. *IOP Publishing*. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/370/1/012033>