

EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN MANGROVE *Avicenia alba* (Tomlinson, 1986) DALAM MENCEGAH BAKTERI *Vibrio harveyi* (Johnson & Shunk, 1936) PADA UDANG VANAME (*Litopenaus vannamei*) (Boone, 1931)

(Skripsi)

**OLEH:
EKA NUR FARIDA**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN PERIKANAN DAN KELAUTAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

ABSTRACT

THE EFFECTIVENESS OF MANGROVE LEAF EXTRACT *Avicennia alba* (Tomlinson, 1986) IN PREVENTING *Vibrio harveyi* (Johnson & Shunk, 1936) BACTERIA IN VANAME SHRIMP (*Litopenaeus vannamei*) (Boone, 1931)

By

EKA NUR FARIDA

Vibriosis is a disease that often infects shrimp culture, some of the most dangerous types of *Vibrio* bacteria are *V. harveyi*. Mangrove is one of the natural ingredients that can be used as an alternative in preventing diseases in the fisheries sector, one of the mangrove species that has an antibacterial compound is *Avicennia alba*. *Avicennia alba* has *tannin*, *saponins*, and *steroid* compounds that can inhibit the function of cytoplasmic membranes and energy metabolism in bacteria. This study was conducted to determine the effectiveness of *Avicennia alba* leaf extract *Avicennia alba* in inhibiting *Vibrio harveyi* disease in vaname shrimp (*Litopenaeus vannamei*). This research was conducted in several stages, namely extraction of mangrove leaves, both *in vivo* and *in vitro*. The highest THC, AF, IF, SR, RPS and MTD values were obtained at the concentration of 250 mg/l. *Avicennia alba* leaf extract was able to improve the shrimp immune system and was able to prevent diseases caused by *Vibrio harveyi*, with the best results at an extract concentration of 250 mg/l where the concentration has significantly higher THC, AF, IF, SR, RPS, and MTD compared to other treatments.

Key word: *Avicennia alba* leaf extract, *Vibrio harveyi*, *Litopenaeus vannamei*

ABSTRAK

EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN MANGROVE *Avicenia alba* (Tomlinson, 1986) DALAM MENCEGAH BAKTERI *Vibrio harveyi* (Johnson & Shunk, 1936) PADA UDANG VANAME (*Litopenaeus vannamei*) (Boone, 1931)

Oleh

EKA NUR FARIDA

Penyakit *Vibriosis* merupakan penyakit yang sering menyerang pada budidaya udang. Beberapa jenis bakteri *Vibrio* yang paling berbahaya adalah *V. harveyi*. Mangrove merupakan salah satu bahan alami yang dapat digunakan sebagai alternatif dalam pencegahan penyakit dibidang perikanan, salah satu spesies mangrove yang memiliki senyawa antibakteri yaitu *Avicennia alba*. Bagian daun *Avicennia alba* memiliki senyawa *saponin*, *tannin* dan *steroid* yang dapat menghambat fungsi membran sitoplasma dan metabolisme energi pada bakteri. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui evektifitas ekstrak daun mangrove *Avicenia alba* dalam menghambat penyakit *Vibrio harveyi* pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). Penelitian ini dilakukan dengan beberapa tahap yaitu ekstraksi daun mangrove, uji *in vitro*, dan uji *in vivo*. Nilai THC, AF, IF, SR, RPS dan MTD tertinggi pada konsentrasi 250 mg/l. Ekstrak daun mangrove *Avicenniai alba* mampu meningkatkan sistem imun udang dan mampu mencegah penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio harveyi*, dengan hasil paling baik pada konsentrasi ekstrak 250 mg/l dimana konsentrasi tersebut dapat meningkatkan nilai THC, AF, IF, SR, RPS, dan MTD paling tinggi dibandingkan dengan perlakuan yang lain.

Kata kunci: Ekstrak daun *Avicennia alba*, *Vibrio harveyi*, *Litopenaeus vannamei*

EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN MANGROVE *Avicenia alba* (Tomlinson, 1986) DALAM MENCEGAH BAKTERI *Vibrio harveyi* (Johnson & Shunk, 1936) PADA UDANG VANAME (*Litopenaus vannamei*) (Boone, 1931)

Oleh

Eka Nur Farida

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar
SARJANA PERIKANAN

Pada

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



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

Judul Skripsi : **EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN MANGROVE
Avicenia alba (Tomlinson, 1986) DALAM MENCEGAH
BAKTERI *Vibrio harveyi* (Johnson & Shunk, 1936)
PADA UDANG VANAME (*Litopenaus vannamei*)
(Boone, 1931)**

Nama Mahasiswa : **Eka Nur Farida**

No. Pokok Mahasiswa : 1414111023

Program Studi : Budidaya Perairan

Fakultas : Pertanian



Rara Diantari, S.Pi., M.Sc.
NIP 19790821 200312 2 001

Esti Harpeni, S.T., M.App.Sc.
NIP 19791118 200212 2 001

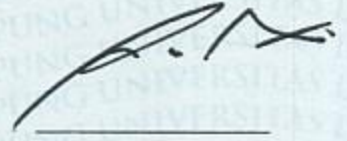
2. Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan

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

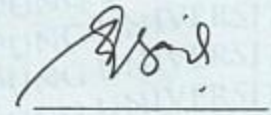
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

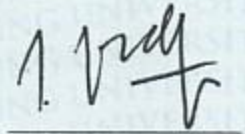
Ketua : **Rara Diantari, S.Pi., M.Sc.**



Sekretaris : **Esti Harpeni, S.T., M.App.Sc.**



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 : **31 Januari 2019**

PERNYATAAN

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Karya tulis saya, Skripsi ini adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan 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 oleh orang lain, kecuali secara tertulis 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, Februari 2019

Yang membuat pernyataan,



Eka Nur Farida
NPM. 1414111023

RIWAYAT HIDUP



Eka Nur Farida lahir di desa Rajabasa Lama, Subing Putra II, kec.Labuhan Ratu, Lampung Timur, 03 Oktober 1996. Penulis merupakan anak pertama, puteri dari pasangan ayahanda Bawianto dan ibunda Kartini, mempunyai seorang adik perempuan bernama Sekar Khoiriyah Ulva dan seorang adik laki-laki bernama Fadilatur Rahman.

Penulis memulai pendidikan di Taman Kanak-Kanak ‘Khoirunnasi Al Amin Rajabasa Lama, diselesaikan pada tahun 2002. Penulis melanjutkan pendidikan di SDN 3 Rajabasa Lama dan lulus pada tahun 2008. Selanjutnya penulis menyelesaikan pendidikan di SMP Negeri 1 Labuhan Ratu dan lulus pada tahun 2011 dan melanjutkan pendidikan di SMA Negeri 1 Way Jepara dan lulus pada tahun 2014. Penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, penulis pernah menjadi pengurus di Himpunan Mahasiswa Budidaya Perairan Unila (HIDRILA). Penulis pernah menjadi asisten dosen beberapa mata kuliah Universitas Lampung melalui jalur SBMPTN (Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri).

Selama menjadi mahasiswa budidaya perairan. Pada tahun 2017 penulis melaksanakan KKN (Kuliah Kerja Nyata) di Desa Karang Endah Kecamatan Terbanggi Besar, Lampung Tengah dan juga melaksanakan Praktik Umum (PU) di BLUPPB (Balai Layanan Usaha Produksi Perikanan Budidaya) Karawang.

Pada tahun 2019 penulis menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Efektivitas Ekstrak Daun Mangrove *Avicennia alba* (Tomlinson, 1986) dalam Mencegah Bakteri *Vibrio harveyi* (Johnson & Shunk, 1936) pada Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) (Boone, 1931)”**.

“Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat” (QS. Al Mujadalahah : 11)

Jika manusia meninggal maka terputuslah amalnya, kecuali tiga perkara: sedekah jariyahnya, ilmu yang bermanfaat dan anak yang shaleh yang mendoakan kedua orangtuanya,” (HR. Bukhari dan Muslim)

*“Ikatlah ilmu dengan menuliskannya”
(Ali bin Abi Talib)*

“Buatlah kedua orang tuamu tersenyum, karena mereka telah menghabiskan waktu siang dan malam untuk membuatmu tidak menangis”. (Dr. Bilal Philips)

“Hal terindah di dunia ini adalah melihat kedua orang tua tersenyum dan mengetahui aku adalah alasan yang membuat mereka tersenyum” (E.N.F)

SANCAWACANA

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Efektivitas Ekstrak Daun Mangrove *Avicennia alba* (Tomlinson, 1986) dalam Mencegah Bakteri *Vibrio harveyi* (Johnson & Shunk, 1936) pada Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) (Boone, 1931)”** yang merupakan salah satu syarat untuk memperoleh Sarjana Perikanan (S.Pi) pada Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian Universitas Lampung.

Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis banyak mendapat bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak terutama kedua orang tua yang telah memberi kasih sayang serta dukungan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini . Pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si. selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
2. Ir. Siti Hudaidah, M.Sc. selaku Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan Universitas Lampung.
3. Rara Diantari, S.Pi., M.Sc. selaku Pembimbing I atas kesediaan meluangkan waktu dan kesabarannya memberikan bimbingan, dukungan, masukan berupa kritik dan saran selama penelitian hingga penyelesaian skripsi.
4. Esti Harpeni, S.T., M.App.Sc. selaku pembimbing II yang tanpa lelah membimbing, memotivasi, memberikan ide pemikiran dan kesabaran yang diberikan kepada penulis.

5. Wardiyanto, S.Pi., M.Si. selaku penguji yang telah memberikan masukan berupa kritik dan saran dalam perbaikan dan penyelesaian skripsi.
6. Dr. Supono, M.Si. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah banyak memberikan bimbingan mulai dari mahasiswa baru sampai bisa menempuh gelar sarjana.
7. Seluruh dosen dan staf jurusan Perikanan dan Kelautan Universitas Lampung yang telah memberikan pengetahuan dan pengalaman selama penulis menuntut ilmu.
8. Sahabat unyu-unyu Arif Julian, Bambang Prakoso, Dian Rusadi, Dwi Arum Mufidah, Fadhilah Amalia Fitri, dan Fajri Muharram untuk kebersamaan saat melakukan penelitian hingga skripsi ini selesai.
9. Teman seperjuangan budidaya perairan 2014 untuk canda tawa dan kerja sama selama melakukan penelitian.
10. Kakak-kakak tersayang mbk diah, mbk ema, mbk binti dan yang lainnya yang ikut memberi masukan, saran, serta motivasi dalam melakukan penelitian hingga skripsi ini selesai.
11. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu. Penulis berharap semoga Allah SWT membalas semua kebaikan yang telah diberikan.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, namun penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan menambah wawasan keilmuan pembaca.

