

**EVALUASI PERAN RAGI DAN *Bacillus* sp. TERHADAP PERFORMA
BUDI DAYA, IMUNITAS NON-SPEKIFIK SERTA DETEKSI PENYAKIT
PADA UDANG VANAME (*Litopenaus vannamei*)**

Skripsi

Oleh

**KIDUNG RAMADHAN
NPM 2154111002**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

**EVALUASI PERAN RAGI DAN *Bacillus* sp. TERHADAP PERFORMA
BUDI DAYA, IMUNITAS NON-SPEKIFIK SERTA DETEKSI PENYAKIT
PADA UDANG VANAME (*Litopenaus vannamei*)**

Oleh

KIDUNG RAMADHAN

Skripsi

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

Pada

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



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

ABSTRAK

EVALUASI PERAN RAGI DAN *Bacillus* sp. TERHADAP PERFORMA BUDI DAYA, IMUNITAS NON-SPESIFIK SERTA DETEKSI PENYAKIT PADA UDANG VANAME (*Litopenaeus vannamei*)

Oleh

KIDUNG RAMADHAN

Udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) merupakan salah satu komoditas utama dalam akuakultur Indonesia karena produktivitasnya yang tinggi dan daya adaptasi yang baik. Namun, budidaya intensif sering dihadapkan pada ancaman penyakit infeksius seperti *Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease* (AHPND) dan *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP). Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas penambahan ragi dan *Bacillus* sp. dalam pakan terhadap performa pertumbuhan, imunitas non-spesifik dan deteksi penyakit AHPND dan EHP. Penelitian dilakukan selama 56 hari dengan dua perlakuan: penambahan ragi 3 g/kg (P1) dan *Bacillus* sp. 2 g/kg (P2), masing-masing dengan tiga ulangan. Parameter yang diamati meliputi rerata berat tubuh, rerata pertumbuhan harian, tingkat kelangsungan hidup, rasio konversi pakan, *total haemocyte count*, *differential haemocyte count*, deteksi AHPND dan EHP dengan sampel sedimen dan udang menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan biomassa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan ragi (3 g/kg) dan *Bacillus* sp. (2 g/kg) tidak berbeda nyata terhadap berat tubuh, pertumbuhan harian, kelangsungan hidup, dan komposisi diferensial hemosit udang vaname ($p > 0,05$). Namun, *Bacillus* sp. memberikan rasio konversi pakan lebih rendah ($1,12 \pm 0,08$) dibanding ragi ($1,68 \pm 0,31$) dan biomassa lebih tinggi (1099 ± 121 kg) dibanding ($805 \pm 31,56$ kg) ($p < 0,05$). Sebaliknya, ragi meningkatkan *total haemocyte count* lebih tinggi ($8,9 \pm 0,3 \times 10^6$ sel/ml) dibanding *Bacillus* sp. ($7,8 \pm 0,6 \times 10^6$ sel/ml) ($p < 0,05$). Deteksi PCR menemukan AHPND dan EHP dengan jumlah salinan rendah pada DOC 28–42.

Kata kunci: AHPND, *Bacillus* sp., EHP, Ragi, Udang Vaname

ABSTRACT

EVALUATION OF THE ROLE OF YEAST AND *Bacillus* SP. ON AQUACULTURE PERFORMANCE, NON-SPECIFIC IMMUNITY, AND DISEASE DETECTION IN PACIFIC WHITE SHRIMP (*Litopenaeus* *vannamei*)

By

KIDUNG RAMADHAN

Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) is one of the main commodities in Indonesian aquaculture due to its high productivity and adaptability. However, intensive farming is often challenged by infectious diseases such as Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND) and *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP). This study aimed to evaluate the effectiveness of dietary supplementation with yeast and *Bacillus* sp. on growth performance, non-specific immunity, and the detection of AHPND and EHP. The experiment was conducted for 56 days using two treatments: yeast supplementation at 3 g/kg (P1) and *Bacillus* sp. at 2 g/kg (P2), each with three replicates. Parameters observed included mean body weight, daily growth rate, survival rate, feed conversion ratio (FCR), total haemocyte count (THC), differential haemocyte count (DHC), disease detection of AHPND and EHP from sediment and shrimp samples using Polymerase Chain Reaction (PCR), and final biomass. The results showed no significant differences ($p > 0.05$) between yeast and *Bacillus* sp. treatments in mean body weight, daily growth rate, survival rate, or DHC. However, *Bacillus* sp. produced a significantly lower FCR (1.12 ± 0.08) compared to yeast (1.68 ± 0.31) and a higher biomass (1099 ± 121 kg) compared to yeast (805 ± 31.56 kg) ($p < 0.05$). Conversely, yeast significantly increased THC ($8.9 \pm 0.3 \times 10^6$ cells/ml) compared to *Bacillus* sp. ($7.8 \pm 0.6 \times 10^6$ cells/ml) ($p < 0.05$). PCR detection revealed low copy numbers of AHPND and EHP, first identified at DOC 28–42.

Keywords: AHPND, *Bacillus* sp., EHP, Pacific White Shrimp, Yeast

Judul Skripsi

**: EVALUASI PERAN RAGI DAN *Bacillus* sp.
TERHADAP PERFORMA BUDI DAYA,
IMUNITAS NON-SPEKIFIK SERTA DETEKSI
PENYAKIT PADA UDANG VANAME
(*Litopenaeus vannamei*)**

Nama Mahasiswa

: Ridung Ramadhan

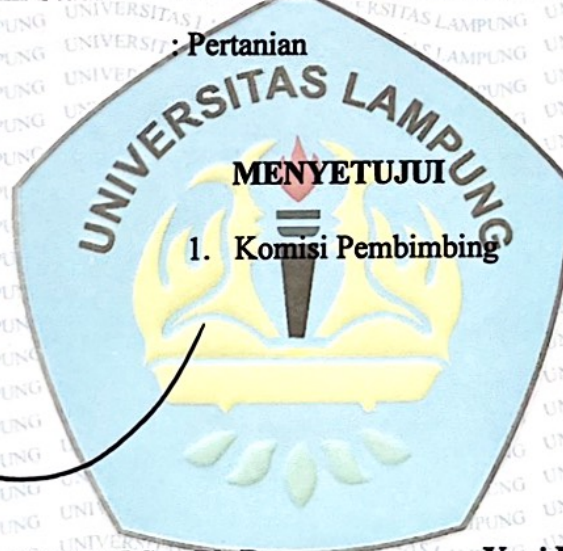
Nomor Pokok Mahasiswa : 2154111002

Jurusan/Program Studi

: Perikanan dan Kelautan/Budidaya Perairan

Fakultas

: Pertanian



MENYETUJUI
1. Komisi Pembimbing

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

Yeni Elisdiana, S.Pi., M.Si.
NIP. 199003182019032026

2. Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan

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

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua

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

Sekretaris

: Yeni Elisdiana, S.Pi., M.Si.

Penguji

: Dr. Agus Setyawan, S.Pi., M.P.

2. Dekan Fakultas Pertanian



Dr. H. Kuswanto Futas Hidayat, M.P.

NIP. 196411181989021002

Tanggal lulus ujian skripsi : 22 Juli 2025



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

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

PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam naskah skripsi yang berjudul "**Evaluasi Peran Ragi Dan *Bacillus* Sp. Terhadap Performa Budi Daya, Imunitas Non-Spesifik Serta Deteksi Penyakit Pada Udang Vaname (*Litopenaus vannamei*)**" tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh pihak lain untuk mendapatkan karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebut dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

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

Bandar Lampung, 26 Agustus 2025

Yang membuat pernyataan



Kidung Ramadhan
NPM. 2154111002

RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama lengkap Kidung Ramadhan dilahirkan di Bandar Lampung 06 November 2003. Penulis merupakan anak dari pasangan ayah yang bernama Andi Gozali dan Mama Indah Susanti, sebagai anak pertama dari dua saudara. Penulis mengawali pendidikan dasar di SDN 1 kaliawi dan lulus pada tahun 2015. Kemudian melanjutkan pendidikan di SMPN 28 Bandar Lampung dan lulus pada tahun 2018. Setelah itu, melanjutkan pendidikan di SMAN 16 Bandar Lampung mengambil jurusan Ilmu Pengetahuan Alam (IPA) dan lulus pada tahun 2021. Penulis melanjutkan studi di Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung melalui jalur SMMPTN BARAT pada tahun 2021.

Semasa menjadi mahasiswa, penulis aktif dalam organisasi tingkat jurusan, yaitu Himpunan Mahasiswa Perikanan dan Kelautan (Himapik), sebagai anggota bidang Pengembangan Minat dan Bakat (PMB) kabinet SAMSARA NISKALA pada tahun 2024-2025. Penulis pernah melakukan magang di Balai Benih Ikan (BBI) Metro, pada tahun 2023. Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Lebak Peniangan, Kecamatan Rebang Tangkas, Kabupaten Way Kanan pada bulan Januari-Februari 2024. Penulis melaksanakan Praktik Umum di Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar (BBPBAT) Bogor pada bulan Juli-Agustus 2024. Penulis mengikuti program kampus Merdeka, yaitu Magang dan Studi Independen Bersertifikat (MSIB) di PT. Suri Tani Pemuka, Kota Padang Pariaman, Provinsi Sumatera Barat pada bulan September-Desember 2024.

