

**KAJIAN EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera Lam*) SEBAGAI
IMUNOSTIMULAN UNTUK MENINGKATKAN IMUNITAS NON
SPESIFIK UDANG VANNAMEI
(*Litopenaeus vannamei*)**

(Skripsi)

Oleh
ARBI FADJRI PRATAMA



**JURUSAN PERIKANAN DAN KELAUTAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2018**

ABSTRACT

THE STUDY OF MORINGA LEAVES EXTRACT (*Moringa oleifera Lam*) AS IMMUNOSTIMULANT TO INCREASE NON SPECIFIC IMMUNITY OF VANNAMEI SHRIMP (*Litopenaeus Vannamei*)

By

Arbi Fadjri Pratama

Shrimp is the main commodity in aquaculture industrialization program and the superior commodity export product. The impact from the increasing aquaculture is the decreasing of environmental so it causing a few diseases to the shrimps. Prevention and medical treatment can be done by giving an antibiotic and other chemical substances. However, long time treatment may cause negative effect to environmental and resistance toward pathogen. This research have a purpose to study the influence of moringa leaves toward non specific immunity of vannamei shrimp. This research was conducted in January-February 2018 with four treatments, namely treatment {A (0 mg/L moringa leaves extract), treatment B (20 mg/L moringa leaves extract), treatment C (30 mg/L moringa leaves extract) and treatment D (40 mg/L moringa leaves extract) }. The parameter used are the total of *hemocyte count*, fagositosis activity and fagositosis index. The result showed that moringa leaves extract as immunostimulant can increase non specific immunity response of vannamei shrimp and the best concentration in treatment D (40 mg/L moringa leaves extract).

Keywords: Moringa leaves extract, Immunostimulant, Non specific immunity, Vannamei shrimp

ABSTRAK

KAJIAN EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera* Lam) SEBAGAI IMUNOSTIMULAN UNTUK MENINGKATKAN IMUNITAS NON SPESIFIK UDANG VANNAMEI (*Litopenaeus vannamei*)

Oleh

Arbi Fadjri Pratama

Udang merupakan salah satu komoditas utama dalam program industrialisasi perikanan budidaya dan merupakan komoditas unggulan untuk ekspor produk perikanan budidaya. Dampak dari peningkatan budidaya tersebut yaitu kualitas lingkungan yang menurun sehingga menyebabkan timbul beberapa penyakit pada udang. Pencegahan dan pengobatan dapat dilakukan dengan antibiotik dan bahan kimia lainnya, namun dalam jangka waktu yang lama dapat menimbulkan efek negatif terhadap lingkungan dan resistensi terhadap patogen. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh ekstrak daun kelor terhadap imunitas non spesifik udang vannamei. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan januari-februari 2018 dengan menggunakan empat perlakuan yang diterapkan yaitu perlakuan A (0 mg/L ekstrak daun kelor), B (20 mg/L ekstrak daun kelor), C (30 mg/L ekstrak daun kelor) dan D (40 mg/L ekstrak daun kelor). Parameter yang diuji yaitu total *hemocyte count*, aktivitas fagositosis dan indeks fagositosis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun kelor sebagai imunostimulan dapat meningkatkan respon imun udang vannamei dan konsentrasi terbaik adalah perlakuan D (40 mg/L ekstrak daun kelor).

Kata kunci : *Ekstrak daun kelor, Immunostimulan, Immunitas non spesifik, Udang vannamei*

**KAJIAN EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera Lam*) SEBAGAI
IMUNOSTIMULAN UNTUK MENINGKATKAN IMUNITAS NON
SPESIFIK UDANG VANNAMEI
(*Litopenaeus vannamei*)**

Oleh

ARBI FADJRI PRATAMA

Skripsi

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

Pada

**Jurusan Perikanan dan Kelautan
Program Studi Budidaya Perairan
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2018**

Judul Skripsi : **KAJIAN EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera Lam*)
SEBAGAI IMUNOSTIMULAN UNTUK MENINGKATAKAN
IMUNITAS NON SPESIFIK UDANG VANNAMEI
(*Litopenaeus vannamei*)**


Nama Mahasiswa : **Arbi Fadjri Pratama**

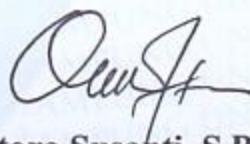
No. Pokok Mahasiswa : 1314111006

Program Studi : Budidaya Perairan


Fakultas : Pertanian




Tarsim, S.Pi., M.Si.
NIP 19761012 200112 1 001


Oktora Susanti, S.Pi., M.Si.
NIK 231511881001201

2. Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan


Ir. Siti Hudaidah, M.Sc.
NIP 19640215 199603 2 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

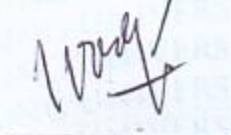
Ketua : **Tarsim, S.Pi., M.Si.**



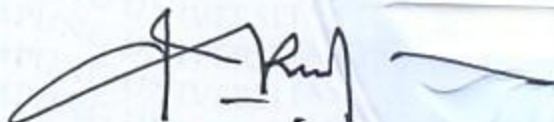
Sekretaris : **Oktora Susanti, S.Pi., M.Si.**



Penguji
Bukan Pembimbing : **Wardiyanto, S.Pi., M.P.**



2. Dekan Fakultas Pertanian



Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.
NIP 19611020 198603 1 002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **06 Agustus 2018**

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa :

1. Karya tulis saya, Skripsi/Laporan akhir ini, adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapat gelar akademik (Sarjana/Ahli Madya), baik di Universitas Lampung maupun di perguruan tinggi lainnya.
2. Karya tulis ini murni gagasan, rumusan dan penelitian saya sendiri, tanpa bantuan pihak lain, kecuali arahan tim pembimbing.
3. Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan dalam daftar pustaka.
4. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila dikemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh karena karya tulis ini, serta sanksi lainnya yang sesuai dengan norma yang berlaku di Perguruan Tinggi ini.

Bandar Lampung, Agustus 2018

Yang Membuat Pernyataan



Arbi Fadjri Pratama

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bandar Lampung, pada tanggal 10 September 1995 sebagai anak pertama dari pasangan Bapak Fahrizal dan Ibu Hamidah. Penulis memulai pendidikan formal dari Taman Kanak-kanak (TK) Madani diselesaikan pada tahun 2001, Sekolah Dasar Negeri (SDN) 2 Rawa Laut diselesaikan tahun 2007, Sekolah Menengah Pertama (SMPN) 4 Bandar Lampung diselesaikan tahun 2010, dan Madrasah Aliyah Negeri (MAN) 1 Bandar Lampung diselesaikan pada tahun 2013. Penulis kemudian melanjutkan pendidikan ke jenjang S1 di Program Studi Budidaya Perairan Jurusan Perikanan dan Kelautan Fakultas Pertanian (FP) Universitas Lampung pada tahun 2013 melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) dan telah menyelesaikan studinya pada tahun 2018.