Bandar Lampung, Februari 2019

Penulis,

Eka Nur Farida

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan Penelitian	3
C. Manfaat	3
D. Kerangka Pikir	4
E. Hipotesis	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Mangrove <i>Avicennia alba</i>	7
B. Udang Vaname.....	9
C. Mekanisme Penghambat Penyakit	12
D. <i>Vibrio harveyi</i>	13
III. METODOLOGI PENELITIAN	
A. Waktu dan Tempat	15
B. Alat dan Bahan Penelitian.....	15
C. Rancangan Penelitian.....	17
D. Prosedur Penelitian	19
1. Ekatraksi Daun Mangrove	20
2. Uji Fitokimia.....	21
3. Penyediaan Bakteri <i>Vibrio harveyi</i>	21
4. Percobaan pendahuluan	22
5. Persiapan wadah.....	23
6. Persiapan hewan uji	23
7. Pemeliharaan udang uji.....	24
8. Percobaan utama	24
9. Parameter Uji	26
9.1 Pengambilan <i>Hemoyimph</i>	26
9.2 <i>Total Hemocyte Count</i> (THC).....	26
9.3 Aktivitas Fagositosit/Indeks Fagositosit (AF/IF)	27
9.4 RPS (<i>Relative percent survival</i>).....	28

9.5 MTD (<i>Mean Time to Death</i>).....	28
9.6 Kelangsungan Hidup (<i>Survival Rate / SR</i>)	29
9.7 Gejala Klinis	29
9.8 Pemeriksaan Kualitas Air	30
9.9 Analisis Data.....	30
IV. Hasil Dan Pembahasan	
A. Hasil Uji Fitokimia	31
B. Total <i>Hemocyte Count</i> (THC).....	33
C. Aktivitas Fagositosis (AF)	37
D. Indeks Fagositosis (IF).....	41
E. Survival Rate (SR)	43
F. RPS (<i>Relative percent Survival</i>)	45
G. MTD (<i>Mean Time to Death</i>)	46
H. Gejala Klinis	48
I. Kualitas Air	51
V. Penutup	
A. Kesimpulan	53
DAFTAR PUSTAKA	54
LAMPIRAN.....	61

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian.....	16
2. Bahan-bahann dalam penelitian.....	17
3. Perlakuan dengan konsentrasi ekstrak berbeda.....	18
4. Metode uji fitokimia	21
5. Hasil uji fitokimia	31
6. <i>Total Haemocyte Count</i> (THC) udang vaname	35
7. Aktivitas Fagositosis (AF) pada udang vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	39
8. <i>Indeks Fagositosis</i> (IF) udang vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	42
9. Rata-rata Skoring Gejala Klinis	49
10. Hasil uji kualitas air	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka Pikir	5
2. Daun mangrove <i>Avicenia alba</i>	7
3. Udang vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>).....	10
4. Prosedur Penelitian	19
5. Prosedur Percobaan Utama	25
6. Alur pengamatan SR dan gejala klinis.....	25
7. Hasil uji senyawa saponin.....	31
8. Hasil uji senyawa steroid	32
9. Hasil uji senyawa tannin	33
10. Hasil THC	34
11. <i>Total Haemocyte Count</i> pada udang Vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>) ...	35
12. Hasil aktivitas fagositosis	38
13. Aktivitas Fagositosis (AF) pada udang vaname	38
14. <i>Indeks Fagositosis</i> (IF) udang vaname	41
15. Proses sel fagositosis.....	43
16. Kelangsungan hidup (SR) udang vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	44
17. <i>Relative Percent Survival</i> (RPS).....	46
18. <i>Mean Time to Death</i> (MTD).....	47
19. Rata-rata skoring gejala klinis.....	49
20. Gejala klinis pada udang skor 2 (ekor merah)	50
21. Gejala klinis pada udang skor 3 (melanisasi kaki renang).....	51

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Uji statistik THC	61
2. Uji statistik aktivitas fagositosis.	63
3. Uji statistik <i>Indeks fagositosis</i>	65
4. Uji statistik <i>survival rate</i>	66
5. Uji statistik RPS	67
5.1 Uji T konsentrasi 150 mg/l dan 250 mg/l	67
5.2 Uji T konsentrasi 150 mg/l dan 350 mg/l	67
5.3 Uji T konsentrasi 250 mg/l dan 350 mg/l	68
6. Uji statistik MTD	69
7. Ekstraksi daun mangrove <i>Avicennia alba</i>	70
8. Percobaan pendahuluan (Uji antibakteri).....	71
9. Uji in vivo	73
10. Pengamatan THC	74
11. Pengamatan AF/IF	75

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Budidaya udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) merupakan salah satu spesies udang unggulan di dunia (Manoppo *et al.*, 2006), sekitar 6,4 juta ton atau 30,8 milyar rupiah terjual di tahun 2012 (FAO, 2014). Nilai ekspor udang di Indonesia tahun 2013 memberikan kontribusi sebesar 33,1% atau naik 3,87% dari tahun 2012 (KKP, 2013). Karakteristik yang dimiliki udang vaname menjadi alasan dapat dijadikan salah satu komoditas unggulan budidaya. Udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) memiliki banyak keunggulan, diantaranya relatif tahan terhadap penyakit, pertumbuhan relatif cepat dan lebih toleran terhadap perubahan lingkungan (FAO, 2004).

Pengembangan budidaya udang tidak terlepas dari adanya penyakit, penyakit merupakan kendala utama dalam usaha budidaya karena dapat menimbulkan kematian relatif tinggi. Penyakit *Vibriosis* merupakan penyakit yang mudah timbul pada budidaya udang. Penyakit *Vibriosis* sering menyebabkan kerugian baik pada fase pembenihan maupun pembesaran, akibat kematian yang ditimbulkan (Kharisma *et al.*, 2012).

Udang yang terserang penyakit *Vibriosis* ini memiliki ciri-ciri, nafsu makan menurun, gerakan melambat, tubuh penuh bercak-bercak merah, dan terlihat bercahaya sehingga sering disebut penyakit kunang-kunang atau penyakit udang

menyala pada malam hari (Rozi, 2008). *Vibriosis* merupakan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio* sp., Chatterjee *et al.* (2012) menyatakan beberapa spesies *Vibrio* yang sering dilaporkan menyebabkan infeksi *Vibriosis* diantaranya *V.harveyi*, *V. parahaemolyticus*, *V.alginolyticus*, *V. aguillearum* dan *V. vulnificus*. Diantara jenis bakteri *Vibrio*, yang paling berbahaya adalah *V. harveyi* (Kannapiran *et al.*, 2009). Bakteri *Vibrio harveyi* bersifat oportunistik, yaitu organisme yang dalam keadaan normal ada di lingkungan pemeliharaan yang berkembang menjadi patogen apabila kondisi inang dan lingkungannya memburuk (Widanarni *et al.*, 2012). Infeksi *Vibrio harveyi* masuk melalui mulut, membentuk plak, kemudian menyebabkan kehilangan fungsi dan degradasi alat gerak (Ortega *et al.*, 2008).

Salah satu upaya dalam penanggulangan dan pencegahan penyakit udang adalah melalui peningkatan sistem pertahanan tubuh udang (Johnny *et al.*, 2005). Udang memiliki daya tahan tubuh alami yang bersifat non spesifik terhadap organisme patogen berupa pertahanan fisik (mekanik), kimia, seluler, dan humoral. 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* (Selvin *et al.*, 2004).

Penggunaan bahan alami merupakan salah satu alternatif yang dapat digunakan dalam peningkatan sistem imun dan antibakteri pada udang salah satunya dengan memanfaatkan tanaman mangrove. Beberapa jenis mangrove efektif sebagai anti *Vibrio harveyi*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio lohi*, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio anguillarum* (Oktavianus, 2013). Salah satu jenis mangrove yang memiliki se-

nyawa antibakteri yaitu *Avicennia alba* diketahui bahwa bagian daun *Avicennia alba* memiliki senyawa *saponin* sebagai antibakteri dengan mekanisme kerja dapat menyebabkan kebocoran protein pada enzim dari dalam sel bakteri *Porphyromonas gingivalis* (Madduluri *et al.*, 2011). *Steroid* dapat menyebabkan kebocoran pada lisosom bakteri (Madduluri *et al.*, 2011). Senyawa *tannin* memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri dengan cara menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Nuria *et al.*, 2009).

Oleh karena itu penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efektivitas ekstrak daun mangrove *Avicennia alba* dalam mencegah bakteri *Vibrio harveyi* pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*).

B. Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah mengetahui efektivitas ekstrak daun mangrove *Avicennia alba* dalam mencegah bakteri *Vibrio harveyi* pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*).

C. Manfaat

Manfaat penelitian ini adalah memberikan informasi kepada pembudidaya udang vaname penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio harveyi* dapat dicegah menggunakan ekstrak daun mangrove *Avicennia alba*.

D. Kerangka Pikir

Masalah utama dalam budidaya udang vaname yaitu penyakit yang disebabkan oleh bakteri (Feliatra *et al.*, 2004). Penyakit ini merupakan penyakit yang paling serius dan sering menyebabkan kematian masal pada larva udang vaname dan pembesaran udang vaname, sehingga menyebabkan penurunan produksi budidaya (Feliatra *et al.*, 2004).