Dengan kerendahan hati, kupersembahkan skripsi ini sebagai tanda bukti dan kasih cintaku yang tulus dan mendalam kepada:

Kepada kedua orang tuaku ayah **Andi Gozali dan** mama **Indah Susanti** yang selalu memberikan doa, motivasi, dukungan, semangat serta selalu menjadi tempat keluh kesah penulis semasa pendidikan.

SANWACANA

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

Skripsi dengan judul " Evaluasi Peran Ragi Dan *Bacillus* sp. Terhadap Performa Budi Daya, Imunitas Non-Spesifik Serta Deteksi Penyakit Pada Udang Vaname (*Litopenaus vannamei*) ” adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana perikanan di Universitas Lampung.

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P. selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
2. Munti Sarida, S.Pi., M.Sc., Ph.D. selaku Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, Pembimbing Akademik dan Pembimbing Utama.
3. Dr. Agus Setyawan, S.Pi., M.Si. selaku Koordinator Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, dan Penguji Utama
4. Yeni Elisdiana, S.Pi., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Pembantu/Sekretaris.
5. PT. Suri Tani Pemuka selaku Perusahaan Yang Menyediakan Sarana dan Prasarana Selama Masa Penelitian.
6. Kedua Orang tua, ayah Andi Gozali dan mama Indah Susanti yang selalu mendoakan, memberi dukungan, motivasi dan semangat serta kasih sayang yang tak pernah henti kepada penulis.
7. Adikku tersayang Artika Febiola yang selalu memberikan semangat yang tiada henti kepada penulis

Bandar Lampung, 22 Juli 2025

Kidung Ramadhan

DAFTAR ISI

	Halaman
MENGESAHKAN	vi
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	4
1.3 Manfaat Penelitian	4
1.4 Kerangka Pikir	5
1.5 Hipotesis Penelitian	7
II. TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1 Budi daya Udang Vaname (<i>Litopenaus vannamei</i>)	9
2.1.1 Biologi Udang Vaname	9
2.2 Sistem Imunitas Non-spesifik Pada Udang	11
2.3.1 <i>Bacillus</i> sp.	13
2.4 Ragi Sebagai Imunostimulan Dalam Akuakultur	14
2.5 Deteksi Molekuler Penyakit <i>Acute hepatopancreatic Necrosis Disease</i> (AHPND) dan <i>Enterocytozoon Hepatopenaei</i> (EHP) Pada Udang Vaname	16
III. METODE PENELITIAN	19
3.1 Waktu dan Tempat	19
3.1.1 Waktu Penelitian	19
3.2 Bahan dan Alat	19
3.2.1 Bahan	19
3.2.2 Alat	20
3.3 Rancangan Percobaan	23

3.4	Prosedur Penelitian	24
3.4.1	Persiapan Wadah dan Hewan Uji	24
3.4.2	Masa Pemeliharaan	24
3.4.3	Prosedur Pencampuran Bahan Aditif	24
3.4.4	Pengambilan Hemolim	25
3.5	Variabel Penelitian	25
3.5.1	Rerata Berat Tubuh	25
3.5.2	Rerata Pertumbuhan Harian	25
3.5.3	Tingkat Kelangsungan Hidup	26
3.5.4	Rasio Konversi Pakan	26
3.5.5	<i>Total Haemocyte Count</i>	26
3.5.6	<i>Differential Haemocyte Count</i>	27
3.5.7	Deteksi Penyakit AHPND dan EHP	27
3.5.8	Biomassa	28
3.5.9	Pemantauan Kualitas Air	28
3.6	Analisis Data	28
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN	29
4.1	Hasil	29
4.1.1	Rerata Berat Tubuh	29
4.1.2	Rerata Pertumbuhan Harian	30
4.1.3	Tingkat Kelangsungan Hidup	31
4.1.4	Rasio Konversi Pakan	32
4.1.5	<i>Total Haemocyte Count</i>	33
4.1.6	<i>Differential Haemocyte Count</i>	34
4.1.7	AHPND dan EHP	35
4.1.8	Biomassa	36
4.1.9	Kualitas Air	37
4.2	Pembahasan	37

V. SIMPULAN DAN SARAN.....	47
5.1 Simpulan.....	47
5.2 Saran	47
DAFTAR PUSTAKA.....	50

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Nama bahan, konsentrasi, merek dan fungsi bahan	19
2. Nama alat, spesifikasi, merek dan fungsi alat	20
3. Nilai deteksi <i>Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease</i> dan <i>Entercytozoon</i> <i>Hepatopenaei</i> menggunakan RT PCR.....	35
4. Kualitas air	37

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka pikir.....	6
2. Morfologi udang vaname	10
3. Siklus hidup udang vaname	11
4. <i>Bacillus</i> sp.	13
5. Mekanisme kerja probiotik	14
6. <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	15
7. Mekanisme sistem imun udang	16
8. Proses PCR.....	18
9. Tata letak kolam budidaya.....	23
10. Kotak haemocytometer	26
11. a) H = Sel hyalin b) SG = sel granular	27
12. Rerata berat tubuh udang vaname.	29
13. Rerata pertumbuhan harian udang vaname	30
14. Tingkat kelangsungan hidup udang.....	31
15. Rasio konversi pakan udang vaname	32
16. <i>Total haemocyte count</i> udang vaname	33
17. Hyalin dan granular udang vaname.....	34
18. Biomassa udang vaname DOC 56	36

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Uji normalitas, homogenitas dan uji Independent T RBT	61
2. Uji normalitas, homogenitas dan uji Independent T RPH	62
3. Uji normalitas, homogenitas dan uji Independent T RKP	63
4. Uji normalitas, homogenitas dan uji Independent T TKH	64
5. Uji normalitas, homogenitas dan uji Independent T THC	65
6. Uji normalitas, homogenitas dan uji Independent T DHC.....	66
7. Uji normalitas, homogenitas dan uji Independent T Biomassa.....	68

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) merupakan salah satu komoditas budi daya perikanan yang memiliki prioritas tinggi di Indonesia karena nilai ekonominya yang besar, memenuhi permintaan pasar domestik dan internasional, serta untuk mendukung ketahanan pangan nasional. Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP) menargetkan produksi udang mencapai 2 juta ton per tahun pada 2024. Produksi udang mengalami kenaikan sebesar 21,25% antara tahun 2021 dan 2022, dengan produksi 1,22 juta ton pada 2021 yang bernilai Rp. 77,02 triliun, dan naik menjadi 1,48 juta ton pada 2022 dengan nilai Rp. 92,69 triliun (KKP, 2022). Keunggulan udang vaname terletak pada ketahanannya terhadap penyakit serta produktivitas yang tinggi (Ariadi et al., 2021).

Budidaya udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) menempati posisi strategis sebagai komoditas unggulan dalam industri akuakultur global berkat tingkat produktivitas yang tinggi serta kemampuan adaptasi yang baik terhadap berbagai kondisi lingkungan perairan. Namun, seiring meningkatnya intensifikasi produksi, kompleksitas tantangan kesehatan udang juga semakin meningkat, terutama yang berkaitan dengan penyakit infeksius yang berpotensi menimbulkan kerugian ekonomi besar. Dua jenis penyakit yang menjadi fokus utama dalam budi daya udang vaname saat ini adalah *Vibrio parahaemolyticus*, penyebab penyakit *Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease* (AHPND), serta mikrosporidia *Enterocytozoon Hepatopenaei* (EHP) (WOAH, 2023). AHPND diketahui menimbulkan kerusakan serius pada organ hepatopankreas dengan gejala atrofi yang parah, sedangkan EHP menyebabkan perlambatan pertumbuhan karena gangguan pada sistem pencernaan udang (Wikumpriya et al., 2023). Kedua jenis penyakit ini cenderung menyerang pada tahap awal siklus budidaya dan kerap sulit terdeteksi karena tidak menunjukkan gejala klinis yang khas. Oleh karena itu,

upaya pencegahan menjadi aspek krusial dalam mendukung sistem manajemen budidaya yang berkelanjutan dan resilien terhadap penyakit.