Selama menjadi mahasiswa penulis aktif di organisasi Himpunan Mahasiswa Budidaya Perairan UNILA (HIDRILA) Fakultas Pertanian sebagai anggota bidang pengkaderan pada periode 2015/2016 dan 2016/2017, sebagai Sekretaris Umum Dewan Perwakilan Mahasiswa (DPM) Fakultas Pertanian periode 2016/2017, sebagai Sekretaris Umum Himpunan Mahasiswa Islam (HMI) Komisariat Pertanian periode 2017/2018.

Penulis melaksanakan kegiatan Kuliah Kerja Nyata (KKN) selama 40 hari di Desa Bumi Nabung Timur, Kecamatan Bumi Nabung, Kabupaten Lampung Tengah pada tahun 2017. Penulis melaksanakan Praktik Umum di PT. Central Pertiwi Bahari (PT. CPB), Tulang Bawang dengan judul “**ANALISIS PLANKTON**

PADA BUDIDAYA UDANG PUTIH (*Litopenaeus vannamei*) DI PT CENTRAL PERTIWI BAHARI TULANG BAWANG ” pada tahun 2016.

Penulis pernah menjadi asisten praktikum pada mata kuliah Oceanografi pada tahun 2014/2015 dan 2015/2016, mata kuliah Ekologi Perairan pada tahun 2015/2016, mata kuliah Plankton pada tahun 2015/2016, mata kuliah Genetika Akuatik pada tahun 2015/2016, mata kuliah Pesisir Perikanan pada tahun 2016/2017, mata kuliah Pengabdian Masyarakat pada tahun 2016/2017, dan mata kuliah Pengenalan Masyarakat Perikanan pada tahun 2017/2018. Penulis melaksanakan penelitian akhir di Laboratorium Budidaya Perikanan Fakultas Pertanian Universitas Lampung dengan judul “**Kajian Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera Lam*) sebagai Imunostimulan untuk Meningkatkan Imunitas Non Spesifik udang *Vannamei* (*Litopenaeus vannamei*)**” pada tahun 2018.

*Dengan rasa syukur kepada Allah
SWT. Kupersembahkan karya ini untuk
keduaorang tuaku Ayah dan Bunda
tersayang yang selalu mendoakan dan
menyemangati*

*Keluarga besar ku yang selalu
memberikan motivasi dan semangat
untuk terus berjuang*

*Para sahabat yang memberikan
motivasi dan dorongan tiada henti*

*"Ingatsah Hanya Dengan Mengingat Allah Hati
Menjadi Tenteram" (Qs. Ar-Ra'd: 28)*

*"Berpikirlah Pofitif Tidak Perduli Seberapa Keras
Kehidupanmu"*

(Ali bin Abi Thalib)

*"Jika Kamu Tidak Dapat Menahan Lelahnya Belajar
Maka Kamu Harus Sanggup Menahan Perihnya
Kebodohan"*

(Al-Imam Asy-Syafi'i)

"Lingkunganmu Adalah Hasil Dari Pemikiranmu"

(Arbi Fadjri Pratama)

SANWACANA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Kajian Ekstrak Daun Kelor (*Moringa Oleifera Lam*) sebagai Immnostimulan untuk Meningkatkan Imunitas Non Spesifik Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*)**” yang merupakan salah satu syarat untuk memperoleh Sarjana Perikanan (S.Pi.) pada Jurusan Perikanan dan Kelautan, Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis banyak mendapat bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
2. Kedua orang tua Ayahanda Fahrizal, Ibunda Hamidah, Adinda Farhan Arif dan Arizky Syaifullah serta keluarga besar yang telah mencurahkan kasih sayang, doa, dukungan, dan perhatian kepada penulis sehingga dapat tetap berjuang sampai detik ini.
3. Ibu Ir. Siti Hudaidah, M.Sc., selaku Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
4. Bapak Tarsim, S.Pi., M.Si., selaku Pembimbing I atas kesediaan meluangkan waktu dan kesabarannya memberikan bimbingan selama penelitian hingga penyelesaian skripsi.
5. Ibu Oktora Susanti, S.Pi., M.Si., selaku Pembimbing II atas kesediaan meluangkan waktu dan kesabarannya memberikan bimbingan selama penelitian hingga penyelesaian skripsi.

6. Bapak Wardiyanto, S.Pi., M.P., selaku penguji yang telah memberikan masukan berupa kritik dan saran dalam perbaikan dan penyelesaian skripsi.
7. Dr. Supono, S.Pi., M.Si., selaku Pembimbing Akademik yang telah memberikan motivasi kepada penulis.
8. Teman-teman yang telah direpotkan dan selalu membantu selama penelitian Evanstio Pratama, M. Nuzul Mubarakah, M. Haris Kurniawan, Rifki Nur Huda, Aji Saputra, Enggie Rizki, Ari Widodo, Regina Fitriani, Mona Monica, Rizka Helisia P, Wulandari.
9. Sahabat-sahabatku Anrifal Mawalgi, M. Safrizal Anwar, Kurnopriawan H, Glenn Valentino, Winny Mutiasari, Vanny Karindra, Wahyu Taufiqurahman, Rivaldy Lumban G, Okta Saputra, terima kasih atas kebersamaan dan bantuannya selama ini.
10. Saudaraku angkatan 2013 Eko Probo, Arga, Arlin, Atik, Adjie, Ayu Wede, Bibin, Desti, Deki, Dewi, Enggi, Gita, Ida, Ika, Indri, Juliana, Nia, Mita, Tania, Mira, Rara, Riki, Rufaida, Rio, Shinta, Yeni, Ema, Akbar, Ester, Mentari, Iyan terima kasih atas momen kebersamaan selama perkuliahan.
11. Senior-senior angkatan 2009-2012 dan Adik-adik angkatan 2014-2017 serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu terima kasih atas doa dan motivasi yang diberikan kepada penulis

Semoga Allah SWT membalas segala kebaikan yang telah diberikan kepada penulis. Semoga penulisan ini dapat bermanfaat sebagai informasi dan ilmu pengetahuan untuk teman-teman dan masyarakat. Amin.