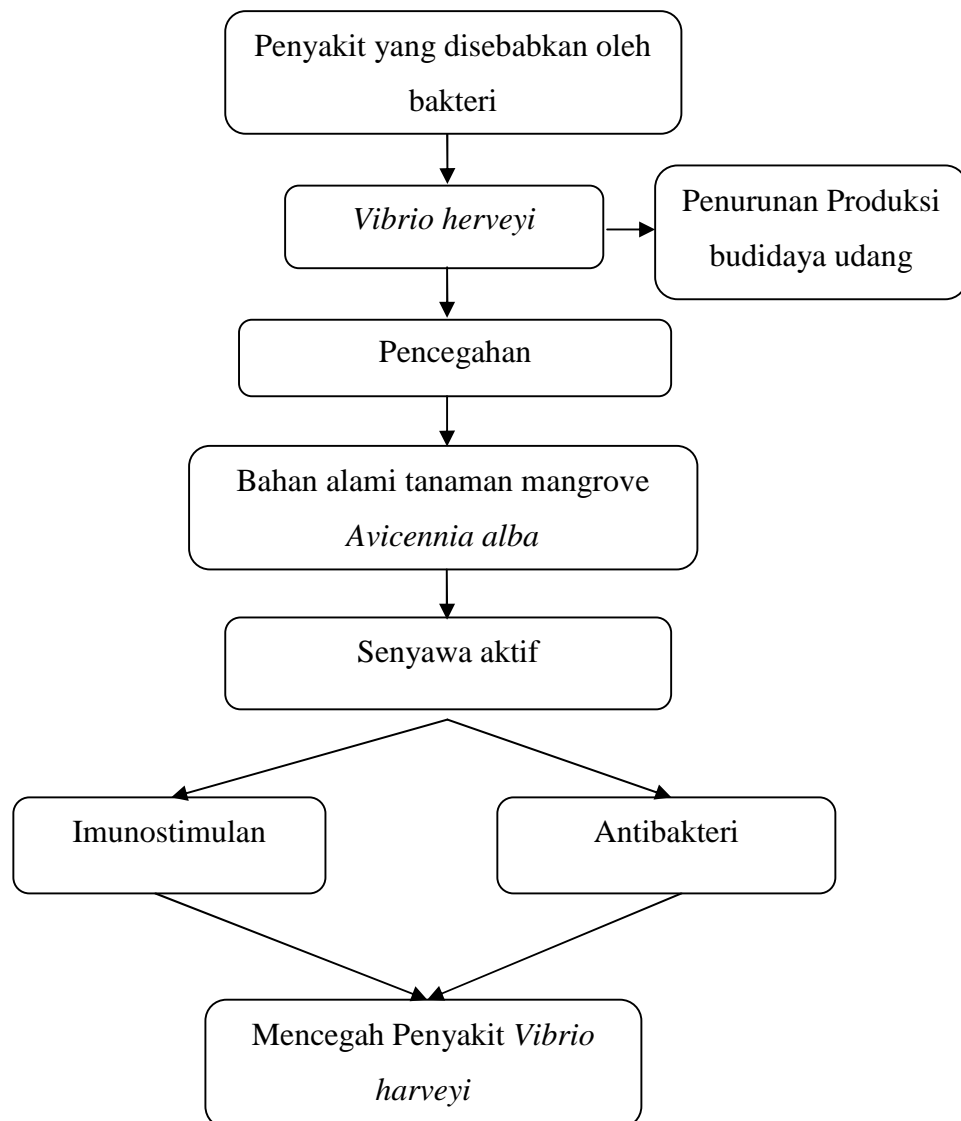
Berbagai macam penelitian telah dilakukan untuk menghambat perkembangan bakteri *Vibrio*, bahan-bahan yang berasal dari alam lebih diutamakan dalam upaya menghambat penyakit *Vibrio* (Oktavianus, 2013). Beberapa jenis tanaman mangrove memiliki senyawa aktif anti inflamasi, anti oksidan, anti-bakteri dan antivirus (Withanawasam, 2002). Salah satu spesies mangrove yang memiliki senyawa aktif yaitu *Avicennia alba* diketahui bahwa bagian daun *Avicennia alba* memiliki *saponin*, *steroid* (Madduluri *et al.*, 2011), *tannin* yang dapat dimanfaatkan sebagai imunostimulan serta sebagai antibakteri (Nuria *et al.*, 2009).

Senyawa *saponin* sebagai antibakteri yaitu dapat menyebabkan kebocoran protein pada enzim dari dalam sel bakteri *Porphyromonas gingivalis* (Madduluri *et al.*, 2011). Senyawa *saponin* merupakan zat aktif yang dapat meningkatkan permeabilitas membran sehingga terjadi hemolisis pada sel. Senyawa *saponin* jika berinteraksi dengan sel bakteri, bakteri tersebut akan pecah atau lisis (Poeloengan *et al.*, 2012).

Steroid dapat menyebabkan kebocoran pada lisosom bakteri (Madduluri *et al.*, 2011). *Steroid* dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang bersifat permeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas

membran menurun serta morfologi membran sel berubah menyebabkan sel rapuh dan lisis.

Senyawa *tannin* memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri dengan cara menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Nuria *et al.*, 2009). Senyawa-senyawa yang ada di dalam daun mangrove *Avicennia alba* diharapkan dapat mencegah perkembangan bakteri *Vibrio harveyi* pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*).



Gambar 1. Kerangka Pikir

E. Hipotesis

Hipotesis yang digunakan dalam penelitian ini yaitu :

H₀ = 0 : Tidak ada pengaruh penambahan ekstrak daun mangrove *Avicennia alba* pada konsentrasi yang berbeda, terhadap aktivitas fagositosis, indeks fagositosis, RPS, MTD, THC, dan SR pada udang vaname

H₁ = 0 : Ada pengaruh penambahan ekstrak daun mangrove *Avicennia alba* pada konsentrasi yang berbeda, terhadap aktivitas fagositosis, indeks fagositosis, RPS, MTD, THC, dan SR pada udang vaname

H₀ = 0 : Tidak ada pengaruh penambahan ekstrak daun mangrove *Avicennia alba* pada konsentrasi yang berbeda, terhadap aktivitas fagositosis, indeks fagositosis, RPS, MTD, THC, dan SR pada udang vaname

H₁ = 0 : Minimal ada satu pengaruh penambahan ekstrak daun mangrove *Avicennia alba* pada konsentrasi yang berbeda, terhadap aktivitas fagositosis, indeks fagositosis, RPS, MTD, THC, dan SR pada udang vaname

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Mangrove *Avicennia alba*

Hutan mangrove merupakan salah satu bentuk ekosistem hutan yang terdapat di daerah pasang surut di wilayah pesisir, pantai, dan pulau-pulau kecil serta merupakan sumber daya alam yang potensial (Halidah, 2010). Hutan mangrove yang paling dekat dengan laut sebagian besar didominasi oleh spesies *Avicennia* sp. Tumbuhan yang tumbuh pada daerah tersebut biasanya dapat beradaptasi dengan salinitas tinggi (Kordi, 2012).

Mangrove *Avicennia alba* memiliki akar nafas yang panjang dan rapat seperti pensil muncul ke atas lumpur di sekeliling pangkal batangnya, akar percebangan yang tumbuh dengan jarak teratur secara vertikal dari akar horizontal yang terbenam di dalam tanah. Bagian atas permukaan daun ditutupi bintik-bintik kelenjar berbentuk cekung (Wibowo, 2009).



Gambar 2: Daun Mangrove *Avicennia alba*
Sumber : (Dokumentasi pribadi)

Tanaman *Avicennia alba* mengandung senyawa aktif yang dapat dimanfaatkan, seperti pada daun dan kulit batang mengandung senyawa aktif berupa *saponin*, *steroid* (Madduluri *et al.*, 2011), *tannin* yang dapat dimanfaatkan sebagai imunostimulan serta sebagai antibakteri (Nuria *et al.*, 2009). Senyawa *tannin* merupakan senyawa *flavonoid*, karena dilihat dari strukturnya yang memiliki 2 cincin aromatik yang diikat oleh tiga atom karbon. Kedudukan gugus hidroksil fenol bebas pada inti *flavonoid*. *Tannin* mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai anti-diare, antibakteri dan anti oksidan (Hayati *et al.*, 2010). Senyawa *tannin* memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri dengan cara menghambat enzim *reverse* transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Nuria *et al.*, 2009). Menurut Sari *et al.*, (2011), senyawa *tannin* merusak polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna, sehingga sel bakteri menjadi lisis baik dari tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati.

Senyawa *saponin* merupakan zat yang apabila berinteraksi dengan dinding bakteri maka dinding tersebut akan pecah atau lisis (Pratiwi, 2008). Mekanisme kerja dari senyawa *saponin* adalah menurunkan tegangan permukaan yang mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar (Nuria *et al.*, 2009). Karlina *et al.*, (2013), saat tegangan permukaan terganggu zat antibakteri akan mudah masuk ke dalam sel dan akan mengganggu metabolisme hingga akhirnya terjadilah kematian bakteri.

Senyawa *steroid* memiliki potensi sebagai senyawa antibakteri. Mekanisme kerja dari senyawa *steroid/triterpenoid* yaitu menghambat pertumbuhan bakteri, dengan mekanisme penghambatan terhadap sintesis protein karena terakumulasi

dan menyebabkan perubahan komponen-komponen penyusun sel bakteri. Sifat senyawa *steroid* sendiri yaitu mudah larut dalam lipid, sifat ini yang mengakibatkan senyawa tersebut lebih mudah menembus dinding sel bakteri gram positif dan bakteri gram negatif (Rosyidah *et al.*, 2010).

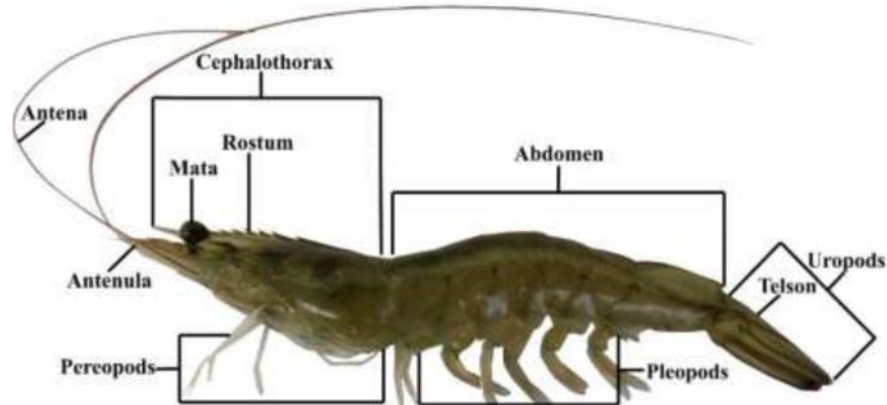
B. Udang Vaname

Klasifikasi udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) menurut Wyban *et al.* (1991) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Sub kingdom	: Metazoa
Filum	: Arthropoda
Subfilum	: Crustacea
Kelas	: Malacostraca
Subkelas	: Eumalacostraca
Superordo	: Eucarida
Ordo	: Decapoda
Subordo	: Dendrobrachiata
Familia	: Penaeidae
Sub genus	: <i>Litopenaeus</i>
Spesies	: <i>Litopenaeus vannamei</i>

Wyban *et al.* (1991) menjelaskan bahwa udang vaname memiliki tubuh berbuku-buku dan aktivitas berganti kulit luar (*eksoskeleton*) secara periodik (*moulting*). Bagian tubuh udang vaname sudah mengalami modifikasi sehingga

dapat digunakan untuk keperluan makan, bergerak, membenamkan diri ke dalam lumpur (*burrowing*), serta memiliki organ sensor seperti pada antena dan antenula.