Sebagai organisme invertebrata, udang tidak memiliki sistem imun adaptif, sehingga sangat mengandalkan sistem imun non-spesifik (*innate immunity*) untuk mempertahankan diri dari patogen. Sistem imun ini terdiri atas respons seluler dan humoral yang melibatkan hemosit, fagositosis, produksi enzim lisozim, dan aktivasi sistem prophenoloxidase. Parameter seperti *total haemocyte count* (THC), *differential haemocyte count* (DHC), aktivitas fagositik, serta ekspresi gen imun merupakan indikator utama yang digunakan dalam mengevaluasi kekuatan sistem pertahanan udang (Zhang et al., 2020). Peningkatan kapasitas sistem imun non-spesifik terbukti berkontribusi dalam meningkatkan resistensi udang terhadap serangan penyakit dan memperbaiki performa budidaya, khususnya dalam menghadapi tekanan patogen di lingkungan intensif.

Peningkatan daya tahan udang terhadap infeksi patogen menjadi fokus utama dalam sistem budidaya intensif yang berkelanjutan. Salah satu pendekatan strategis yang banyak diteliti adalah penggunaan bahan aditif fungsional dalam pakan, seperti probiotik dan imunostimulan, yang mampu meningkatkan kesehatan saluran pencernaan sekaligus memperkuat sistem imun non-spesifik udang. Dalam hal ini, ragi *Saccharomyces cerevisiae* memiliki kandungan β -glukan yang terdapat pada dinding selnya. Senyawa ini dikenal luas sebagai bahan yang mampu merangsang sistem kekebalan tubuh (imunostimulan). Struktur khusus β -glukan, yaitu rantai β -1,3 dan β -1,6, membuatnya dapat dikenali oleh reseptor di permukaan sel kekebalan udang (hemosit), yang disebut reseptor pengenalan pola (*pattern recognition receptors* atau PRRs) (Li et al., 2019). Ketika β -glukan dikenali oleh reseptor ini, ia akan memicu reaksi berantai dalam sistem kekebalan tubuh udang yang berujung pada peningkatan aktivitas pertahanan tubuh. Proses ini mendorong tubuh udang untuk memproduksi enzim-enzim penting seperti lisozim, superoksida dismutase, dan fenoloksidase yang berperan dalam melawan infeksi (Wijaya et al., 2023). Berdasarkan hasil oleh Pratiwy & Kharima (2022) menyebutkan suplementasi *Saccharomyces cerevisiae* pada pakan ikan menunjukkan peningkatan efisiensi pakan dan kinerja imun dengan dosis 5 g/kg pakan,

ragi berfungsi sebagai imunostimulan, meningkatkan respons imun dengan cara memodulasi mikroflora usus dan memperbaiki struktur morfologi usus.

Bacillus sp. sebagai genus bakteri gram positif yang memiliki kemampuan sporulasi dan bertahan dalam lingkungan ekstrem, telah menunjukkan potensi luar biasa sebagai probiotik akuatik. *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, dan *Bacillus pumilus* merupakan spesies yang banyak digunakan karena mampu menghasilkan enzim protease, amilase, dan lipase yang meningkatkan efisiensi pencernaan pakan serta memodulasi mikroflora usus yang lebih sehat (Zokaeifar et al., 2012). *Bacillus* sp. juga berperan dalam menekan pertumbuhan patogen seperti *Vibrio parahaemolyticus* melalui produksi senyawa anti-mikroba seperti surfaktin, iturin, dan fengisin yang mampu menghambat adhesi dan kolonisasi patogen di usus udang. Studi oleh Kewcharoen & Srisapoom (2019), menunjukkan bahwa suplementasi *Bacillus* sp. secara signifikan meningkatkan ekspresi gen-gen imun seperti *prophenoloxidase* dan *lysozyme* serta menurunkan tingkat mortalitas udang yang terpapar AHPND. Selain itu, probiotik ini juga meningkatkan kualitas air dengan menurunkan kadar amonia dan nitrit yang berbahaya bagi udang, menjadikannya multifungsi dalam sistem budidaya. Berdasarkan penelitian Islami & Madyowati (2024) menyebutkan bahwa penambahan *Bacillus* sp. dengan dosis 5g/kg berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan berat mutlak udang vanname umur 30 hari.

Namun, untuk memastikan efektivitas nyata dari aplikasi probiotik dan imunostimulan tersebut dalam menekan infeksi AHPND dan EHP, diperlukan metode evaluasi yang sensitif dan spesifik. Pendekatan molekuler seperti *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menjadi alat diagnostik utama dalam mendeteksi keberadaan gen virulen patogen seperti *pirAB* dari *Vibrio Parahaemolyticus* penyebab AHPND serta sekuens rRNA spesifik dari EHP (Padilah et al., 2022). Deteksi molekuler tidak hanya memungkinkan identifikasi dini sebelum munculnya gejala klinis, tetapi juga dapat digunakan sebagai parameter efektivitas biologis dari intervensi pakan berbasis probiotik dan imunostimulan (Hou et al., 2021). Integrasi pendekatan imunologis dan molekuler dalam evaluasi ini menjadi sangat penting dalam membangun sistem budidaya yang tidak hanya produktif tetapi juga tangguh terhadap penyakit.

Dengan demikian, penelitian ini menjadi sangat relevan dalam mengkaji efektivitas penggunaan ragi dan *Bacillus* sp. sebagai aditif pakan dalam meningkatkan respons imun non-spesifik, performa pertumbuhan, serta resistensi udang vaname terhadap AHPND dan EHP melalui pendekatan molekuler. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi rujukan dalam pengembangan teknologi pakan fungsional yang mendukung budidaya udang yang berkelanjutan dan berbasis biosekuriti.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengevaluasi penambahan ragi dan *Bacillus* sp. dalam pakan terhadap performa budi daya, efisiensi pakan dan kelangsungan hidup udang vaname (*Litopenaus vannamei*) dalam budi daya skala intensif.
2. Mengevaluasi respon imun non-spesifik pada udang vaname (*Litopenaus vannamei*) yang diberi pakan dengan penambahan ragi dan *Bacillus* sp.
3. Mengevaluasi pengaruh pemberian ragi dan *Bacillus* sp. dalam pakan terhadap tingkat infeksi AHPND dan EHP pada udang vaname (*Litopenaus vannamei*) menggunakan metode PCR

1.3 Manfaat Penelitian

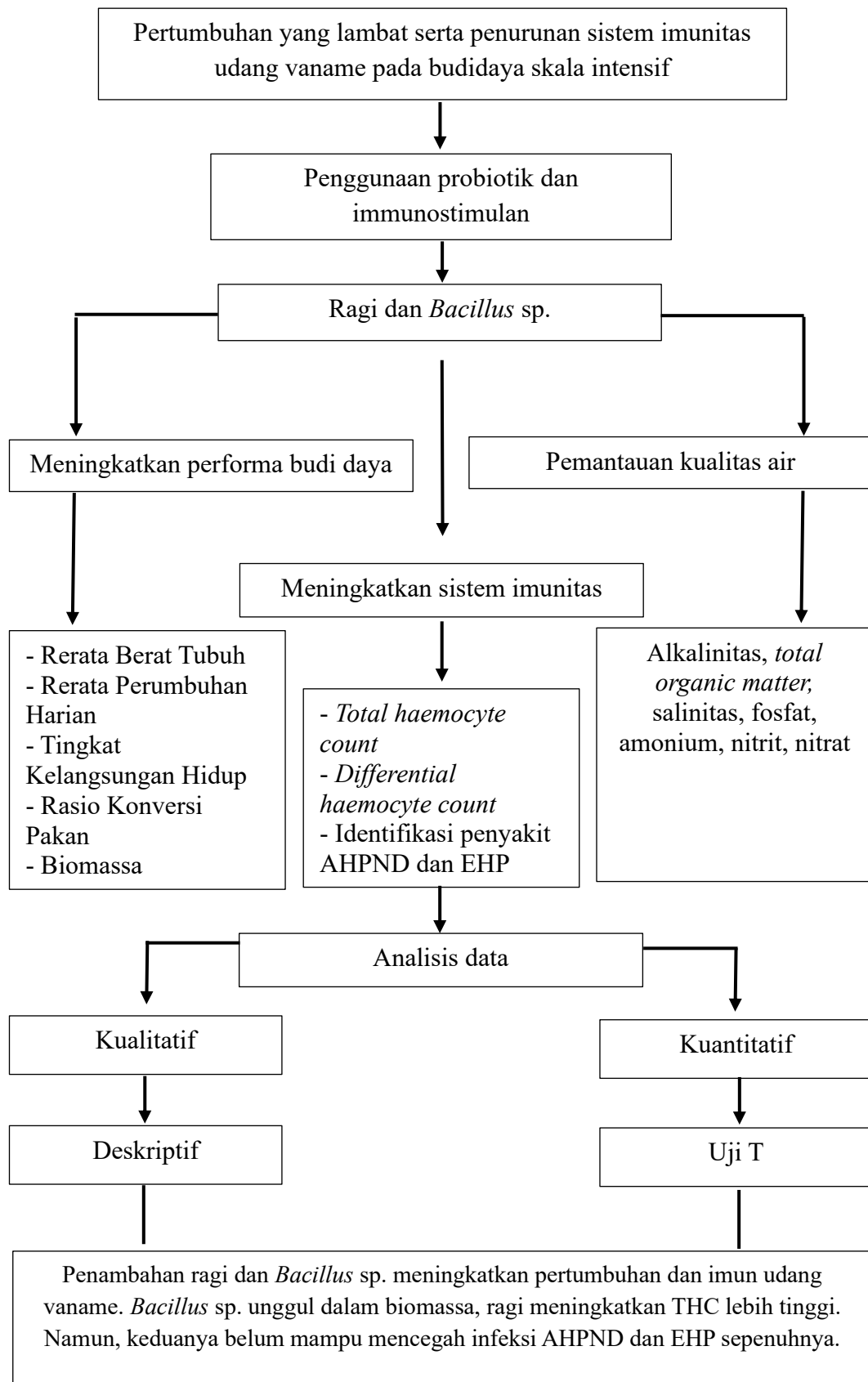
Penelitian ini diharapkan bermanfaat untuk mengetahui apakah pemberian Ragi dan *Bacillus* sp. dalam pakan dapat meningkatkan kekebalan tubuh udang vaname, membantu pertumbuhannya, serta mencegah infeksi penyakit AHPND dan EHP. Secara ilmiah, hasil penelitian ini dapat menambah informasi tentang cara kerja probiotik dan imunostimulan dalam memperkuat sistem imun udang. Sementara itu, secara praktis, hasil penelitian ini diharapkan dapat membantu petambak atau pelaku usaha budidaya udang dalam menerapkan strategi pakan yang lebih sehat dan ramah lingkungan, sehingga dapat meningkatkan produktivitas dan mengurangi risiko kematian akibat penyakit. Penelitian ini juga dapat menjadi bahan pertimbangan dalam pengembangan produk pakan fungsional dan penerapan deteksi penyakit secara dini melalui metode molekuler.