Bandar Lampung, Agustus 2018
Penyusun

Arbi Fadjri Pratama

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	2
1.3 Manfaat Penelitian.....	2
1.4 Kerangka Pemikiran	2
1.5 Hipotesis	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Biologi Udang Vannamei (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	5
2.2 Immunostimulan.....	6
2.3 Ekstraksi	8
2.4 Daun Kelor	9
III. METODE PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat	11
3.2 Alat dan Bahan	11
3.3 Rancangan Penelitian	12
3.4 Prosedur Penelitian.....	13
3.4.1 Pembuatan Ekstrak Daun Kelor	13
3.4.2 Aplikasi Immunostimulan pada Hewan Uji	13
3.4.2.1 Persiapan Wadah.....	13
3.4.2.2 Persiapan Hewan Uji.....	14

3.4.2.3 Pemeliharaan Udang	14
3.4.2.4 Parameter Uji	14
3.5 Analisis Data	16

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 <i>Total Haemocyte Count</i>	16
4.2 Aktivitas Fagositosis	18
4.3 Indeks Fagositosis	19
4.4 Kualitas Air	20

V. KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan	21
5.2 Saran	21

DAFTAR PUSTAKA LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil Uji Fitokimia Daun Kelor	9
2. Alat yang Digunakan.....	11
3. Bahan yang Digunakan	12
4. Parameter Kualitas Air	20

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka Pemikiran Penelitian.....	3
2. Morfologi Udang vannamei	5
3. Tata Letak Aquarium Penelitian.....	12
4. Hasil <i>Total Haemocyte Count</i>	17
5. Hasil Aktifitas Fagositosis.....	19
6. Hasil Indeks Fagositosis	20

I.PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) merupakan salah satu komoditas unggulan yang saat ini sedang berkembang pesat di Indonesia. Peningkatan permintaan akan udang di pasaran dapat dilihat dengan peningkatan produksi rata-rata pada tahun 2012 – 2017 yang mencapai 10,49% (Kementrian Kelautan Perikanan, 2017). Peningkatan permintaan ini mendorong para pembudidaya untuk terus menaikkan angka produksinya. Dampak dari meningkatnya kegiatan budidaya tersebut yaitu menurunnya kualitas lingkungan yang menyebabkan timbul beberapa penyakit pada udang.

Udang vannamei merupakan organisme yang hanya memiliki sistem imun non spesifik untuk mempertahankan diri dari pathogen yang menyebabkan udang vannamei lebih rentan untuk terserang penyakit. Dengan demikian dibutuhkan suatu cara untuk dapat meningkatkan kekebalan tubuh udang sehingga produksi udang dapat terus ditingkatkan. Salah satu upaya dalam penanggulangan dan pencegahan penyakit udang yaitu melalui peningkatan sistem pertahanan tubuh pada udang dengan pemberian imunostimulan, vitamin dan hormon (Johny *et al.*, 2005).

Imunostimulan merupakan suatu zat yang sering digunakan untuk meningkatkan sistem ketahanan tubuh udang, dengan pemberian komponen mikrobial seperti -glukan dan lipopolisakarida (LPS) atau sel bakteri yang telah dimatikan (Smith *et al.*, 2003). Imunostimulan berhubungan langsung dengan sel sistem imun yang membuat sel tersebut lebih aktif. Kelemahan dari imunostimulan seperti ini adalah harganya relatif mahal, sehingga diperlukan usaha pencarian sumber alternatif imunostimulan yang murah dan mudah penanganannya, salah satunya adalah ekstrak daun kelor.

Kelor (*Moringa oleifera Lam*) adalah sejenis tumbuhan dari suku Moringaceae. Tumbuhan ini mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, fenol, dan saponin (Arora *et al.*, 2013). Alkaloid dalam daun kelor berperan sebagai antibakteri dan mampu menghentikan reaksi berantai radikal bebas (Bamishaiye *et al.*, 2011). Hasil penelitian lain menunjukkan pemberian ekstrak daun kelor selain meningkatkan jumlah sel T CD4+ juga terbukti dapat meningkatkan jumlah relatif sel T CD8+ (Fathir *et al.*, 2014) serta memiliki peran sebagai imunostimulan karena dapat meningkatkan aktivitas makrofag (Biswas *et al.*, 2012).

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh ekstrak daun kelor terhadap imunitas non spesifik udang vannamei.

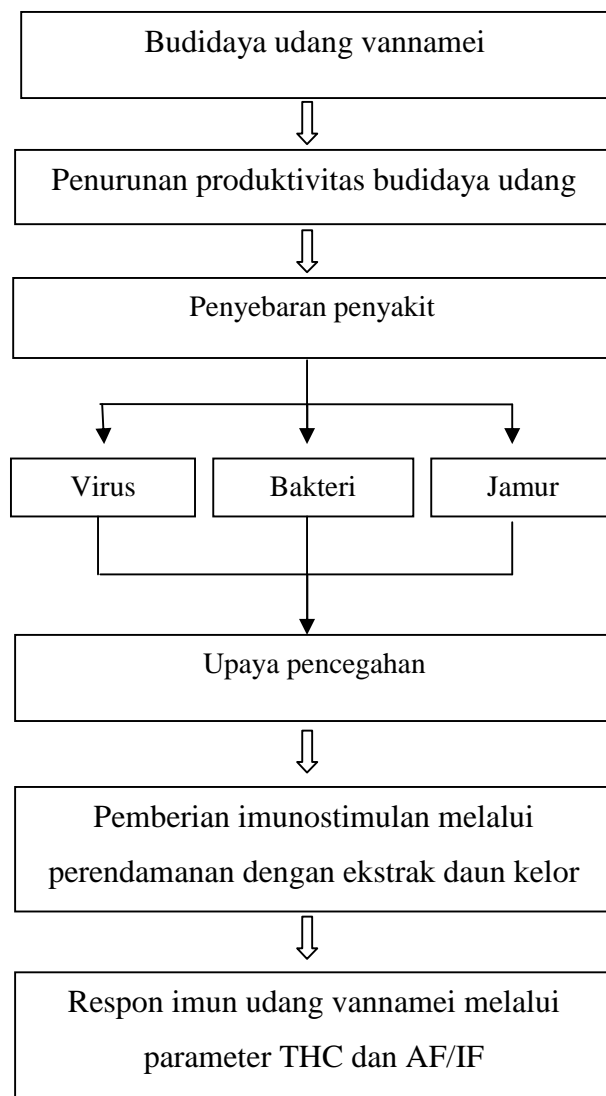
1.3 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai informasi tentang aplikasi ekstrak daun kelor sebagai imunostimulan pada udang vannamei.

1.4 Kerangka Pemikiran

Kegiatan budidaya udang di Indonesia mulai berkembang pesat baik secara tradisional, semi intensif dan intensif. Salah satu contoh udang yang dibudidayakan oleh petambak yaitu udang vannamei. Udang vannamei memiliki nilai ekonomis tinggi berdasarkan permintaan pasar luar negeri dan salah satu ekspor yang dapat meningkatkan devisa negara (Badan Standarisasi Nasional, 2009), sehingga dibutuhkan budidaya intensif untuk mendukung permintaan pasar. Penyakit merupakan salah satu faktor pembatas dalam budidaya udang vannamei. Tingginya tingkat mortalitas udang budidaya diduga disebabkan oleh infeksi virus maupun bakteri patogen. Salah satu upaya dalam penanggulangan dan pencegahan penyakit udang adalah melalui peningkatan sistem pertahanan tubuh udang, yaitu dengan menggunakan imunostimulan, vitamin dan hormon (Johny *et al.*, 2005).