Gambar 3 : Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*)
Sumber : (Elovaara, 2001)

Kordi *et al.*, (2007) juga menjelaskan bahwa kepala udang vaname terdiri dari antena, antenula, dan 3 pasang maxilliped. Kepala udang vaname juga dilengkapi dengan 3 pasang maxilliped dan 5 pasang kaki berjalan (periopoda). Maxilliped sudah mengalami modifikasi dan berfungsi sebagai organ untuk makan. Pada ujung peripoda beruas-ruas yang berbentuk capit (*dactylus*). *Dactylus* ada pada kaki ke-1, ke-2, dan ke-3. Abdomen terdiri dari 6 ruas. Pada bagian abdomen terdapat 5 pasang (pleopoda) kaki renang dan sepasang uropods (ekor) yang membentuk kipas bersama-sama *telson* (ekor) (Mujiman *et al.*, 2003).

Bentuk *rostrum* udang vaname memanjang, langsing, dan pangkalnya hampir berbentuk segitiga. *Uropod* berwarna merah kecoklatan dengan ujungnya kuning kemerah-merahan atau sedikit kebiruan, kulit tipis transparan. Warna tubuhnya putih kekuningan terdapat bintik-bintik coklat dan hijau pada ekor. Udang betina dewasa tekstur punggungnya keras, ekor (*telson*) dan ekor kipas (*uropod*)

berwarna kebiru-biruan, sedangkan pada udang jantan dewasa memiliki *plasma* yang simetris. Spesies ini dapat tumbuh mencapai panjang tubuh 23 cm (Subaidah, 2006).

Alat pencernaan udang berupa mulut yang terletak pada bagian anterior tubuhnya, sedangkan esophagus, lambung, usus, dan anus terletak di bagian posterior. Hewan ini memiliki kelenjar pencernaan atau hati yang terletak di kepala, dada di kedua sisi abdomen. Sisa pencernaan selain dibuang melalui anus, juga dibuang melalui alat ekskresi disebut kelenjar hijau yang terletak di dalam kepala (Treece *et al.*, 2000).

Sistem pencernaan udang sederhana terdiri dari mulut, esophagus, perut (*proventriculus*), usus dan anus. Pada mulut dilengkapi dengan sepasang mandibula yang berfungsi sebagai penghancur makanan. *Proventriculus* dilengkapi dengan chitin, sebagai tempat menghancurkan makanan. Dari *proventriculus* makanan melewati usus dan di sini mengalami penyerapan makanan. Kemudian sisa-sisa makan selanjutnya dibuang ke anus (Sunarto *et al.*, 2003).

Pertahanan tubuh udang masih sangat primitif yang hanya memiliki sel memori, sehingga sistem imunitas udang sangat lemah. Berbeda dengan hewan vertebrata yang sudah memiliki antibodi spesifik. Udang hanya memiliki sistem kekebalan tubuh alami, daya tahan tubuh udang secara alami berupa pertahanan tubuh fisik, kimia, seluler, dan humoral. Daya tahan tubuh alami ini dipengaruhi oleh faktor genetik dan lingkungan (Ridlo *et al.*, 2012).

Sistem imun udang tergantung pada proses pertahanan non spesifik sebagai pertahanan terhadap infeksi patogen (Lee *et al.*, 2004). Pertahanan pertama terhadap penyakit udang dilakukan oleh hemosit melalui fagositosis, enkapsulasi dan

nodule formation. Aktivitas fagositosis dapat ditingkatkan dengan mengaktifkan sistem prophenol oksidase (Pro-PO) yang berada dalam hemosit semi granular dan granular (Ridlo *et al.*, 2012).

C. Mekanisme Penghambat Penyakit

Sistem imunitas pada udang yaitu sistem imun non spesifik, dimana sistem imunitas udang termasuk dalam sistem imun yang masih sangat primitif (Ridlo *et al.*, 2012). Sistem kekebalan tubuh udang yang tergantung pada sistem imun non spesifik sebagai bentuk pertahanan terhadap infeksi patogen (Lee *et al.*, 2004).

Pertahanan pertama terhadap penyakit udang dilakukan oleh hemosit melalui fagositosis, enkapsulasi dan *nodule formation* (Ridlo *et al.*, 2012). Hemosit merupakan faktor yang penting dalam sistem pertahanan seluler yang bersifat non spesifik. Kemampuan hemosit dapat dilihat atau diamati dalam aktivitas fagositosis, aktivitas fagositosis yaitu kemampuan sel respon imun non spesifik untuk memfagositosis agen penyakit yang masuk ke dalam tubuh (Amrillah *et al.*, 2015). Aktivitas fagositosis dapat meningkat saat terjadi infeksi, hal tersebut menunjukkan dari pertahanan tubuh yang bersifat seluler. Meningkatnya pertahanan tubuh udang dapat dilihat dari meningkatnya aktivitas fagositosis sel-sel hemosit (Putri *et al.*, 2009).

Fagositosis merupakan proses pencernaan bahan partikel terutama bakteri ke dalam sitoplasma sel darah. Pola peningkatan presentase indeks fagositosis merupakan fungsi dari peningkatan total hemosit maupun presentasi jenis hemosit baik pada hialin, granular, maupun semi granular (Amrillah *et al.*, 2015).

Fagositosis merupakan reaksi yang sering timbul dalam pertahanan seluler udang. Mekanisme kerja fagositosis dimulai dari pelekatan dan penempelan partikel ke dalam sel fagositosis. Fagositosis tersebut akan menjadi fagosom dan akan menyatu dengan lisosom. Sel granular merupakan tipe sel terbesar dengan nukleus berukuran relatif kecil dan aktif dalam penyimpanan dan pelepasan *prophenooxydase system* dan *cytotoxicity*. Sel hialin merupakan sel terkecil dengan rasio nukleus sitoplasma tinggi dan granula sitoplasma yang relatif sedikit, sel ini berperan dalam proses fagositosis. Sel semi granular merupakan tipe sel diantara sel granular dan sel hialin dan berperan aktif dalam proses enkapsulasi (Amrillah *et al.*, 2015).

D. *Vibrio harveyi*

Vibriosis merupakan penyakit bakterial yang menyerang udang, beberapa jenis bakteri yang menyebabkan penyakit *Vibriosis* yaitu *Vibrio alginolyticus* dan *Vibrio harveyi* (Riniatsih *et al.*, 2012). Bakteri *Vibrio harveyi* termasuk genus *Vibrio*, memiliki ciri-ciri sebagai berikut: bentuk koloni bulat, elevasi cembung, berwarna krem. Bakteri *Vibrio harveyi* bersifat gram negatif, sel tunggal berbentuk batang pendek yang bengkok (koma) atau lurus, motil, oksidase positif, tidak membentuk H₂S, tidak membentuk gas dari fermentasi terhadap D-glukosa, tumbuh pada media dengan penambahan 1-6% NaCl, dan mempunyai flagella pada salah satu kutub selnya (Evan, 2009).

Infeksi bakteri *Vibrio harveyi* pada udang bisa melalui insang, kulit, dan hepatopankreas. Gejala klinis yang telah terlihat pada udang yang terserang penyakit ini akan tampak dengan perubahan warna kulit menjadi kusam atau pucat, luka se-

perti bekas terpotong pada ekor atau rostrum dengan warna merah seperti terbakar, tubuh udang menjadi lunak, dan nafsu makan berkurang (Septiani, 2012). Jika dilakukan pembedahan dan dilakukan pengamatan akan tampak pembengkakan dan kerusakan pada organ, seperti insang dan hepatopankreas. Keberadaan bakteri dalam saluran pencernaan udang atau pada organ yang berfungsi sebagai proses pencernaan akan mengganggu sistem kerja pencernaan udang, karena bakteri patogen dapat mengurai berbagai polisakarida dan karbohidrat, serta mengambil nutrisi pada tubuh udang sehingga dapat menyebabkan kematian pada tubuh udang (Austin *et al*, 2006).

III. METODOLOGI PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September 2017 – Juni 2018 di Laboratorium Budidaya Perikanan Jurusan Perikanan dan Kelautan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.

B. Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian mengenai efektivitas ekstrak daun mangrove *Avicennia alba* untuk mencegah penyakit *Vibrio harveyi* pada udang vaname dapat dilihat pada (Tabel 1).

Tabel 1. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian

Alat	Kegunaan
Akuarium	Wadah pemeliharaan hewan uji
Selang aerasi	Menyalurkan aerasi
Batu aerasi	Mengoptimalkan oksigen pada kontainer
Spuil 1 cc	Pengambilan sampel <i>hemolymph</i> dan perlakuan ujiantang
Gelas ukur	Untuk menakar volume larutan yang akan digunakan
Cawan petri	Kultur bakteri dan uji antibakteri
<i>Ice box</i>	Menyimpan sampel <i>hemolymph</i>
Serokan	Sampling udang
Waring	Menutup permukaan akuarium dan tandon
Mikropipet	Memindahkan larutan
Timbangan	Untuk menakar bahan yang akan digunakan
Erlenmeyer	Pencampuran larutan dan bahan
Plastik tahan panas	Membungkus alat saat di autoclaf
Inkubator	Menginkubasi mikroba pada suhu terkontrol
Spatula	Mengambil bahan saat proses menimbang
Kaca preparat	Meletakkan objek yang akan diamati
Cover glass	Menutup objek di kaca preparat
DO meter	Mengukur kadar oksigen terlarut dalam air
pH meter	Mengukur kadar keasaman
Refraktometer	Mengukur salinitas media hidup hewan uji
Rotari eavaporator	Mengekstraksi daun mangrove
Botol vial	Wadah ekstrak
Tabung reaksi	Kultur bakteri
Kertas cakram	Uji anti bakteri
Pinset	Mengambil alat yang berukuran kecil

Sedangkan bahan-bahan yang digunakan untuk penelitian terdapat pada Tabel 2.