1.4 Kerangka Pikir

Budidaya udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) secara intensif seringkali dihadapkan pada permasalahan pertumbuhan yang lambat dan penurunan sistem imun, yang pada akhirnya dapat menurunkan produktivitas serta meningkatkan kerentanan terhadap infeksi penyakit. Upaya untuk mengatasi permasalahan ini dapat dilakukan melalui penerapan teknologi tepat guna, salah satunya adalah penggunaan probiotik. Probiotik yang digunakan dalam penelitian ini adalah ragi dan *Bacillus* sp. probiotik tersebut dipilih karena memiliki potensi dalam meningkatkan performa pertumbuhan udang, memperbaiki kualitas lingkungan perairan, serta memperkuat sistem imun udang.

Peningkatan performa budidaya diukur melalui parameter rerata berat tubuh, pertumbuhan harian, tingkat kelangsungan hidup, rasio konversi pakan, dan biomassa. Sementara itu, pemantauan kualitas air dilakukan dengan mengamati parameter kimia dan biologi, seperti alkalinitas, *total organic matter*, salinitas, kadar fosfat, amonium, nitrit, dan nitrat. Selain itu, untuk mengevaluasi sistem imunitas udang, dilakukan pengukuran terhadap total *haemocyte count*, *differential haemocyte count*, serta identifikasi penyakit AHPND (*Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease*) dan EHP (*Enterocytozoon hepatopenaei*).

Seluruh data yang dikumpulkan dianalisis secara kualitatif dan kuantitatif. Analisis kualitatif dilakukan secara deskriptif untuk memberikan gambaran umum terkait hasil observasi, sedangkan analisis kuantitatif menggunakan uji statistik T untuk mengetahui signifikansi pengaruh perlakuan. Dengan pendekatan ini, diharapkan dapat diperoleh pemahaman yang komprehensif mengenai efektivitas penggunaan probiotik dalam meningkatkan kinerja budidaya udang vaname secara intensif melalui peningkatan pertumbuhan, perbaikan kualitas air, dan penguatan sistem imun. Kerangka pikir dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kerangka pikir

1.5 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

a. *Total Haemocyte Count*

$H_0: \mu_1 = \mu_2$: Semua perlakuan tidak berpengaruh nyata terhadap *total haemocyte count*

$H_1: \mu_1 \neq \mu_2$: Setidaknya ada satu perlakuan yang berpengaruh nyata terhadap *total haemocyte count*

b. *Differential Haemocyte Count*

$H_0: \mu_1 = \mu_2$: Semua perlakuan tidak berpengaruh nyata terhadap *differential haemocyte count*

$H_1: \mu_1 \neq \mu_2$: Setidaknya ada satu perlakuan yang berpengaruh nyata terhadap *differential haemocyte count*

c. Rerata Berat Tubuh

$H_0: \mu_1 = \mu_2$: Semua perlakuan tidak berpengaruh nyata terhadap rerata berat tubuh

$H_1: \mu_1 \neq \mu_2$: Setidaknya ada satu perlakuan yang berpengaruh nyata terhadap rerata berat tubuh

d. Rerata Pertumbuhan Harian

$H_0: \mu_1 = \mu_2$: Semua perlakuan tidak berpengaruh nyata terhadap rerata pertumbuhan harian

$H_1: \mu_1 \neq \mu_2$: Setidaknya ada satu perlakuan yang berpengaruh nyata terhadap rerata pertumbuhan harian

e. Tingkat Kelangsungan Hidup

$H_0: \mu_1 = \mu_2$: Semua perlakuan tidak berpengaruh nyata terhadap tingkat kelangsungan hidup

$H_1: \mu_1 \neq \mu_2$: Setidaknya ada satu perlakuan yang berpengaruh nyata terhadap tingkat kelangsungan hidup

f. Rasio Konversi Pakan

$H_0: \mu_1 = \mu_2$: Semua perlakuan tidak berpengaruh nyata terhadap rasio konversi pakan

$H_1: \mu_1 \neq \mu_2$: Setidaknya ada satu perlakuan yang berpengaruh nyata terhadap rasio konversi pakan

g. Biomassa

$H_0: \mu_1 = \mu_2$: Semua perlakuan tidak berpengaruh nyata terhadap biomassa

$H_1: \mu_1 \neq \mu_2$: Setidaknya ada satu perlakuan yang berpengaruh nyata terhadap biomassa

h. Infeksi Penyakit AHPND dan EHP (Kualitatif)

Apakah kedua perlakuan P1 (ragi) dan P2 (*Bacillus* sp.) dapat menanggulangi infeksi AHPND dan EHP?

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Budi daya Udang Vaname (*Litopenaus vannamei*)

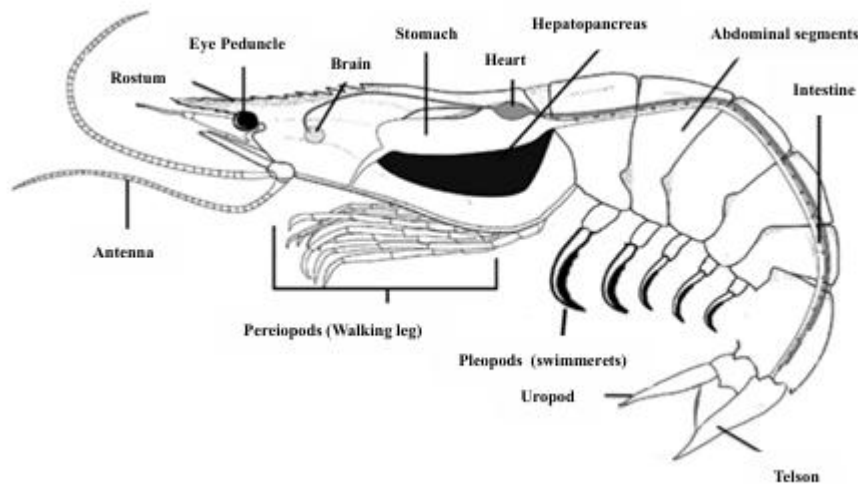
2.1.1 Biologi Udang Vaname

Klasifikasi taksonomi udang vanname (*Litopenaeus vannamei*) menurut (Mogalekar et al., 2025) sebagai berikut :

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Arthropoda
Subphylum	: Crustacea
Class	: Malacostraca
Subclass	: Eumalacostraca
Superordo	: Eucarida
Ordo	: Decapodas
Family	: Penaeidae
Genus	: <i>Penaus</i>
Subgenus	: <i>Litopenaus</i>
Species	: <i>Litopenaus vannamei</i>

Morfologi udang vaname secara umum terbagi menjadi dua bagian utama, yaitu *cephalothorax* (kepala-dada) dan abdomen (perut). Pada bagian anterior terdapat rostrum yang menonjol ke depan sebagai pelindung, diikuti oleh sepasang antena sebagai alat sensorik, serta *eye peduncle* yang menopang mata majemuk. Di dalam *cephalothorax*, terdapat organ-organ vital seperti otak (*brain*), lambung (*stomach*), jantung (*heart*), dan hepatopankreas yang berfungsi dalam pencernaan dan metabolisme. Abdomen terdiri atas enam segmen fleksibel yang memudahkan gerakan, dan di dalamnya terdapat saluran pencernaan berupa usus (*intestine*). Pada bagian ventral, terdapat pereopoda (kaki jalan) yang digunakan untuk bergerak di dasar perairan dan pleopoda (kaki renang) yang berfungsi dalam