Peningkatan imunitas dapat dilakukan dengan terapi pemberian obat-obatan herbal untuk meminimalisir adanya resistensi terhadap bakteri target. Obat-obatan herbal dapat berasal dari buah, sayur, maupun tanaman yang memiliki kandungan sebagai imunomodulator. Kelor merupakan tanaman yang memiliki kandungan imunomodulator. Kandungan fitokimia kelor dapat bermanfaat dalam meningkatkan titer antibodi (Sudha *et al.*, 2010), meningkatkan konsentrasi leukosit, eritrosit, kadar hemoglobin (Hb), persentase neutrofil, bobot organ timus, dan limpa (Gupta *et al.*, 2010).



Gambar 1. Kerangka Pemikiran Penelitian

1.5 Hipotesis

Hipotesis yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

$H_0 = 0$, tidak ada pengaruh pemberian ekstrak daun kelor sebagai imunostimulan terhadap sistem pertahanan tubuh udang vannamei.

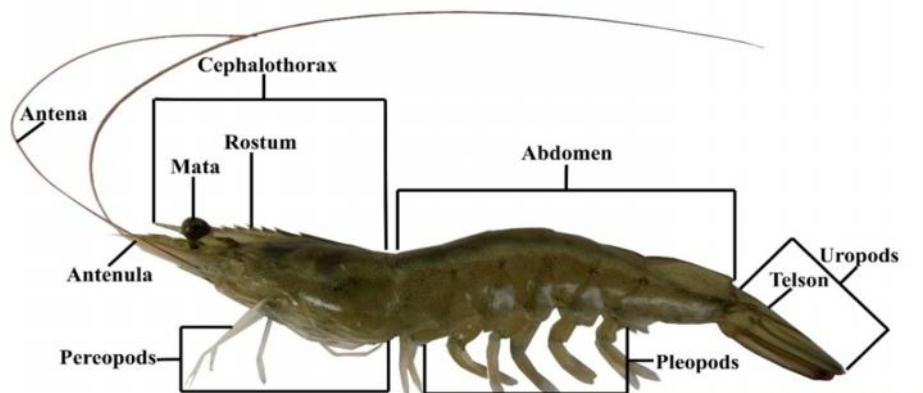
$H_1 = 0$, ada pengaruh pemberian ekstrak daun kelor sebagai imunostimulan terhadap sistem pertahanan tubuh udang vannamei.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi Udang Vannamei

Udang vannamei, merupakan jenis udang yang ditemukan pada bagian timur Samudera Pasifik dibudidayakan di wilayah Asia selatan dan tenggara. Klasifikasi udang vannamei dijelaskan oleh Wyban & Sweeney (1991), yaitu sebagai berikut:

Phylum : Anthropoda
Subphylum : Krustase
Class : Malacostraca
Subclass : Eumalacostraca
Superorder : Eucarida
Order : Decapoda
Suborder : Dendrobranchiata
Super Family : Penaeidea
Family : Penaeidae
Genus : *Penaeus*
Subgenus : *Litopenaeus*
Spesies : *Litopenaeus vannamei*



Gambar 2. Morfologi Udang Vannamei

Udang vannamei memiliki tubuh beruas-ruas dan secara morfologis terbagi atas dua bagian yakni chepalotorax dan abdomen. Vannamei tergolong decapoda dengan sepuluh kaki yang terdiri dari lima kaki jalan dan lima kaki renang. Warna vannamei putih transparan dan warna biru yang terdapat pada telson dan uropod. Alat reproduksi jantan disebut petasma, sedangkan betina thelycum. Morfologis udang vannamei memiliki ukuran tubuh lebih kecil dibandingkan udang windu akan tetapi lebih besar dibandingkan dengan udang galah (Elovaara, 2001).

Udang vannamei merupakan udang asli dari Pantai Pasifik Barat Amerika Latin, diperkenalkan di Tahiti pada awal tahun 1970 untuk penelitian potensi wilayah. Kemudian pengembangan budidaya yang intensif di Hawaii, utara barat pantai Pasifik, pantai timur Atlantik (South Carolina), Teluk Meksiko (Texas), Belize, Nikaragua, Kolombia, Venezuela, dan Brazil di akhir tahun 1970 dan sebelum 1980. Udang vannamei diperkenalkan di Asia untuk tujuan penelitian pada tahun 1978 - 1979 dan untuk kegiatan komersial pada tahun 1990. Perkenalan negara-negara Asia adalah sebagai berikut : Daratan China, 1988; Taiwan, 1995; Vietnam, 2000; Indonesia, 2001; Thailand, 1998; Malaysia, 2001; India, 2001; Filipina, 1997; Kepulauan Pasifik, 1972 (Briggs *et al.*, 2004).

Udang vannamei bersifat nokturnal, yaitu beraktivitas pada malam hari (Wyban & Sweeney, 1991). Udang vannamei juga bersifat seperti arthropoda lainnya, yakni mengalami *molting*. Pada fase larva, *molting* terjadi setiap 30-40 jam pada temperatur 28°C. Juvenil udang ukuran 1-5 gram akan *molting* setiap 4-6 hari, dan udang berukuran 15 gram akan *molting* setiap 2 minggu (Manoppo, 2011). Udang vannamei yang dikenal juga sebagai udang putih toleran pada salinitas 5-35 ppt, kisaran suhu 25-34⁰C, DO 4 ppm, pH 7-8,5 (Subaidah *et al.*, 2009).

2.2 Imunostimulan

Imunostimulan adalah bahan yang dapat meningkatkan kerja komponen-komponen sistem imun (Baratawidjaja & Rengganis, 2010). Bahan tersebut mampu memodulasi sistem imun dengan berperan memperbaiki

ketidakseimbangan dalam sistem imun (Ediati, 2012). Sistem imun terdiri atas imunitas non spesifik dan spesifik. Kedua sistem imun bekerja sama dalam pertahanan keseimbangan badan. Penyembuhan infeksi akan lebih cepat bila fungsi sistem imun tubuh ditingkatkan. Senyawa yang mempunyai bioaktivitas sebagai agen imunostimulan adalah golongan senyawa polisakarida, terpenoids, alkaloid dan polifenol (Wagner, 1984).

Sistem imun udang tergantung pada proses pertahanan non spesifik sebagai pertahanan terhadap infeksi (Lee *et al.*, 2004). Pertahanan pertama terhadap penyakit pada udang dilakukan oleh hemosit melalui fagositosis, enkapsulasi dan *nodule formation*. Aktifitas fagositosis dapat ditingkatkan dengan mengaktifkan sistem *prophenol* oksidase (Pro-PO) yang berada dalam hemosit semigranular dan granular.