Tabel 2. Bahan-bahan dalam penelitian

Bahan	Kegunaan
Udang vaname	Hewan uji dalam penelitian
Air laut steril	Pergantian air sebagai media hidup
Aquadess	Pelarut dalam pembuatan media
Metanol	Pelarut dalam ekstrak daun mangrove
Etil	Pelarut dalam ekstrak daun mangrove
Heksan	Pelarut dalam ekstrak daun mangrove
NA (Nutrient agar)	Media padat sebagai media tumbuh bakteri
NB (Nutrient borth)	Media cair sebagai media tumbuh bakteri
Formalin 1 %	Melemahkan bakteri <i>Vibrio harveyi</i>
Alkohol 70 %	Perendaman preparat
Safranin 10%	Pewarnaan preparat pada pengamatan AF/IF
PBS (<i>Phospath Buffered Salin</i>)	Pengenceran <i>Hemolymph</i>

C. Rancangan Penelitian

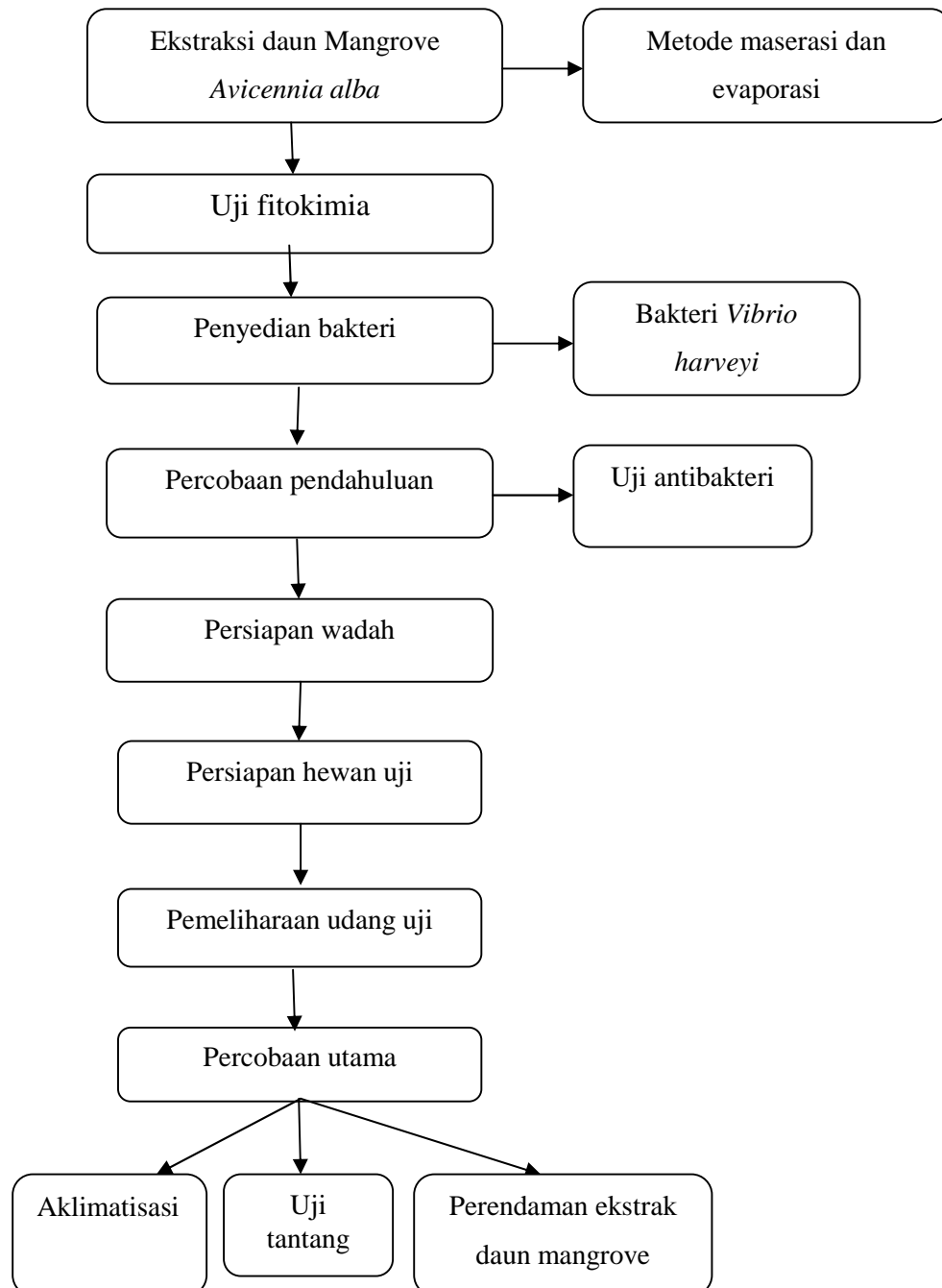
Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan rancangan penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL), yang terdiri atas lima perlakuan dengan konsentrasi ekstrak berbeda dan tiga ulangan individu dalam populasi (Tabel 3).

Tabel 3. Perlakuan dengan konsentrasi ekstrak berbeda

Kontrol positif (K+)	Tanpa perendaman ekstrak mangrove <i>Avicennia alba</i> pada udang vaname dan diuji tantang dengan <i>Vibrio harveyi</i>
Kontrol negatif (K-)	Tanpa Perendaman ekstrak mangrove <i>Avicennia alba</i> pada udang vaname dan diuji tantang dengan larutan PBS
Perlakuan A :	Perendaman ekstrak daun mangrove <i>Avicennia alba</i> pada Udang vaname sebanyak 150 mg/l dan diinjeksi dengan <i>Vibrio harveyi</i>
Perlakuan B :	Perendaman ekstrak mangrove <i>Avicennia alba</i> pada Udang vaname sebanyak 250 mg/l dan diinjeksi dengan <i>Vibrio harveyi</i>
Perlakuan C :	Perendaman ekstrak mangrove <i>Avicennia alba</i> pada Udang vaname sebanyak 350 mg/l dan diinjeksi dengan <i>Vibrio harveyi</i>

D. Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian meliputi ekstraksi daun mangrove *Avicennia alba*, uji fitokimia, penyediaan bakteri, percobaan pendahuluan, persiapan wadah, persiapan hewan uji, pemeliharaan udang uji dan percobaan utama (Gambar, 4)



Gambar 4. Prosedur penelitian

1. Ekstraksi Daun Mangrove

Mangrove yang digunakan yaitu mangrove *Avicennia alba* yang diambil dari Pulau Pasaran, Kecamatan Teluk Betung Barat, Bandar Lampung. Pembuatan ekstrak daun mangrove sebagai berikut:

1. Daun mangrove dicuci hingga bersih menggunakan air mengalir.
2. Daun mangrove dikeringkan dengan menggunakan tisu.
3. Daun mangrove dipotong kecil-kecil dan ditimbang sebanyak 100 gr.
4. Daun mangrove yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dimaserasi dengan metode maserasi bertingkat menggunakan 3 jenis pelarut yaitu n-heksan, etil asetat, dan metanol. Jenis pelarut yang digunakan dibedakan berdasarkan tingkat kepolaran dari senyawa-senyawa yang terkandung di dalam daun mangrove *Avicennia alba* (Cendrianti *et al.*, 2013).
5. Pergantian pelarut dilakukan setelah perendaman sebelumnya berubah warna menjadi bening.
6. Proses ekstraksi dilanjutkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 37⁰C.
7. Ekstrak yang didapat dimasukkan ke dalam botol *vial* dan disimpan pada suhu dingin.

2. Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang ada di daun mangrove *Avicennia alba* metode yang dilakukan dalam uji fitokimia (Tabel 4)

Tabel 4. Metode uji fitokimia

No	Jenis Uji	Perlakuan	Hasil Pengamatan
1.	Saponin	0,5 ml sampel + 5 ml aquades kemudian dikocok selama 30 detik	Terdapat busa
2	Steroid	0,5 ml sampel + 5 ml asam asetat glacial + 0,5 ml H ₂ SO ₄	Warna sampel berubah menjadi biru atau ungu
3	Terpenoid	0,5 ml sampel + 5 ml asam asetat glacial + 0,5 ml H ₂ SO ₄	Warna sampel berubah menjadi merah atau kuning
4	Tanin	1 ml sampel + 3 tetes larutan FeCl ₃ 10%	Warna larutan hitam kebiruan
5	Alkaloid	0,5 ml sampel + 5 tetes kloroform + 5 tetes pereaksi Mayer (1 gr KI dilarutkan dalam 20 ml aquades, ditambahkan 0,271 gr HgCl ₂ hingga larut)	Warna larutan putih kecokelatan
6	Flavonoid	0,5 ml sampel + 0,5 gr serbuk Mg + 5 ml HCl pekat (tetes demi setetes)	Warna larutan merah / kuning dan terdapat busa

3. Penyediaan Bakteri *Vibrio harveyi*

Untuk penyediaan *Vibrio harveyi* dilakukan terlebih dahulu menyiapkan media agar NA padat sebagai media hidup *Vibrio harveyi*. Setelah media NA padat selesai, selanjutnya bakteri *Vibrio harveyi* diambil dari stok kultur murni lalu diinokulasi pada media agar yang diberi label pada setiap tabung reaksi. Isolat bakteri diambil menggunakan jarum ose yang telah dipanaskan pada api bunsen.

Bakteri yang telah digoreskan kemudian diinkubasi selama 24 jam, selanjutnya bakteri akan dikultur pada media NB yang akan digunakan sebagai uji pendahuluan dan ujiantang.