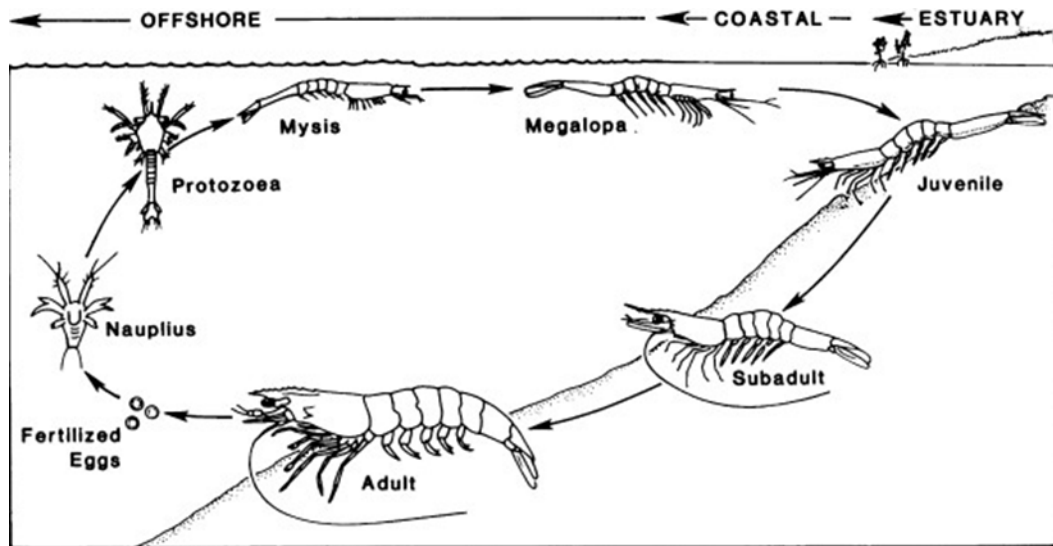
pergerakan serta membawa telur pada udang betina. Ujung posterior tubuh terdiri atas uropod dan telson yang berfungsi sebagai alat bantu dalam berenang dan mempertahankan arah gerak. Struktur morfologi ini menunjukkan adaptasi udang vaname terhadap lingkungan perairan bentik dengan kemampuan manuver dan respons lingkungan yang tinggi (Mogalekar et al., 2025). Morfologi udang vaname dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Morfologi udang vaname
Sumber : Mogalekar et al. (2025)

Siklus hidup udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) dimulai dengan fase telur yang dierami di perairan laut. Telur tersebut menetas menjadi larva nauplius, yang merupakan bentuk awal kehidupan udang. Larva *nauplius* berkembang melalui beberapa tahapan, yaitu *zoea* dan *mysis*, sebelum memasuki tahap post-larva. Pada fase post-larva, udang masih bergantung pada lingkungan air untuk mencari makanan dan bertumbuh. Selama tahap ini, udang mulai menunjukkan karakteristik tubuh yang lebih jelas, seperti pertumbuhan *eksoskeleton* dan perkembangan kaki-kaki renangnya. Setelah itu, udang memasuki tahap juvenil, di mana udang mulai membentuk tubuh yang lebih besar dan lebih kuat. Pada tahap juvenil, udang mulai mencari makanan secara lebih aktif dan dapat berkembang menjadi individu dewasa dalam waktu beberapa bulan. Udang vaname dewasa siap untuk bereproduksi, menghasilkan telur yang akan menetas dan memulai siklus hidup yang baru (Rasuliyanasari & Dini, 2024). Dalam kondisi yang optimal, siklus hidup udang vaname bisa selesai dalam waktu sekitar 3 hingga 6

bulan. Keberhasilan perkembangan udang sangat bergantung pada kualitas air, suhu, salinitas, dan faktor lingkungan lainnya yang mendukung pertumbuhannya. Siklus hidup udang vaname dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Siklus hidup udang vaname
Sumber : Arlo & James (1991)

2.2 Sistem Imunitas Non-spesifik Pada Udang

Sistem imunitas non-spesifik pada udang berperan sebagai lini pertahanan utama terhadap serangan patogen karena, sebagai invertebrata, udang tidak memiliki sistem imun adaptif seperti pada vertebrata. Imunitas non-spesifik ini mencakup mekanisme pertahanan seluler dan humoral yang bekerja secara sinergis untuk mengenali dan menanggapi infeksi patogen, baik bakteri, virus, maupun parasit (Prasiti et al., 2023). Tidak adanya antibodi dan limfosit pada udang menyebabkan respons kekebalan tergantung sepenuhnya pada sel-sel fagositik dan molekul pengenalan pola patogen, seperti *pattern recognition receptors* (PRRs), yang memicu reaksi imun setelah kontak dengan molekul asing.

Secara seluler, sistem imun udang sangat bergantung pada peran hemosit, yang berfungsi sebagai komponen utama dalam respons imun. Hemosit terlibat dalam berbagai mekanisme pertahanan, seperti fagositosis, di mana sel ini menangkap dan menghancurkan patogen. Selain itu, hemosit juga berperan dalam enkapsulasi, yaitu pembentukan lapisan pelindung di sekitar patogen yang tidak dapat dihancurkan secara langsung. Hemosit turut serta dalam pembekuan hemolimfa, yang membantu mencegah penyebaran infeksi lebih lanjut. Pada

respons terhadap patogen, hemosit mengeluarkan enzim proteolitik untuk menghancurkan patogen dan berpartisipasi aktif dalam sistem *prophenoloxidase* (proPO), yang menghasilkan melanin dan senyawa reaktif yang berfungsi sebagai penghalang terhadap patogen. Sistem ini memainkan peran penting dalam pertahanan tubuh udang terhadap infeksi (Sukhothamarn et al., 2024). Aktivitas fagositosis oleh hemosit memungkinkan penelanan dan penghancuran patogen melalui reaksi oksidatif, yang didukung oleh produksi enzim *superoksida dismutase* (SOD) dan lisozim. Peningkatan jumlah hemosit atau *total haemocyte count* (THC) sering digunakan sebagai indikator kekuatan respons imun non-spesifik pada udang (Wang et al., 2021).

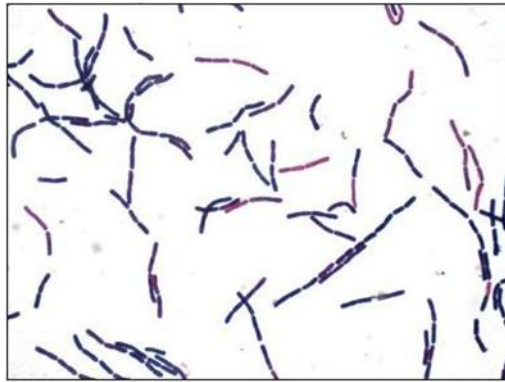
Respons humoral dalam sistem imun udang melibatkan berbagai molekul efektor seperti lisozim, lectin, *crustin*, penaeidin, dan enzim fenoloksidase. Jalur proPO merupakan salah satu jalur penting dalam sistem pertahanan udang, yang berperan dalam produksi melanin untuk membungkus dan membatasi penyebaran patogen (Yan et al., 2022). Jalur ini diaktifkan setelah pengenalan patogen melalui PRRs yang memicu kaskade aktivasi protease hingga akhirnya mengaktifkan enzim fenoloksidase. Di samping itu, protein pengikat seperti lipopolysaccharide and β -glucan-binding protein (LGBP) dan *peptidoglycan recognition proteins* (PGRPs) juga berperan penting dalam mengenali komponen dinding sel bakteri, sehingga merangsang aktivasi sistem imun secara luas (Wang et al., 2020).

Hemosit merupakan sel darah utama dalam sistem imun non-spesifik udang yang berperan penting dalam proses fagositosis, enkapsulasi, pembekuan hemolimfa, dan produksi enzim-enzim pertahanan seperti lisozim dan fenoloksidase. Berdasarkan morfologinya, hemosit pada udang diklasifikasikan menjadi tiga tipe, yaitu sel hialin, semigranular, dan granular, dengan granular hemosit yang paling aktif dalam respons imun. Jumlah total hemosit (*total haemocyte count*/THC) sering digunakan sebagai indikator kekebalan tubuh udang, dimana peningkatannya mencerminkan aktivitas sistem imun yang tinggi (Prasiti et al., 2023).

2.3 *Bacillus* sp. Sebagai Bioaditif Dalam Pakan

2.3.1 *Bacillus* sp.