Imunostimulan biasa dilakukan dengan pemberian komponen mikrobial seperti -glukan dan lipopolisakarida (LPS) atau sel bakteri yang telah dimatikan. Kelemahan dari imunostimulan ini adalah harganya relatif mahal, sehingga diperlukan usaha pencarian sumber alternatif imunostimulan yang murah dan mudah penanganannya (Smith *et al.*, 2003).

Imunostimulan merupakan strategi alternatif untuk mensiagakan atau menyiapkan sistem imun udang sehingga meningkatkan resistensi melawan patogen. Sistem imun udang meliputi reaksi selular dan humoral yang terkait dengan *hemolymph* udang. Beberapa parameter imun yang berhubungan dengan *hemolymph* seperti perhitungan *total haemocyte count* (THC), *differential haemocyte count* (DHC), aktifitas fagositosis (AF) dan aktifitas *phenol* oksidase (PO) telah digunakan untuk evaluasi pengaruh imunostimulator dari probiotik pada udang. Kerentanan udang terhadap infeksi patogenik dan oportunistik dipengaruhi kuat oleh kemampuan imunostimulannya (Rengpipet *et al.*, 1998).

Menurut (Smith *et al.*, 2003) kriteria pemilihan imunostimulan untuk udang: (1) biayanya murah (2) pemberian mudah (3) manjur (4) toksisitas bagi host rendah. Imunostimulan mendapat perhatian dan tuntutan lebih untuk keberhasilan dalam mendukung kelangsungan hidup krustasea terhadap eksperimen paparan mikroorganisme meliputi lima tipe utama yaitu (1) bakteri hidup (2) bakteri yang dimatikan (3) glukukan (4) peptidoglikan (5) lipopolisakarida (LPS). Glukan, peptidoglikan dan lipopolisakarida berasal dari dinding sel bakteri non patogenik dan jamur. Bahan-bahan tersebut digunakan karena pengaruh bahan tersebut dalam meningkatkan sistem imun udang. Senyawa imunostimulator biasanya diberikan melalui (1) perendaman (2) pakan tambahan dan (3) penyuntikan.

2.3 Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan menggunakan pelarut cair. Ekstraksi yang menggunakan pelarut didasarkan pada kelarutan komponen terhadap komponen lain dalam campuran (Suyitno, 1989). (Shriner *et al.*, 1980) menyatakan bahwa pelarut polar akan melarutkan solut yang polar dan pelarut non polar akan melarutkan solut yang non polar. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan kedalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid dan lain-lain. Dengan diketahuinya senyawa aktif yang terkandung dalam simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Ditjen POM, 2000). Etanol sebagai pelarut dapat memperbaiki atau mempertahankan sifat dan karakteristik bahan terlarut dan mampu mengendapkan zat-zat yang terkandung dalam bahan. Etanol banyak digunakan sebagai pelarut karena etanol relatif aman digunakan untuk bahan-bahan kimia yang ditujukan untuk konsumsi dan kegunaan manusia. Etanol dipilih sebagai pelarut karena etanol merupakan pelarut yang bersifat polar, yang artinya dapat melarutkan senyawa polar dan etanol bisa bercampur dengan air yang juga bersifat polar. Sifat yang penting adalah polaritas dan gugus polar suatu senyawa. Pada prinsipnya suatu bahan akan mudah larut dalam pelarut yang sama polaritasnya sehingga

akan mempengaruhi sifat fisikokimia ekstraksi yang dihasilkan (Sudarmadji, 1997).

2.4 Daun Kelor

Daun kelor telah dilaporkan menjadi sumber yang kaya β -karoten, protein, vitamin C, kalsium, kalium, dan menjadi sumber makanan yang baik sebagai antioksidan alami, karena adanya berbagai jenis senyawa antioksidan seperti asam askorbat, alkaloid, fenolat dan karotenoid (Anwar *et al.*, 2007). Penelitian yang dilakukan oleh (Bennet *et al.*, 2003) melaporkan bahwa dalam ekstrak daun kelor mengandung protein dengan berat molekul rendah yang mempunyai aktivitas antibakteri, antijamur, dan jika dilarutkan dalam air dapat digunakan untuk antibiotik. Daun kelor mengandung 27% protein, sebagai sumber protein daun Kelor memiliki kandungan asam amino esensial seimbang (Makkar & Becker, 1997).

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia pada Daun Kelor (*Moringa oleifera L.*)

No	Uji Fitokimia	Pereaksi	Perubahan Warna	Keterangan
1	Alkaloid	HCl 2N+Pereaksi Wagner Wilstater	Terbentuk Endapan Coklat Hijau Kecoklatan Menjadi Hijau Kekuningan	Alkaloid (+)
2	Flavonoid	BateSmith-Metcalfe Naoh 10% Akuades	Hijau Kecoklatan Menjadi Hijau Kekuningan Hijau Kecoklatan Menjadi Hijau Kekuningan	Flavonoid (+)
3	Saponin	Dipanaskan, Kocok + HCl 2N	Tidak Terbentuk Busa Yang Stabil	Saponin (-)
4	Fenolat	FeCl ₃	Hijau Kecoklatan Menjadi Biru Kehitaman	Fenolat (+)
5	Steroid	Lieberman-Burchard H ₂ SO ₄	Hijau Kecoklatan Menjadi Hijau Keunguan Hijau Kecoklatan Menjadi Hijau Keunguan	Steroid (+)
6	Tannin	FeCl ₃ Gelatin	Hijau Kecoklatan Menjadi Biru Kehitaman Terbentuk Endapan	Tannin (+)

(Wayan *et al.*, 2016)

Kelor termasuk dalam famili *Moringaceae*, banyak tersebar dinegara yang beriklim tropis dan sub-tropis termasuk di Indonesia. Menurut Kasolo *et al.*,(2010) kandungan fitokimia daun kelor yang diekstraksi dengan air meliputi senyawa gallictannin, steroids, titerpenoid, flavonoid, saponin, antraquinones, catecol tannin, alkaloid dan reducing sugar. Kandungan fitokimia kelor dapat bermanfaat dalam meningkatkan titer antibodi (Sudha *et al.*, 2010), meningkatkan konsentrasi leukosit, eritrosit, kadar hemoglobin (Hb), persentase neutrofil, bobot organ timus, dan limpa (Gupta *et al.*, 2010).