4. Percobaan Pendahuluan

Percobaan pendahuluan dilakukan sebagai berikut:

1. Alat dan bahan disterilisasi dengan menggunakan autoklaf.
2. Pembuatan media NA yang akan digunakan sebagai media tumbuh bakteri
3. Bakteri *Vibrio harveyi* diremajakan dalam media miring.
4. Ekstrak yang akan digunakan dengan dosis 150 mg/l, 200 mg/l, 250 mg/l, 300 mg/l, dan 350 mg/l.
5. Cawan petri yang telah berisi media NA diberi bakteri *Vibrio harveyi* dengan kepadatan 10^7 CFU/ml sebanyak 20 μ l dan diratakan menggunakan *spreader*.
6. Kertas cakram yang telah disterilisasi lalu diberi larutan metanol untuk kontrol (-), antibiotik untuk kontrol (+), dan ekstrak daun mangrove dengan dosis 150 mg/l, 200 mg/l, 250 mg/l, 300 mg/l, dan 350 mg/l
7. Kertas cakram diletakkan kedalam media yang telah berisi *Vibrio harveyi*
8. Kemudian diinkubasi selama 24 dan 48 jam selanjutnya diukur zona bening yang terbentuk menggunakan jangka sorong.

5. Persiapan Wadah Uji

Wadah uji yang digunakan adalah akuarium berukuran 60 x 40 x 50 cm sebanyak 15 buah. Wadah yang akan digunakan disterilisasi dengan direndam menggunakan air tawar selama satu hari kemudian dibilas dengan menggunakan kaporit 30 ppm. Wadah yang telah dibilas dengan kaporit kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari dan wadah diisi air laut yang telah steril sebanyak 2/3 dari volume total wadah dengan catatan wadah sudah tidak berbau kaporit.

Air laut disterilisasi dengan cara, air laut dimasukkan kedalam wadah tandon, kemudian diberi kaporit 30 ppm dan direndam selama 12 jam. Setelah direndam menggunakan kaporit kemudian dinetralkan dengan Na Thiosulfat 15 ppm, sebelum digunakan dilakukan pengontrolan kadar klorin menggunakan *chlorin test*, kadar klorin yang aman pada air budidaya yaitu 0 ppm (Damayanti, 2011).

6. Persiapan Hewan Uji

Udang vaname yang digunakan yaitu udang dalam stadia dewasa, dengan rata-rata bobot 10 ± 2 g. Jumlah udang yang digunakan dalam setiap perlakuan yaitu 10 ekor, dengan setiap perlakuan terdapat 3 ulangan. Udang yang akan digunakan terlebih dahulu diaklimatisasi selama 7 hari sebelum diuji cobakan hal ini dilakukan sebagai adaptasi udang dengan lingkungan hidup yang baru. Setelah masa aklimatisasi selesai udang dapat diberi perlakuan.

7. Pemeliharaan udang uji

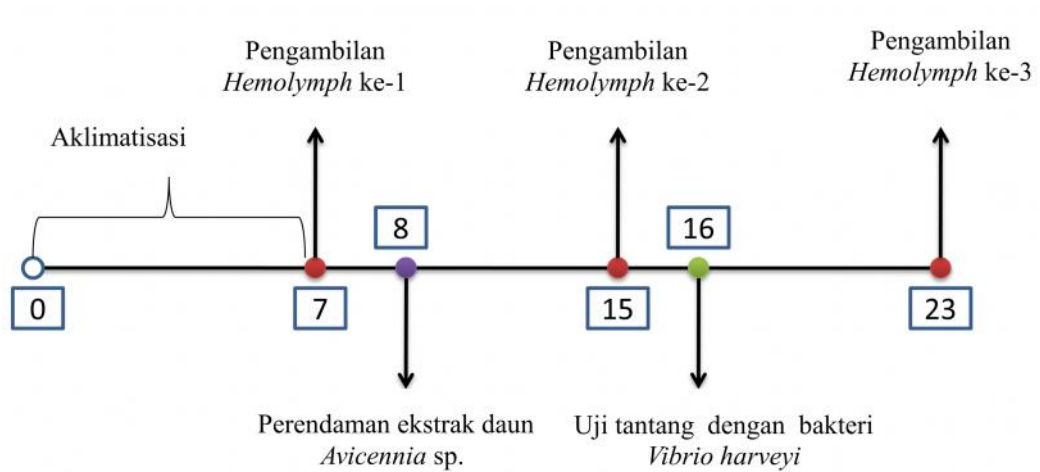
Pemeliharaan udang uji dilakukan selama 23 hari, pada masa pemeliharaan udang uji diberikan pakan berupa pelet, pemberian pakan dilakukan 4 kali dalam sehari pada kisaran pukul 06.30–07.00, 11.30–12.00, 16.30–17.00, dan 21.30–22.00. Pemberian aerasi pada masa pemeliharaan dilakukan agar suplai oksigen tercukupi. Pergantian air dilakukan sebanyak 30-50% setiap hari dilakukan bersamaan dengan penyiponan untuk membuang kotoran sisa pakan.

8. Percobaan Utama

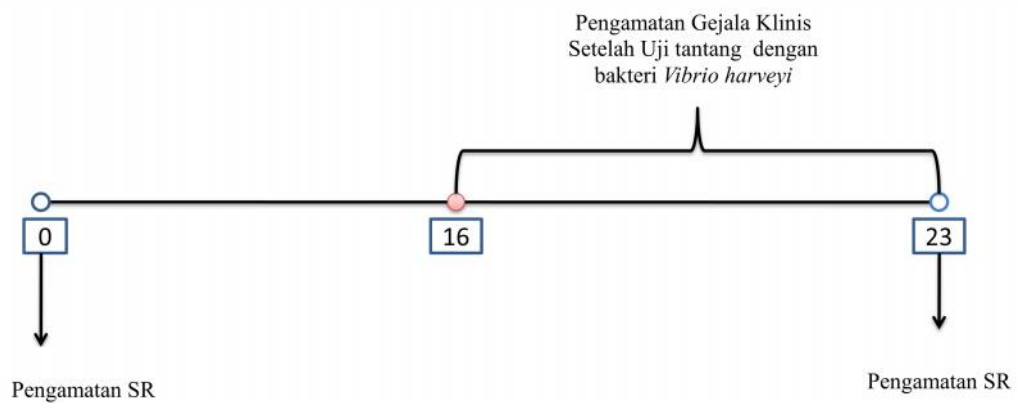
Percobaan utama yang akan dilakukan sebagai berikut:

1. Udang diaklimatisasi pada hari ke- 0 hingga hari ke- 7.
2. Udang yang telah diaklimatisasi kemudian direndam menggunakan ekstrak daun mangrove *Avicennia alba* pada hari ke- 8 selama 15 menit.
3. Udang yang telah direndam ekstrak mangrove kemudian dikembalikan ke dalam wadah pemeliharaan dan dipelihara selama 7 hari.
4. Selanjutnya udang diinfeksi bakteri *Vibrio harveyi* pada hari ke- 16 dengan kepadatan bakteri 10^7 CFU/ml melalui injeksi secara intramoskular.
5. Udang yang telah diinfeksi bakteri *Vibrio harveyi* dipelihara selama 7 hari.
6. Pengambilan dan pengamatan THC, aktivitas fagositosis/indeks fagositosis, diamatai pada hari ke- 7, 15 dan 23.

7. Gejala klinis diamati setelah uji tantang dengan bakteri *Vibrio harveyi* yaitu pada hari ke- 16 sampai hari ke 23. Pengamatan survival rate (SR) pada hari ke- 0 dan hari ke- 23.



Gambar 5. Alur Percobaan Utama



Gambar 6. Alur Pengamatan SR dan Gejala Klinis

9. Parameter Uji

9.1 Pengambilan *Hemolymph*

Prosedur dalam pengambilan *hemolymph* mengacu pada Amanah, (2017) sebagai berikut:

1. *Hemolymph* diambil sebanyak 3 kali sebanyak 0,1 ml pada hari ke 7, 15, dan 23.
2. *Hemolymph* diambil dari 3 ekor udang pada masing-masing perlakuan dan ulangan secara acak

9.2 *Total Hemocyte Count (THC)*

Pengamatan THC dilakukan sesuai dengan Ridlho *et al.* (2012) sebagai berikut:

1. *Hemolymph* yang telah diambil kemudian diencerkan dengan PBS sebanyak 20 μ l
2. Sampel yang telah diencerkan diambil menggunakan mikropipet dan diletakkan pada permukaan *hemocytometer*.
3. Kemudian diamati dibawah mikroskop
4. Dihitung dengan menggunakan rumus:

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

9.3 Aktivitas Fagositosis/*Indeks Fagositosis* (AF/IF)

Aktivitas fagositosis dan *indeks fagositosis* diamati dengan mengacu pada Berger *et al.* (2012)

1. *Hemolymph* diambil sebanyak 20 μ l dan di tambahkan 10 μ l suspensi bakteri *Stapylococcus aureus* yang telah dilemahkan dengan formalin 1% selama 24 jam.
2. *Hemolymph* yang telah ditambahkan suspensi bakteri diinkubasi selama 20 menit.
3. Diambil 5 μ l untuk dibuat ulasan diatas gelas preparat dengan ditambahkan 1 tetes *hemolymph*.
4. Ujung gelas preparat ditekan menggunakan cover glass dan didorong hingga keujung dan dikeringkan.
5. Preparat yang telah kering direndam dalam alkohol 70% selama 20 menit dan dibilas dengan NaCl 0,85% lalu dikeringkan.
6. Selanjutnya preparat diwarnai dengan safranin 10% selama 20 menit dan dikeringkan.
7. Preparat diamati dibawah mikroskop dan dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

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

$$IF = c/a \text{ (dalam 100 sel)}$$

Keterangan :

a = Jumlah sel fagositosis (Sel/ml)

b = Jumlah keseluruhan sel yang diamati (sel/ml)

c = Jumlah bakteri yang difagosit (sel/ml)

9.4 *Relative percent survival (RPS)*

Relative percent survival (RPS) dihitung untuk mengetahui efektivitas dari ekstrak daun mangrove *Avicennia alba* dalam menghambat penyakit *Vibrio harveyi* pada udang vaname. RPS dihitung pada hari ke 18 setelah ujiantang, menggunakan rumus mengacu pada (Zahra *et al.*, 2017) :

$$\text{RPS} = \left(1 - \left[\frac{Mv}{Mc} \right] \right) \times 100\%$$

Keterangan :