Bacillus sp. adalah kelompok bakteri Gram-positif yang berbentuk batang, bersifat aerob atau fakultatif anaerob, dan memiliki kemampuan membentuk endospora yang membuatnya tahan terhadap kondisi lingkungan ekstrem seperti panas, kekeringan, dan pH. Genus *Bacillus* terdiri dari berbagai spesies seperti *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus pumilus*, dan *Bacillus megaterium* yang telah banyak diteliti dan diaplikasikan dalam bidang akuakultur sebagai probiotik (Agustama et al., 2021).



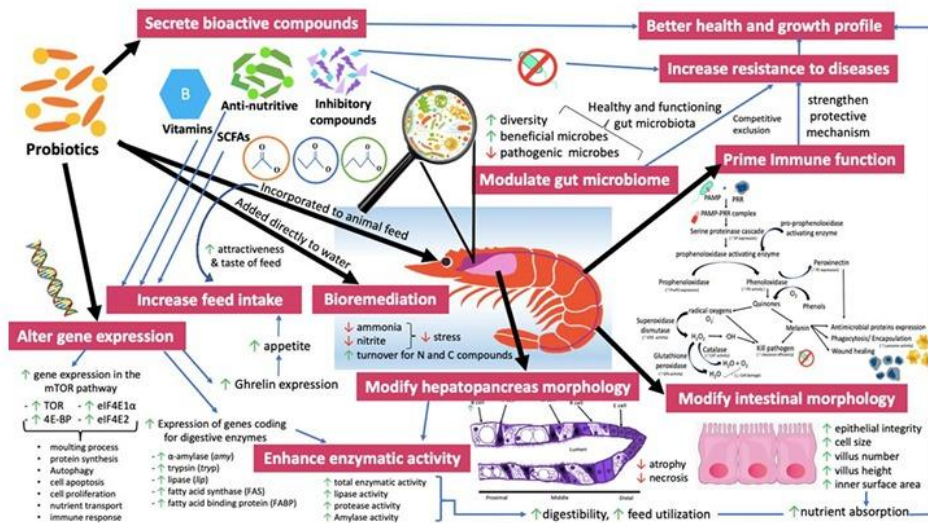
Gambar 4. *Bacillus* sp.

Sumber : Ljubica et al. (2019)

Bacillus sp. dapat berperan sebagai probiotik dengan beberapa mekanisme kerja utama. *Bacillus* dapat merangsang sistem kekebalan tubuh bawaan udang, meningkatkan produksi antibodi, dan memperkuat aktivitas sel-sel imun, seperti hemosit, yang berperan dalam pertahanan tubuh. Bakteri ini juga dapat mencegah perkembangan patogen berbahaya seperti bakteri *Vibrio*, yang menyebabkan penyakit pada udang (Monier et al., 2023). *Bacillus* juga meningkatkan keseimbangan mikroflora saluran pencernaan udang, mendukung pencernaan dan penyerapan nutrisi, dan mengurangi stres pada udang (Nam et al., 2022). Dengan demikian, penggunaan *Bacillus* dapat meningkatkan ketahanan tubuh udang terhadap penyakit dan mendorong pertumbuhan yang lebih sehat dan efisien dalam budi daya akuakultur.

Bacillus sp. merupakan salah satu genus bakteri yang paling banyak digunakan sebagai bioaditif dalam pakan udang vaname karena memiliki berbagai

keunggulan fungsional dalam mendukung kesehatan dan performa pertumbuhan udang. Salah satu keunggulan utamanya adalah kemampuannya memproduksi berbagai enzim pencernaan, seperti protease, amilase, dan lipase, yang berperan dalam meningkatkan efisiensi pemanfaatan nutrisi dari pakan, sehingga berdampak positif terhadap laju pertumbuhan dan konversi pakan (Xue et al., 2022). Selain itu, *Bacillus* sp. memiliki kemampuan bersaing dengan mikroorganisme patogen di saluran pencernaan melalui mekanisme eksklusi kompetitif dan produksi senyawa antimikroba seperti surfaktan, iturin, dan fengisin, yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti *Vibrio* spp., penyebab utama penyakit pada udang (Madani et al., 2018).



Gambar 5. Mekanisme kerja probiotik dalam meningkatkan kesehatan dan pertumbuhan udang melalui modulasi mikrobiota usus, ekspresi gen dan aktivitas enzimatis
Sumber : Goh et al. (2023)

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Azzahra (2024), menunjukkan bahwa pemberian penambahan probiotik *Bacillus* sp. dengan dosis 20 ml/kg ke dalam pakan dapat menghasilkan nilai tertinggi pada penambahan bobot mutlak, laju pertumbuhan harian, sintasan, dan FCR udang vannamei.

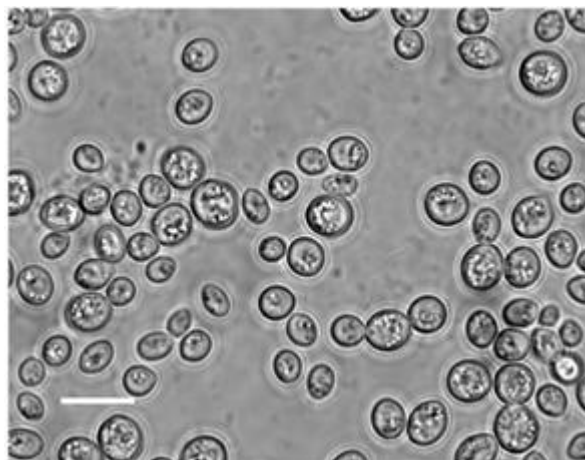
2.4 Ragi Sebagai Imunostimulan Dalam Akuakultur

Khazalina (2020), menyatakan bahwa taksonomi dari fungi adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia

Phylum : Fungi
 Subphylum : Ascomycota
 Class : Saccharomycetes
 Order : Saccharomycetales
 Family : Saccharomycetaceae
 Genus : *Saccharomyces*
 Spesies : *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae memiliki membrane sitoplasma, nukleus, vakuola, globula lipid, mitokondria, kapsul, dan dinding sel. Fungi ini berbentuk oval (bulat telur) dengan ukuran sekitar 1-5µm atau 20-25µm dan lebar sekitar 1-10µm (Cesena et al., 2021). Selain bakteri Gram positif, Gram negatif, dan alga uniseluler, ragi adalah salah satu mikroba yang paling sering digunakan sebagai immunostimulan. Hal ini karena *Saccharomyces cerevisiae* memiliki banyak keunggulannya, seperti kemampuan untuk bertahan dalam kondisi asam dan basa, bebas dari plasmid, dan tidak bersifat patogen (Jullianti et al., 2020).

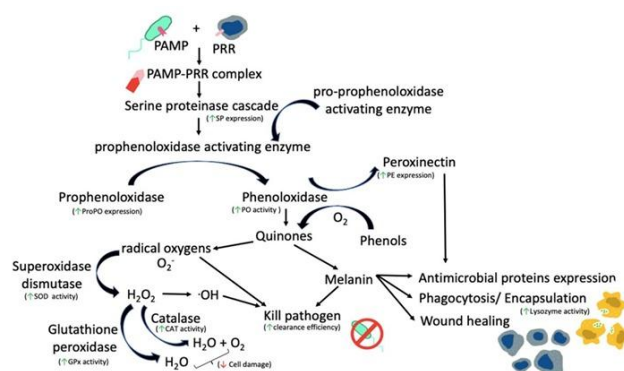


Gambar 6. *Saccharomyces cerevisiae*
 Sumber : Cesena et al. (2021)

β -Glucan yang terkandung dalam ragi memiliki potensi besar sebagai bahan tambahan pakan dalam budi daya udang. Senyawa ini dikenal dapat memperkuat sistem kekebalan tubuh udang, meningkatkan resistensi terhadap penyakit, serta memperbaiki kesehatan secara keseluruhan. Selain itu, β -Glucan juga dapat meningkatkan kinerja pencernaan dengan merangsang pertumbuhan mikro-

flora baik dalam saluran pencernaan, yang pada gilirannya mendukung penyerapan nutrisi yang lebih efisien (Azzahra et al., 2024).

β -glucan juga merangsang aktivasi jalur *prophenoloxidase* (proPO), salah satu komponen penting dalam sistem pertahanan udang. Jalur ini berperan dalam sintesis melanin yang membantu mengisolasi dan membunuh patogen yang masuk ke dalam tubuh udang. Melalui mekanisme tersebut, pemberian β -glucan secara oral dalam pakan dapat meningkatkan kemampuan udang untuk menahan serangan patogen seperti *Vibrio parahaemolyticus* dan *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP), tanpa menimbulkan efek toksik (Tian et al., 2023). Berdasarkan hasil penelitian Himzanah et al. (2023), pemberian *saccharomyces cerevisiae* memberikan hasil yang positif terhadap nilai sel granular yang berfungsi untuk meningkatkan pertahanan tubuh terhadap serangan patogen dan benda asing dengan nilai masing-masing 2-8% dan 3-4% terhadap jumlah granular.