Daun kelor memiliki kandungan flavonoid, saponin, alkaloid, tanin, dan fenol (Pandey *et al.*, 2012). Salah satu senyawa yang terdapat dalam daun kelor adalah alkaloid. Senyawa alkaloid merupakan senyawa organik terbanyak yang ditemukan di alam. Senyawa ini biasanya ditemukan pada daun-daunan yang memiliki rasa pahit. Dalam bidang farmakologi alkaloid digunakan sebagai stimulan sistem saraf, obat batuk, obat tetes mata, sedative, obat malaria, kanker, dan anti bakteri. Selain itu, senyawa alkaloid dapat mempercepat kesembuhan luka dengan meningkatkan *Transforming Growth Factor 1* (TGF 1) dan *Epidermal Growth Factor* (EGF) (Shailemo *et al*, 2016). Hasil penelitian lain menunjukkan pemberian ekstrak daun kelor selain meningkatkan jumlah sel T CD4+ juga terbukti dapat meningkatkan jumlah relatif sel T CD8+ (Fathir *et al.*, 2014) serta memiliki peran sebagai imunostimulan karena dapat meningkatkan aktivitas makrofag (Biswas *et al.*, 2012).

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Januari 2018, berlokasi di Laboratorium Perikanan Gedung K, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

3.2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini terdapat pada Tabel 2 dan bahan yang digunakan pada penelitian ini terdapat pada Tabel 3.

Tabel 2. Alat yang digunakan

No	Alat	Kegunaan
1	Akuarium (50x40x40cm)	Wadah budidaya benur udang / benih ikan
2	Ph meter, DO	Mengecek pH dan DO media
3	Mikropipet	Memindahkan cairan yang bervolume cukup kecil
4	Spektrofotometer	Mengukur absorbansi
5	Timbangan digital	Menimbang media dan juga sample
6	Tabung reaksi	Untuk uji biokimiawi
7	Tabung erlenmeyer	Untuk meracik dan menghomogenkan bahan-bahan komposisi media
8	Labu ukur	Mengukur volume suatu cairan
9	Jarum inokulan	Memindahkan biakan dari media lama ke media baru
11	Bunsen	Sterilisasi jarum ose, menciptakan kondisi steril
12	<i>Hot plate stirrer</i>	Menghomogenkan suatu larutan dengan pengadukan
13	<i>Laminary airflow</i>	Untuk bekerja secara aseptis mempunyai pola pengaturan sehingga steril
14	Autoklaf	Alat untuk mensterilisasi suatu benda menggunakan uap bersuhu dan bertekanan tinggi
15	Plastik pembungkus	Membungkus inokulan
16	Inkubator	Alat untuk menginkubasi atau memeram mikroba pada suhu yang terkontrol

17	Rotary evaporator	Menguapkan ekstrak daun kelor agar terpisah dari cairan penyaringnya
----	-------------------	--

Tabel 3. Bahan yang digunakan

No.	Bahan	Kegunaan
1	Udang vannamei 10 gr	Hewan uji dalam penelitian mengenai uji imunitas.
2	Serbuk daun kelor	Untuk diambil ekstraknya
3	Air laut steril	Pergantian air sebagai media hidup, dilakukan setiap hari dengan volume ½ atau secukupnya
4	Na Sitrat 10%	Antikoagulan saat pengambilan sampel <i>hemolymph</i>
5	Formalin	Untuk inaktifasi bakteri
6	<i>Staphylococcus aureus</i>	Bakteri patogen untuk uji AF/IF
7	Safranin 10%	Pewarnaan dalam preparasi uji AF/IF
8	NaCl fisiologis 0,85%	Larutan pembilas dalam preparasi uji AF/IF
9	Alkohol 70%	Disinfektan dan pembilas dalam preparasi uji AF/IF.
10	Aquades	Pelarut dalam pembuatan media
11	PBS (<i>Phosfat Buffer Saline</i>)	Pengenceran
12	Etanol 96%	Pelarut serbuk daun kelor

3.3. Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 4 perlakuan dengan 3 kali ulangan.

Skema posisi perlakuan dilihat pada Gambar 3.

A1	B2	C1	D3	B1	A2
C2	D2	A3	B3	C3	D1

Gambar 3. Tata Letak Akuarium Penelitian

Keterangan :

A : Kontrol (Perlakuan tanpa pemberian ekstrak daun kelor)

B : Perlakuan dengan pemberian ekstrak daun kelor 20 mg/L

C : Perlakuan dengan pemberian ekstrak daun kelor 30 mg/L

D : Perlakuan dengan pemberian ekstrak daun kelor 40 mg/L

Penentuan dosis ini berdasarkan (Monica *et al.*, 2017)

3.4. Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian terdiri atas persiapan wadah uji dan pemeliharaan udang, pembuatan ekstrak daun kelor, pengambilan sampel *hemolymph*, dan pengamatan sampel. Adapun proses tahapan tersebut, sebagai berikut :

3.4.1. Pembuatan Ekstrak Daun Kelor

Daun kelor segar dicuci dengan air mengalir untuk memisahkan daun dari kotoran yang ada pada permukaan daun, setelah bersih daun ditiriskan lalu dipotong kecil-kecil sampai menjadi serbuk kemudian diblender untuk menghasilkan serbuk yang benar-benar halus. Serbuk yang sudah halus dengan perbandingan 50 gr per 500 mL etanol 96% dimaserasi selama 5 jam dengan cara dimasukkan kedalam *rotary evaporator* sampai didapat ekstrak berupa pasta.

3.4.2. Aplikasi Imunostimulan pada Hewan Uji

3.4.2.1 Persiapan wadah

Menyiapkan akuarium dengan ukuran 60x50x50 cm dengan volume air 10 L sejumlah 12 buah. Akuarium disterilkan dengan dibersihkan menggunakan air tawar lalu dikeringkan dibawah sinar matahari setelah akuarium kering dimasukkan air laut steril dan diberikan aerasi pada setiap akuarium yang digunakan sebagai wadah uji.

3.4.2.2 Persiapan Hewan Uji

Udang *vannamei* yang diuji diperoleh dari Lampung Timur. Stadia dewasa, dengan rerata bobot 10 gram. Jumlah udang yang digunakan 10 ekor disetiap

akuarium, dan udang diaklimatisasi selama 3 hari sebelum perlakuan dilakukan untuk adaptasi dengan media hidup baru.

3.4.2.2 Pemeliharaan Udang

Hewan uji di aklimatisasi selama 3 hari sebelum aplikasi perlakuan dilakukan setelah itu direndam dalam larutan ekstrak dengan konsentrasi 20 ; 30 ; 40 mg/L selama 30 menit sebelum pemeliharaan. Hewan uji dipelihara selama 16 hari dengan frekuensi pemberian pakan 3 kali dalam satu hari pada pukul 7:00; 12:00; 17:00 WIB Sisa pakan dan feses pada wadah uji akan dibersihkan dengan metode *siphon* yang dilakukan setiap 3 hari.