RPS = Presentase kelangsungan hidup (%)

Mv = Mortalitas udang perlakuan (%)

Mc = Mortalitas udang kontrol (%)

9.5 *MTD (Mean Time to Death)*

Rerata waktu kematian (MTD) dihitung dengan waktu kematian udang pada jam ke- dikalikan dengan jumlah udang uji yang mati pada jam ke-i dan dibagi dengan jumlah udang uji yang mati pada jam ke-i yang menggunakan rumus:

$$\text{MTD} : \frac{\sum_{i=1}^n a_i b_i}{\sum_{i=1}^n b_i}$$

Keterangan :

MTD = *Mean Time to Death* (rerata waktu kematian)

a_i = Waktu kematian pada jam ke-i (jam)

b_i = Jumlah udang uji yang mati pada jam ke-i (ekor)

9.6 Kelangsungan Hidup (*Survival Rate / SR*)

Kelangsungan hidup (SR) merupakan tingkat kehidupan udang pada priode waktu tertentu dibandingkan dengan populasi awal. Kelangsungan hidup (SR) menurut Effendi, (2004) dapat dihitung dengan rumus :

$$SR = \frac{Nt}{N0} \times 100 \%$$

Keterangan :

SR = kelangsungan hidup (%)

Nt = jumlah udang yang hidup diakhir penelitian (ekor)

N0 = jumlah total udang awal penebaran (ekor)

9.7 Gejala Klinis

Gejala klinis diamati dengan melihat perubahan abnormal yang terjadi. Gejala klinis udang diamati setiap 6 jam sekali setelah pemberian ekstrak daun mangrove *Avicenia alba* dan setelah uji tantang (Rahmawati, 2017). Pengamatan dilakukan dengan melihat perubahan tingkah laku serta ciri-ciri udang yang terkena *Vibriosis* ditandai dengan munculnya warna kemerahan pada telson dan kaki renang (pleopod). Gejala klinis yang lain adalah terlihat seluruh tubuh udang vaname berwarna merah serta usus udang yang terlihat kosong yang diikuti perubahan hepatopankreas yang berubah warna lebih gelap Ningrum *et al.* (2012).

Kemudian dilakukan skoring pada udang yang menunjukkan gejala klinis terkena *Vibriosis*, Skoring gejala klinis mengacu pada Lightner *et al.* (1998) yang telah di modifikasi yaitu:

Skor 1 : tingkah laku abnormal seperti hilang nafsu makan dan hilang keseimbangan.

Skor 2 : kaki renang, kaki jalan, dan ekor memerah

Skor 3 : nekrosis pada ekor

Skor 4 : melanosis segmen tubuh udang

9.8 Pemeriksaan Kualitas air

Selama pemeliharaan udang dilakukan pengukuran kualitas air dari wadah pemeliharaan diukur pada hari ke- 0 pemeliharaan dan hari ke- 23 pada akhir pemeliharaan. Parameter kualitas air yang diamati meliputi suhu, salinitas, DO, dan pH.

9.9 Analisis Data

Analisis data dengan parameter RPS (*Relative percent survival*) menggunakan uji T, parameter THC (*Total Hemolymph Count*), AF/IF (Aktivitas fagositosis/*Indeks fagositosis*) menggunakan uji ANOVA *Repeated Measure* dengan selang kepercayaan 95%, MTD (*Mean Time to Death*), kelangsungan hidup (SR) dianalisis dengan menggunakan uji ANOVA dengan selang kepercayaan 95%, Apabila hasil menunjukkan perbedaan nyata maka akan diuji lanjut dengan uji Duncan, menggunakan software SPSS 22.0. Parameter kualitas air dianalisis secara deskriptif, sedangkan parameter gejala klinis dianalisis dengan metode skoring.

V. PENUTUP

A. Kesimpulan

Ekstrak daun Mangrove *Avicennia alba* mampu mencegah penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio harveyi*, dengan hasil paling baik pada perlakuan B (250 mg/l) dimana dosis tersebut dapat meningkatkan *Total Hemolymph Count* (THC), *Aktivitas Fagositosis* (AF), *Indeks Fagositosis* (IF) paling tinggi dibandingkan dengan perlakuan yang lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams, S.M. (1990). Status and Biological Indicator for Evaluating the Effects of Stress on Fish. Biological indicator of stress in fish. *American fisheries symposium*, 11(3), 1- 8.
- Afifudin, A. N. 2009. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) pada Aktifitas dan Kapasitas Makrofag Peritoneal Ayam Petelur (*Gallus* sp.). *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Aliffudin, M. (2002). Imunostimulan pada Hewan Akuatik. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 1(2), 87-92.
- Amanah, B. (2017). Ketahanan Udang Vanname (*Litopenaus vannamei*, Boone 1931) yang Diberi Probiotik *Bacillus* sp. D2.2 Terhadap Infeksi *Vibrio harveyi*. *Skripsi*. Universitas Lampung.
- Amrillah, A. M., Widyarti, S., & Kilawati, Y. (2015). Dampak Stres Salinitas Terhadap Prevalensi *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) dan Survival Rate Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) pada Kondisi Terkontrol. *Research Journal of Life Science*, 2(2), 110-123.
- Arifuddin, Sukenda., & Dana, D. (2004). Pengaruh Bahan Aktif Hidrokuinon dari Buah *Sonneratia caseolaris* terhadap Parameter *Hemolymph* Udang Windu, *Penaeus monodon* Fab., yang Diinfeksi Secara Buatan dengan *Vibrio harveyi*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 3(1), 23-28.
- Austin, B., & Zhang, X, H. (2006) . *Vibrio harveyi* A Significant Pathogen Of Marine Vertebrates and Invertebrates. *Letters In Applied Microbiology*, 43(1), 119-124.
- Berger, J. M., & Jarcova. (2012). Phagocytosis of Insect Haemocytes as a New Alternative Model. *Journal of Applied Biomedicine*, 10(1), 35-40.
- Braak, Kvan de. (2002). Haemocytic Defense in Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*). *Thesis*. Wageningen University. Netherland.
- Cendrianti, F., Muslichah, S., & Ulfa, E. U. (2013). Uji Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak n-Heksana, Etil Asetat, dan Etanol 70% Daun

Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) pada Mencit Jantan (*Hiperurisemia*). *Pustaka Kesehatan*, 2(2), 205-210.

- Chang, P. S., Wang, Y. C., Lo, C. F., & Kou, G. H. (2001). Infection of *White Spot Syndrome Virus* Associated non-occluded Baculovirus in Cultured and Wild Shrimps. *In Second International Conference on the Culture of Penaeid Prawns and Shrimps, SEAFDEC, Iloilo City, Philippine*, 1(9), 9-13.
- Chatterjee, S., & Haldar, S. (2012). *Vibrio* Related Diseases In Aquaculture and Development of Rapid and Accurate Identification Methods. *Journal of Marine Science Research and Development S*, 1(1), 1-7.
- Damayanti. (2011). Pemberian Sinbiotik dengan Dosis Berbeda pada Pakan Udang Vaname Untuk Pencegahan IMNV (*Infection myonecrosis Virus*). *Skripsi*. Institute Pertanian Bogor.
- Effendi, I. (2004). *Pengantar Akuakultur*. Penebar Swadaya. Jakarta, 188 hal.
- Elovaara, A., K. (2001). Shrimp Farming Manual Practical Technology for Intensive Commercial Shrimp Production. *Aquaculture Journal United States Of America*, 3(4), 1-40.
- Evan, Y. (2009). Uji Ketahanan Beberapa Strain Larva Udang Galah (*Macrobrachium rosenbergii*) Terhadap Bakteri *Vibrio harveyi*. *Skripsi*. Teknologi dan Manajemen Perikanan Budidaya, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2004). *Introductions and Movement of Penaeus vannamei and Penaeus stylirostris in Asia and the Pacific*. FAO Regional Office for Asia and the Pacific Publication. Bangkok, 92 hal.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2014). *The State of World Fisheries and Aquaculture*. FAO Publication. Roma, 274 hal.
- Feliatra, I., Effendi & E. Suryadi. (2004). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik dari Ikan Kerapu Macan (*Ephinephelus fuscogatus*) dalam Upaya Efisiensi Pakan Ikan. *Jurnal Natur Indonesia*, 6(2), 75-80.
- Halidah, H. (2010). Pertumbuhan *Rhizophora mucronata* Lamk Pada Berbagai Kondisi Substrat Di Kawasan Rehabilitasi Mangrove Sinjai Timur Sulawesi Selatan. *Jurnal Penelitian Hutan dan Konservasi Alam*, 7(4), 399- 412.
- Handayani, E. (2012). Prevalensi Infeksi Bakteri Patogen pada Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*) di Kawasan Minapolitan Kabupaten Banjar. *Tesis*. Sekolah Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor.