Gambar 7. Mekanisme sistem imun udang
Sumber : Goh et al. (2023)

2.5 Deteksi Molekuler Penyakit *Acute hepatopancreatic Necrosis Disease* (AHPND) dan *Enterocytozoon Hepatopenaei* (EHP) Pada Udang Vaname

Penyakit *Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease* (AHPND) sering dikaitkan atau disamakan juga dengan *Early Mortality Syndrome* (EMS). Penyakit *Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease* (AHPND) disebabkan oleh bakteri *Vibrio parahaemolyticus*, yang menginfeksi komoditas air laut terutama udang. Bakteri patogen menyerang bagian *hepatopancreas* udang (Syamsuddin et al.,

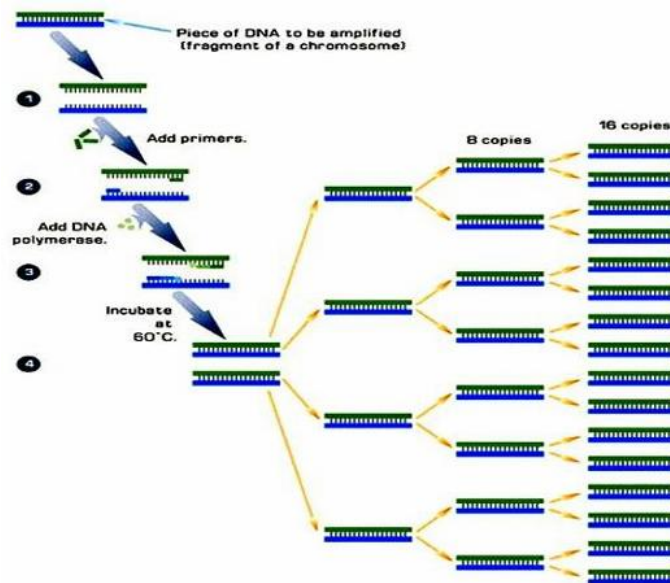
2023). Udang yang terkena AHPND menunjukkan gejala anoreksia, saluran pencernaan kosong, dan *hepatopancreas* pucat. Penyakit ini menyebabkan kerugian hingga dengan tingkat mortalitas sebesar 100 % pada udang berumur 20-30 hari (Kumar et al., 2021). Fluktuasi serta ketidaksesuaian dengan standar baku mutu pada beberapa parameter kualitas air, seperti suhu, salinitas, dan pH, menjadi faktor pemicu timbulnya penyakit AHPND (Soto-Rodriguez et al., 2019). Penyakit ini disebabkan oleh strain tertentu dari bakteri *Vibrio parahaemolyticus* yang membawa plasmid pVA1 berukuran 69–70 kbp, khususnya pada fragmen 3,5 kb yang mengandung gen pengkode toksin *Photorhabdus insect related AB* (*pirA*, *pirB*) (Caro et al., 2020).

Enterocytozoon hepatopenaei (EHP) merupakan parasit yang pertama kali di-laporkan menyebabkan penurunan pertumbuhan atau disebut sebagai *monodon slow growth syndrome* (MSGs) pada udang windu (*Penaeus monodon*) di Thailand pada tahun 2001 (Aras et al., 2024). Gejala infeksi EHP sering dilaporkan muncul bersamaan dengan koinfeksi oleh *Vibrio parahaemolyticus*, yang menyebabkan penyakit berak putih (*white feces syndrome*) (Subash et al., 2023). Udang yang terinfeksi EHP umumnya menunjukkan pertumbuhan yang lambat dan ukuran tubuh yang tidak seragam, serta kadang-kadang menunjukkan gejala khas seperti kotoran berwarna putih. Secara umum, EHP dapat menghambat pertumbuhan udang tanpa menyebabkan kematian, tetapi dapat menurunkan hasil pembiakan, yang berpotensi menimbulkan ancaman jangka panjang bagi industri budidaya udang (Aras et al., 2024). Secara patologi, EHP biasanya menyebabkan otot udang menjadi putih karena spora yang menghambat atau jaringan menjadi lisis, tetapi EHP juga dapat menginfeksi tubulus hepatopankreas udang, merusak kemampuan organ untuk mencerna dan mendapatkan nutrisi dari pakan (Babu et al., 2024).

Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan teknik amplifikasi DNA yang sangat sensitif dan spesifik, serta telah menjadi alat utama dalam deteksi molekuler penyakit pada komoditas akuakultur, termasuk udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). Teknik ini memungkinkan deteksi dini patogen penyebab penyakit, seperti *Vibrio parahaemolyticus* yang mengandung gen virulen *pirA* dan *pirB* penyebab (AHPND), serta mikrosporidia (EHP) melalui pengenalan

fragmen DNA spesifik dari masing-masing agen penyakit (Zhang et al., 2022). Deteksi berbasis PCR sangat penting karena mampu mengidentifikasi keberadaan patogen bahkan pada stadium subklinis, sebelum munculnya gejala atau mortalitas yang nyata, sehingga memberikan dasar bagi pengambilan keputusan manajemen biosekuriti secara tepat waktu.

Penggunaan PCR tidak hanya berguna dalam aspek diagnosis, tetapi juga dalam evaluasi efektivitas intervensi imunologis, seperti pemberian imunostimulan atau probiotik dalam pakan. Korelasi antara status imun udang dan hasil deteksi PCR dapat digunakan untuk mengukur seberapa efektif sistem imunitas non-spesifik udang dalam mengendalikan infeksi (Han et al., 2015). Parameter status imun, seperti peningkatan *total haemocyte count* (THC), aktivitas fagositik, dan ekspresi gen imun (misalnya *prophenoloxidase* dan *lysozyme*), apabila dikombinasikan dengan data prevalensi infeksi berdasarkan hasil PCR, dapat memberikan gambaran menyeluruh mengenai respons biologis udang terhadap agen penyakit. Menurut Setyawati & Zubaidah (2021), proses PCR melibatkan 3 tahap siklus temperatur yaitu : 1. Denaturasi ($94-95^{\circ}\text{C}$), untuk memisahkan rantai ganda menjadi dua rantai tunggal agar primer dapat menempel, 2. Annealing ($50-60^{\circ}\text{C}$), penempelan primer dan pembentukan ikatan H baru antara untai tunggal DNA dengan primer, 3. Pemanjangan (72°C), pemanjangan rantai tunggal primer dari ujung 3' ke 5' dengan enzim taq polimerase.



Gambar 8. Proses PCR
Sumber : Yusuf (2010)

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

3.1.1 Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan pada bulan September hingga Februari 2025

3.1.2 Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan di Laboratorium *Animal and Health Service*, Kota Pariaman, Provinsi Sumatera Barat.

3.2 Bahan dan Alat

3.2.1 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Nama bahan, konsentrasi, merek dan fungsi bahan

No	Nama Bahan	Konsentrasi	Merek	Fungsi
1.	Udang Vaname			Hewan uji.
2.	Pakan Pelet		Japfa	Sebagai pakan hewan uji.
3.	<i>Bacillus</i> sp.	500 g	Sanolife	Sebagai probiotik.
4.	Ragi	500 g	Agrimos	Sebagai probiotik.
5.	Media	500 g	Merck	Untuk mengisolasi spesies
	<i>Thiosulfate</i>			<i>vibrio</i> .
	<i>Citrate Bile</i>			
	<i>Sucrose</i> (TCBS)			
6.	Aquades			Bahan pelarut.
7.	Metanol	500 g	Merck	Bahan untuk fiksasi hemolim.
8.	<i>Natrium Chlorid</i>	500 g	Merck	Bahan untuk media TCBS.

Tabel 1. Nama bahan, konsentrasi, merek dan fungsi bahan (Lanjutan)

No	Nama Bahan	Konsentrasi	Merek	Fungsi
9.	<i>Magnesium Sulfate</i>	500 g	Merck	Bahan untuk media TCBS.
10.	<i>Kalium Chlorid</i>	500 g	Merck	Bahan untuk media TCBS.
11.	<i>Methyl Orange</i>	25 g	Merck	Bahan yang digunakan untuk titrasi Alkalinitas.
12.	Asam Oksalat	500 g	Merck	Bahan yang digunakan untuk titrasi Alkalinitas.
13.	Postasium Permanganat	250 g	Merck	Bahan yang digunakan untuk pengecekan <i>Total Organic Matter</i> .
14.	Asam Sulfate	2,5 l	Merck	Bahan yang digunakan untuk pengecekan <i>Total Organic Matter</i> .
15.	Alkohol	1 l	OneMed	Sterilisasi.
16.	Larutan EDTA			Sebagai antikogulan.
17.	Giemsa	500 ml	Merck	Bahan untuk pewarnaan.