3.4.2.4 Parameter Uji

1. Pengambilan Sampel *Hemolymph*

A. Prosedur kerja pengambilan sampel *hemolymph* :

Hemolymph diambil sebanyak 5 kali, pada hari ke-0, 4, 8, 12, dan 16 sebanyak 0,1 mL tiap ekor. *Hemolymph* tiap perlakuan diambil dari 3 ekor udang secara acak. *Hemolymph* tersebut akan didistribusikan untuk uji THC sebanyak 10 μ L dan AF/IF sebanyak 20 μ L.

B. Penghitungan *Total Haemocyte Count* (THC) :

Hemolymph segar (10 μ L) diencerkan dengan PBS (20 μ L) kemudian ambil sampel yang telah diencerkan menggunakan mikropipet diletakkan di atas permukaan *hemocytometer* dan diamati dibawah mikroskop setelah itu hitung *total haemocyte count* (THC) dengan rumus:

- $THC \text{ (sel/mL)} = \text{jumlah sel terhitung} \times \text{pengenceran} \times 10^4$

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

Hemolymph segar (20 μ L) dimasukkan ke sumuran mikroplate dan ditambahkan dengan 10 μ L suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah dilemahkan dengan 1% formalin selama 24 jam. Campuran *hemolymph* dan suspensi bakteri diinkubasi pada suhu ruang selama 20 menit selanjutnya diambil 5 μ L untuk

dibuat apusan di atas gelas preparat dengan meletakkan 1 tetes *hemolymph* pada ujung kaca preparat, kemudian tekan dengan ujung cover glass dan didorong sampai ujung kaca preparat secara merata. Preparat yang sudah kering selanjutnya direndam dalam alkohol 70% selama 20 menit dan dibilas dengan NaCl 0,85% kemudian dikeringkan kembali selanjutnya preparat dicat dengan safranin 10% selama 20 menit dan dikeringkan. Preparat yang sudah kering diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x.

Aktifitas fagositosis (AF) dan indeks fagositosis (IF) dihitung dengan:

- $AF = (a/b) \times 100\%$
- $IF = c/a$

Keterangan:

a : jumlah sel fagosit

b : jumlah keseluruhan sel yang diamati

c : jumlah bakteri yang difagosit

3. Kualitas Air

Kualitas air sebagai data pendukung dalam pemeliharaan hewan uji, parameter yang akan diukur adalah parameter DO, salinitas, suhu, dan pH. Pengukuran kualitas air akan dilakukan pada awal pemeliharaan, tengah dan akhir pemeliharaan hewan uji. Alat yang digunakan dalam pengukuran kualitas air untuk DO dan suhu menggunakan DO meter, salinitas menggunakan refraktrometer, dan pH menggunakan indikator kertas pH.

3.5. Analisis Data

Data parameter imunologi udang vannamei akan dianalisis secara statistik dengan uji analisis sidik ragam Anova. Untuk data parameter kualitas air diamati secara deskriptif.

V. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Pemberian ekstrak daun kelor berpengaruh terhadap imunitas non spesifik udang vannamei kerana dapat meningkatkan *total haemocyte count*, aktifitas fagositosis, dan indeks fagositosis.

5.2 Saran

Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mempelajari penerapan aplikasi ekstrak daun kelor pada skala produksi.

DAFTAR PUSTAKA

- Alfi, W. S. 2013. Profil Hemosit dan Aktifitas Fagositosis Kepiting Bakau (*Scylla* Sp.) yang Terserang Ektoparasit di Ekosistem Mangrove Kuta Selatan, Bali. *J. of Marine and Aquatic Science*. 2:34-39.
- Anwar F, Latir S, Ashraf M, & Gilan A. 2007. *Moringa oleifera* a food plant with multiple medicinal uses. *Phytother. J. of Experimental Biology*. 21:17-25.
- Anderson, D.P. 1992. Immunostimulant, adjuvant and vaccine carrier in fish: Applications to aquaculture. *Annual Review of Fish Diseases*. 21:281-307.
- Arora, S.D., Onsare, G.J., & Kaur H. 2013. Bioprospecting of moringa (*Moringaceae*). *J. of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 16:190-193.
- Bamishaiye, E.I.F.F., Olayemi, E.F., & Awagu, O.M. 2011. Proximate and phytochemical composition of *Moringa oleifera* leaves at three stages of maturation. *Advance Journal of Food Science and Technology*. 3:233-237.
- Baratawidjaja, K.G. & Rengganis, I. 2010. *Imunologi Dasar*. Balai Penerbit, Yogyakarta. 418 hlm.
- Bellanti, J. A. 1989. *Immunology III*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta. 164 hlm.
- Bennett R, Mellon F, Pratt J, Dupont M, Pernins L, & Kroon P. 2003. Profiling glucosinolates and phenolics in vegetative and reproductive tissues of multipurpose trees *Moringa oleifera* L. (horseradish tree) and *Moringa stenopetal* L. *Journal of Agriculture Food Chem*. 51:3546-5553.
- Biswas, S.K, Chowdhury, A., Joysre, D., Ajoy, R., & Zahid, H. 2012. Pharmacological potentials of *Moringa oliefera* Lam, A Review. *International Journal Pharmaceutical Sciences and Research*. 3:305-310.
- BSN 7311. 2009. *Produksi benih udang vaname (Litopenaeus vannamei) kelas benih sebar*. Badan Standarisasi Nasional. ICS 65.150.

- Briggs, M., Simon F., S., Rohana S., & Michael P. 2004. *Introductions and Movement of Penaeus vannamei and Penaeus stylirostris in Asia and The Pacific*. FAO, Bangkok. 235 pp.
- Costa, A.M, C.C. Buglione, F.L. Bezerra, P.C.C. Martins, & M.A Barracco. 2009. Immuneassessment of farm-reared *Penaeus vannamei* shrimp naturally infected by IMNV in NE Brazil. *International Journal of Applied Science and Technology Aquaculture*. 291:141-146.
- Ditjen POM. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Departeman Kesehatan RI, Jakarta. 202 hlm.
- Ediati, S. 2012. *Teks Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada di Rapat Terbuka Majelis Guru Besar Universitas Gadjah Mada Yogyakarta*, 7 November 2012.
- Elovaara, A., K. 2001. *Shrimp Farming Manual. Practical Technology for Intensive Commercial Shrimp Production*. United States Of America.
- Famelia M., P. 2013. Pengaruh Penambahan Spirulina sp. dalam Pakan Buatan Terhadap Jumlah Total Hemosit dan Aktivitas Fagositosis Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 2:102-112
- Farika E.Y., N.A Suratma., & I.M Damriyasa. 2014. Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera l*) sebagai Pengendali Infestasi Argulus sp pada Ikan Komet (*Carassius auratus auratus*). *Jurnal Ilmu dan Kesehatan Hewan*. 1:1-11
- Fathir, A., Muhaimin, R., & Widodo. 2014. Aktivitas Ekstrak Daun Kelor Terhadap Sel-T *Helper* dan Sel-T *Sitotoksik* pada Mencit yang Diinfeksi *Salmonella thypi*. *Jurnal Veteriner*. 15:114-122.
- Fontaine, C.T. & Lighter, D.V. 1974. Observation on Phagocytosis and Elimination of Carmine Particles Injected Into the Abdominal Musculature of the White Shrimp . *Journal Invertebrate Pathology*. 5:11-40.
- Gupta A, Gautam MK, Singh RK, Kumar MV, Rao CV, Goel RK, & Anupurba S. 2010. Immunomodulatory effect of *Moringaoleifera* Lam extract on

cyclophosphamide-induced toxicity in mice. *J. of Experimental Biology*. 48:1157-1160.