- Harborne, J. B. (1987). Metode fitokimia diterjemahkan oleh Padmawinata K, Soediro I. *Penerbit Institut Teknologi Bandung*, 147 hal.
- Hayati, E. K., Fasyah, A. G., & Sa'adah, L. (2010). Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Tanin pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Jurnal Kimia*, 4(2), 193-200.
- Hose, J.E., G.G. Martin & A.S. Gerard. (1990). A Decapoda Hemocyte Classification Scheme Integrating Morphology, Cytochemistry, and Function. *Biological Bulletin*, 178(1), 33-45.
- Huliselan, Y. M. Runtuwene, M. R. J., and Wewengkang, D. S. (2015). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Etil Asetat, dan N-Heksan dari Daun Sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl.). *Pharmacon*, 4(3), 155-163.
- Johansson, M. W., & Soderhall, K. (1989). Cellular Immunity in Crustaceans and the pro-PO system. *Parasitology today*, 5(6), 171-176.
- Johny, F., Roza, D. K., Mahardika., Zafran., & A. Prijono. (2005). Penggunaan Immunostimulan untuk Meningkatkan Kekebalan Non Spesifik Benih Ikan kerapu Lumpur (*Epinephelus coiodes*) Terhadap infeksi Virus Irido. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*, 11(5), 75-83.
- Kannapiran, E., Ravindran, J., Chandrasekar, R., & Kalalarasi, A. (2009). Studies on luminous, *Vibrio harveyi* Associated with Shrimp Culture System Rearing *Penaeus monodon*. *J. Enviro, Biol*, 30(5), 791-795.
- Karlina, C. Y., Ibrahim, M., & Trimulyono, G. (2013). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Herbal Krokot (*Portulaca oleracea* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichiacoli*. *EJ UNESA Lentera Bio*, 2(1), 87-93.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. (2013). *Kelautan dan Perikanan Dalam Angka*. Jakarta, 118 hal.
- Kharisma, A., & Manan, A. (2012) Bakteri *Vibrio* sp. Pada Air Pembesaran Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*) Sebagai Deteksi Dini Serangan Penyakit Vibrosis. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 4(2), 129-134.
- Kordi, K. M. G. H. (2012). *Ekosistem Mangrove, Potensi, Fungsi, Dan Pengelolaan*. Rineka Cipta. Jakarta, 256 hal.
- Kordi, M. G. H., & Tancung, A. B. (2007). *Pengelolaan Kualitas Air dalam Budidaya Perairan*. Rineka Cipta. Jakarta, 208 hal.
- Lee., M. H. & Shiau., S., Y. (2004). Vitamin E Requirements of Juvenil Grass Shrimp, *P. monodon* and Effects on Nonspecific Immune Responses. *Fish and Shellfish immunology*, 16(1), 475-485.
- Lightner, D. V., & Bell, T. A. (1998). A Handbook of Normal Penaeid Shrimp Histology. *Baton Rouge, La World Aquaculture Society*, 7(1), 1-114.

- Madduluri S, Rao KB, Sitaram B. (2011). In vitro evaluation of antibacterial activity of five indigenous plants extract against five bacterial pathogens of human. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*, 5(4), 679-84.
- Manoppo, H., Sukenda, D. Djokosetiyanto, M.F. Sukadi, E. Harris. (2006). Peningkatan Respons Imun Non Spesifik, Resistensi dan Pertumbuhan Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) Melalui Pemberian Pakan Nukleotida. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 10(1), 1-7.
- Mujiman, A., & Suyanto, R. (2003). *Budidaya Udang Windu*. Penebar Swadaya. Jakarta, 220 hal.
- Nasi., L., Prayitno, S.B. & Sarjito. (2011). Kajian Bakteri Penyebab *Vibriosis* pada Udang Secara Biomolekuler. *Tesis*. Megister Manajemen Sumberdaya Pantai. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Ningrum, N. E., Radjasa, O. K., & Prayitno, S. B. (2012). Application of Repetitive Sequence Based PCR on The Richness of *Vibrio* on The Tiger Shrimp (*Penaeus monodon* Fab.). *Journal of Coastal Development*, 15(3), 303-309.
- Nuria, M. C., & Faizatun, A. (2009). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *MEDIAGRO*, 5(2), 26 – 37.
- Oktavianus, S. (2013). Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Mangrove Jenis *Avicennia Marina* Terhadap Bakteri *Vibrio Parahaemolyticus*. *Skripsi*. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Ortega, L. M., Lebrun, R., Blais, J. F., & Hausler, R. (2008). Removal of Metal Ions From an Acidic Leachate Solution by Nanofiltration Membranes. *Desalination*, 227(1-3), 204-216.
- Pebrianto, C. A. (2009). Ketahanan Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*, Boone 1931) yang Diberi Probiotik *Bacillus* sp. D2.2 Terhadap infeksi *Vibrio alginolyticus*. *Skripsi*. Universitas Lampung.
- Permana, G. N., Haryanti, H., & Rustidja, R. (2017). Perubahan Histologi, Protein Hemolymph Dan Ekspresi Allozyme (GPI, PGM, EST, SOD Dan SP) Pada Udang *L. Vannamei* Selama Infeksi *Taura Syndrome Virus* (TSV). *In Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur*, 4(2), 473-483.
- Permatasari, D. (2009). Potensi *Trichoderma* sp., Sebagai Bahan Antibakterial dan Imunostimulan pada Udang Vanname (*Litopenaeus vannamei*). *Tesis*. Institute Pertanian Bogor.

- Poeloengan M, Praptiwi P. (2012). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* Linn). *Media Litbang Kesehatan*, 20(2), 65-9.
- Prajitno, A. (2007). *Vibrio* spp. dan MBV Primadona Penyakit Udang Windu di Tambak. *Bahan Pelatihan Nasional Ketrampilan dan Bina Usaha Mandiri Budidaya Air Payau vdan Air Tawar*. Fakultas Perikanan UNIBRA. Malang.
- Pratiwi, S. I. (2008). Aktivitas Antibakteri Tepung Daun Jarak (*Jatropha curcas* L.) Pada Berbagai Bakteri Saluran Pencernaan Ayam Broiler Secara *in vitro*. *Skripsi*, tidak dipublikasikan. Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor.
- Putri, F. P. (2009). Pengaruh pemberian Bakteri Probiotik Melalui Pakan Terhadap Pertumbuhan dan Kelangsungan Hidup Udang Windu (*Penaeus monodon*). *Skripsi*. Institute Pertanian Bogor.
- Rahmawati, E. (2017). Ketahanan Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*, Boone 1931) yang Diberi Probiotik *Bacillus* sp. D2.2 Terhadap infeksi *Vibrio alginolyticus*. *Skripsi*. Universitas Lampung.
- Ridlo, A., & Pramesti, R. (2012). Aplikasi Ekstrak Rumput Laut Sebagai Agen Immunostimulan Sistem Pertahanan Non Spesifik Pada Udang (*Litopennaeus vannamei*). *Ilmu Kelautan, Indonesian Journal of Marine Sciences*, 14(3), 133-137.
- Riniatsih, I., & Setyati, W. A. (2012). Bioaktivitas Ekstrak dan Serbuk Lamun *Enhalus acoroides* dan *Thalassia hemprichii* pada *Vibrio alginolyticus* dan *Vibrio harveyi*. *Ilmu Kelautan, Indonesian Journal of Marine Sciences*, 14(3), 138-141.
- Rodriguez, J. & Le Moullac, G.(2000). State of The Art of Immunological Tools and Health Contol of Penaeid (*Penaeus monodon*). *Thesis*. Wageningen University. Netherland.
- Rosyidah, K., Nurmuhaimina, Komari, M.D. &Astuti. (2010). Aktivitas Anti-bakteri Fraksi Saponin dari Kulit Batang Tumbuhan Kasturi (*Mangifera casturi*). *Bioscientiae*, 7(2), 25-31.
- Sakai, M. (1999). Current Reasearch Status Of Fish Immunostimulants. *Aquacultuure*, 172 (1-2), 63-92.
- Saptiani, G. (2012). Pemanfaatan Daun Jeruju (*Acanthus ilicifolius*) Untuk Meningkatkan Immunitas Udang Windu (*Penaeus monodon* F.). *Disertasi*. Universitas Diponegoro.
- Sari, F.P., & S. M. Sari. (2011). Ekstraksi Zat Aktif Antimikroba dari Tanaman Yodium (*Jatropha multifida* Linn) sebagai Bahan Baku Alternatif Antibiotik Alami. *Fakultas Teknik Universitas Diponegoro*, Semarang.

- Selvin J., A.J. Huxleya., & A.P. Lipton. (2004), Immunomodulatory Potential of Marine Secondary Metabolites Against Bacterial Diseases of Shrimp. *Aquaculture*, 230(1-4), 241–248.
- SNI. (2006). Produksi Udang Vanname *L. vannamei* di Tambak dengan Teknologi Intensif. Jakarta, *Badan Standarisasi Nasional*, SNI-01-7246-2006.
- Subaidah, S. (2006). Juknis Pembenuhan Udang Vannamei di BBAP Situbondo. Kementrian Kelautan dan Perikanan. *Direktorat Jendral Perikanan Budidaya*. BBAP Situbondo, 97 hal.
- Sudirman, S., Nurjanah., and Jacoeb, A. M. (2014). Proximate Compositions, Bioactive Compounds And Antioxidant Activity From Large Leafed Mangrove (*Bruguiera gymnorrhiza*) Fruit. *International Food Research Journal*, 21(6), 2387-2391.
- Sukenda. (2007). Penggunaan Kitosan untuk Pengendalian Infeksi *Vibrio harveyi* Pda Udang Putih *Litopenaeus vannamei*. *Jurnal akuakultur indonesia*, 6 (2), 205-209.
- Sunarto, A., T.I. Koesharyani., A. & Rukyani. (2003). Prosedur PCR Untuk Diagnosa Cepat Penyakit Bercak Putih Pada Udang. *Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya* . Jakarta, 20 hal.
- Syahailatua, D.Y. (2009). Seleksi Bakteri Probiotik sebagai Stimulator Sistem Imun pada Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Thesis*. Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Treece, G.D, & Fox, J.M. (2000). *Design, Operation, and Training Manual for an Intensive Culture Shrimp Hatchery*. DIANE Publishing, 187 hal.
- Wendelaar Bonga, S. E. (1997). The stress response in fish. *Physiological reviews*, 77(3), 591-625.
- Wibowo, C., Kusmana, C., Suryani, A., Hartati, Y., & Oktadiyani, P. (2009). Pemanfaatan pohon mangrove api-api (*Avicennia* spp.) sebagai bahan pangan dan obat. *Skripsi*. Dep. Silvikultur, Fakultas Kehutanan IPB.
- Widanarni., Noermala, J.I., & Sukenda. (2012). Prebiotik, Probiotik, dan Sinbiotik untuk Mengendalikan Infeksi *Vibrio harveyi* dan IMNV pada Udang Vanname. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 13(1), 11-20.
- Withanawasam, D.M. (2002). *Preliminary in Vitro Screening of Antibacterial and Anti Fungal Compounds of Mangrove Plant Extracts for Pathogens from Different Sources*, 7(3), 15-23.
- Wyban, J. A., & J., N., Sweeny, (1991). *Intensive Shrimp Production Technology*. The Oceanic Institute Shrimp Manual. Honolulu, Hawaii, 34(7), 749-755.

Zahra, A., Sukenda, S., & Wahjuningrum, D. (2017). Extract of seaweed *Gracilaria Verrucosa* as Immunostimulant to Controlling White Spot Disease in Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 16(2), 185-194.