Johny E., Roza D.K., Mahardika, Zafran, & Priyono. 2005. Penggunaan Immunostimulan untuk Meningkatkan Kekebalan Nonspesifik Benih Ikan Kerapu Lumpur terhadap Infeksi imunostimulan. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*. 11:75-78.

Kasolo JN, Bimenya GS, Ojok L, Ochieng J, & Jasper WO. 2010. Phytochemicals and uses of *Moringa oleifera* leaves in Ugandan rural communities. *J. of Medicinal Plant Research*. 4:753-757.

Kementrian Kelautan dan Perikanan. 2017. *Laporan Tahunan Direktorat Produksi Tahun 2017*. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya, Jakarta.

Lee, M. H. & S. Y Shiau. 2004. Vitamin E Requirements of Juvenile Grass Shrimp *P. monodon* and Effects on Nonspecific Immune Responses Fish & Shellfish Immunology. *J. of Tropical Marine*. 16:475 – 485.

Lenny S. 2006. *Senyawa Flavonoid Fenilpropanoid dan Alkaloid*. Universitas Sumatera Utara, Medan. 182 hlm.

Lewis WH., Roman J., Simchowit L., & Mustoe TA. 2004. Enhancement of wound healing by the alkaloid taspine defining mechanism of action. *Journal Biology Medicine*. 203:18-25.

Lusi L.R.H Dima., Fatimawali., & Widya AL. 2016. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor (*moringa oleifera* l.) Terhadap bakteri *escherichia coli* dan *staphylococcus aureus*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan alam MIPA Universitas Sam Ratulangi Manado. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 5:1-8

Makkar H & Becker K. 1997. Nutrients and anti-quality factors in different morphological parts of the *Moringa oleifera* tree. *J. of Agriculture Scient Cambridge*. 128:311-322.

Manoppo, H. 2011. *Peran Nukleotida Sebagai Immunostimulan Terhadap Respon Imun Non spesifik Dan Resistensi Udang *Vannamei* (*Litopenaeus vannamei*)*. (Disertasi Pascasarjana). IPB, Bogor. 258 hlm.

- Monica, M., Wardiyanto., & Oktora S. 2017. Kajian Potensi Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya l*) Terhadap Immunitas Non Spesifik Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 9:127-133
- Naim, R. 2004. *Senyawa Antimicroba dari Tanaman*. <http://www2.kompas.com/kompascetak/0409/15/sorotan/1265264>. (5 Juli 2008)
- Pandey, A., Tripathi P., Gupta PP., Haider J., Bhatt S., & Singh AV. 2012. Moringa Oleifera Lam a plant with a plethora of diverse therapeutic benefits: an update retrospection. *Journal Medicinal and Aromatic Plants*. 1:2-8.
- Rengpipat S, P. Menasveta & S. Piyatiratitivorakul. 1998. Effects of Probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon*, survival and growth. *Aquacultur.*, 167:301-313.
- Shailemo, D.H.P., Kwaambwa, H.M., Schulz, M.K., & Msagati, T.A.M. 2016. Antibacterial Activity of *Moringa ovalifo* and *Moringa oleifera* Methanol, N-Hexan and Water Seeds and Bark Extracts against Pathogens That Are Implicated in Water Borne Diseases. *Journal Green and Sustainable Chemistry*. 6 : 71-77.
- Shriner, Fuson, Curtin & Morrilli. 1980. The Systematic Identification of Organic Compounds. 6th Edition. John Wiley and Sons Inc. Singapore.
- Smith VJ, JH. Brown & Ch. Hauton. 2003. Immunostimulation in crustaceans does it really protect against infection Fish and Shellfish Immunology. *Journal Aquaculture*. 15:71–90.
- SNI. 2009. *Produksi udang vannamei (L. vannamei) di tambak dengan teknologi intensif*. Jakarta: BSN : SNI-17-7310-2009.
- Subaidah, S., S., Pramudjo & Manijo. 2009. *Pembenihan Udang Vannamei*. Balai Budidaya Air Payau, Situbondo. 245 hlm.
- Sudarmadji. 1997. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Binarupa Aksara, Yogyakarta. 326 hlm.

- Subagiyo, & Fatichah, D. I. 2015. Potensi Hot Water Extract Rumput Laut *Caulerpa* sp. Dan *Sargassum* Sebagai Komponen Immunonutrisi Pada Budidaya Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Kelautan Tropis*. 18 154-159
- Sudha P, Asdaq SMB, Dhamingi SS, & Chandrakala GK. 2010. Immunomodulatory Activity of Methanolic Leaf Extract Of *Moringa oleifera* In Animals. *Journal Pharmacol*. 54:133-140.
- Suyitno. 1989. Petunjuk Laboratorium Rekayasa Pangan Proyek Pengembangan. Pusat Fasilitas Bersama Antar Universitas (Bank Dunia XVII). PAU Pangan dan Gizi UGM. Yogyakarta.
- Syahailatua, Y. D. 2009. *Seleksi bakteri sebagai stimulator sistem imun pada udang vaname Litopenaeus vannamei*. (Thesis). Bogor: IPB.
- Wagner, H. 1984. *Immunostimulant of fungi and higher plants*. Springer Verlag, Berlin. 320 hlm.
- Wayan DPP , Anak AGOD, & Luh MS. 2016. Identifikasi Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera L*) di Bali. *Jurnal Indonesia Medicus Veterinus*. 5:464-473
- Widanarni, Sukenda. & Ghita,R., S. 2016. Aplikasi Sinbiotik Untuk Pencegahan Infeksi Infectious Myonecrosis Virus pada Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Kedokteran Hewan*. 108:121-128.
- Wyban, J. A., & J., N., Sweeney. 1991. *Intensive Shrimp Production Technology*. The Oceanic Institute Shrimp Manual. Honolulu, Hawaii. USA. 236 pp.
- Yin, G., Jeney, G., Racs, T., Xu P., Jun X., & Jeney, Z. 2006. Effect of two Chinese herbs (*Astragalus radix* and *Scutellaria radix*) on non specific immune system of tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*. 253:39-47.