3.2.2 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Nama alat, spesifikasi, merek dan fungsi alat

No	Nama Alat	Spesifikasi	Merek	Fungsi
1.	Kacamata <i>safety</i>	1		Perlindungan mata dari percikan bahan kimia berbahaya.
2.	Masker Gas	1		Melindungi menghirup polutan atau gas beracun.
3.	Erlemenyer	125 ml & 250 ml	Duran	Sebagai wadah dari bahan kimia cair.

Tabel 2. Nama alat, spesifikasi, merek dan fungsi alat (Lanjutan)

No	Nama Alat	Spesifikasi	Merek	Fungsi
4.	Beaker Glass	500 ml	Duran	Untuk Menampung bahan atau sampel sementara.
5.	Bunsen			Alat pemanas dan pembakaran.
6.	Mikro pipet			Memindahkan cairan dari suatu tempat.
7.	Gelas ukur	1000 ml	Glasco	Untuk mengukur volume larutan atau cairan dengan tepat.
8.	Mikro Tip			Digunakan untuk mengambil larutan dalam volume kecil.
9.	Cawan Petri		Anumbra	Untuk membiakkan sel dengan menyediakan ruang dan mencegah kontaminasi.
10.	<i>Refractometer</i>		Atago	Mengukur indeks pembiasan pada cairan yang digunakan untuk mengukur kadar garam.
11.	Timbangan Digital			Untuk menimbang bahan yang akan digunakan.
12.	<i>Hot Plate</i>		Thermo	Alat untuk memanaskan atau menghangatkan sekaligus.
13.	Bulb			Untuk menghisap larutan dari dalam pipet ukur.

Tabel 2. Nama alat, spesifikasi, merek dan fungsi alat (Lanjutan)

No	Nama Alat	Spesifikasi	Merek	Fungsi
14.	Buret	50 ml	Iwaki	Untuk mengukur volume cairan atau gas secara tepat.
15.	Kompur Listrik			Untuk memanaskan.
16.	Pipet Ukur	10 ml	Iwaki	Mengambil larutan dan mengukur volume larutan pada berbagai skala / ukuran dengan ketelitian tinggi.
17.	Labu Ukur	1000 ml	Iwaki	Untuk membuat larutan dengan volume yang diketahui secara teliti.
18.	<i>Haemocytometer</i>		Marienfeld Superior	Alat perhitungan secara cepat.
19.	Kulkas		Panasonic	Alat untuk menyimpan media.
20.	Tes Kit Fosfat		Merck	Alat untuk pengecekan fosfat.
21.	Tes Kit Amonium		Merck	Alat untuk pengecekan Amonium.
22.	Tes Kit Nitrit		Merck	Alat untuk pengecekan nitrit.
26.	RT- PCR			Prosedur pemeriksaan yang dilakukan untuk mendeteksi keberadaan material genetik dari suatu bakteri atau virus.
27.	Syringe	1 ml	OneMed	Untuk mengambil hemolim.

Tabel 2. Nama alat, spesifikasi, merek dan fungsi alat (Lanjutan)

No	Nama Alat	Spesifikasi	Merek	Fungsi
28.	Mikrotube	1,5 ml	OneMed	Wadah hemolim yang diambil.
29.	Masker		Sensi	Melindungi menghirup polutan atau gas beracun.
30.	Sarung Tangan		Safe Glove	melindungi tangan dari cedera, luka, dan paparan bahan kimia.
31.	Mikroskop		Euromax	Alat mengamati objek.
32.	Kaca Preparat		Gea	Untuk meletakkan objek.
33.	Cover Glass		OneLab	Alat untuk menutup sampel yang akan diamati.
34.	Kamera			Alat untuk mendokumentasikan.

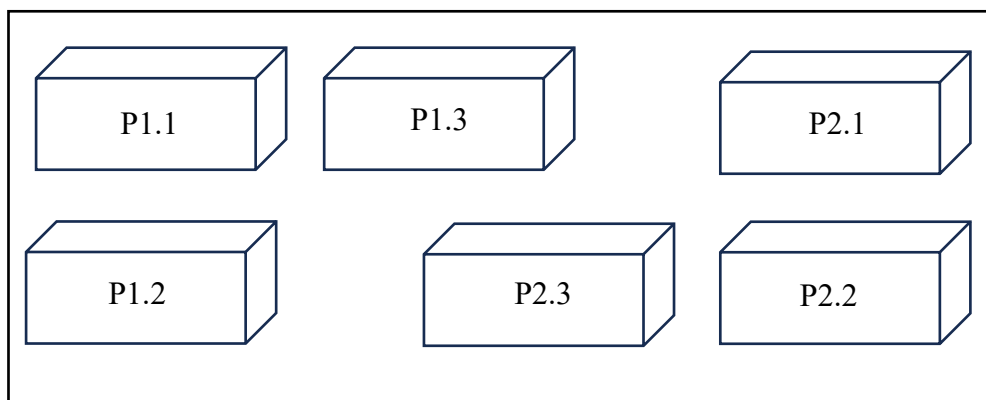
3.3 Rancangan Percobaan

Rancangan pada penelitian ini terdiri dari 2 perlakuan dan 3 ulangan. Adapun perlakuan dan rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

Perlakuan 1 (P1.1,P1.2,P1.3) : Penambahan ragi sebanyak 3 g/kg pakan.

Perlakuan 2 (P2.1,P2.2,P2.3): Penambahan *Bacillus* sp. sebanyak 2 g/kg pakan.

Susunan rancangan pada penelitian ini disajikan pada Gambar 9.



Gambar 9. Tata letak kolam budidaya

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Persiapan Wadah dan Hewan Uji

Pada penelitian menggunakan wadah berupa kolam pasir yang dilapisi dengan terpal geomembrane untuk mengurangi kemungkinan air meresap ke dalam tanah, memudahkan pengelolaan kualitas air, dan memiliki daya tahan yang sangat tinggi. Kolam yang digunakan berbentuk persegi panjang dengan drainase pusat di tengah dasar tambak beton, dan pematang setinggi dua meter dari dasar. Sebelum digunakan, kolam dikeringkan selama 1 minggu dengan bantuan sinar matahari untuk membunuh patogen dari siklus budi daya sebelumnya.

Pada penelitian ini menggunakan benur udang diperoleh dari Hatchery PT. Suri Tani Pemuka Banyuwangi dan Bali dengan umur PL 13 (Post Larva) sebanyak 120.000 ekor per petak. Sebelum benur ditebar ke dalam wadah pemeliharaan, dilakukan proses aklimatisasi terlebih dahulu untuk mencegah stres akibat perubahan kondisi lingkungan. Benur yang berada dalam kantong plastik ditempatkan ke dalam wadah pemeliharaan selama satu jam. Setelah itu, air dari wadah pemeliharaan dimasukkan ke dalam kantong plastik, lalu benur dikeluarkan dari kantong plastik tersebut.

3.4.2 Masa Pemeliharaan

Pada masa pemeliharaan udang diberi pakan dengan frekuensi pemberian 5 kali sehari pada pukul 07.00, 11.00, 15.00, 19.00 dan 22.00 WIB. Penambahan *Bacillus* sp. dan ragi pada pakan dilakukan 2 kali sehari pada waktu 15.00 dan 19.00 WIB. Masa pemeliharaan dilakukan selama 58 hari, pergantian air pada kolam dilakukan 4 hari sekali.

3.4.3 Prosedur Pencampuran Bahan Aditif

Dalam penelitian ini, proses pencampuran pakan mengikuti prosedur yang ada di PT Suri Tani Pemuka dimulai dengan persiapan alat dan bahan yang diperlukan, seperti *Bacillus*, ragi, air hangat, air, ember, dan bak pakan. Langkah pertama menuangkan bahan (ragi dan *Bacillus* sp.) ke dalam wadah masing-masing, kemudian masing-masing wadah diberi air hangat lalu diaduk hingga larut. Campuran dari masing-masing perlakuan tersebut kemudian ditambahkan

air dalam ember dan diaduk hingga larut. Setelah itu, pakan dimasukkan ke dalam bak pakan, dan pencampuran dilakukan dengan cara mengaduk pakan secara merata sambil menambahkan larutan bahan penelitian.

3.4.4 Pengambilan Hemolim

Hemolim pada udang diperoleh dari bagian *thorax* yang terletak di antara pangkal kaki jalan terakhir dan kaki renang pertama. Sampel yang digunakan sebanyak 5 ekor pada setiap ulangan, diambil menggunakan *syringe* 1ml yang sudah berisi 0,3 ml antikogulan (EDTA). Pengambilan dilakukan 3 kali dengan interval pengambilan 7 hari dimulai dari udang berumur 37, 44, dan 51 hari.

3.5 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati pada penelitian ini meliputi rerata berat tubuh, rerata pertumbuhan harian, tingkat kelangsungan hidup rasio, konversi pakan, biomassa, deteksi penyakit AHPND dan EHP, *total haemocyte count* dan *differential haemocyte count* Sebagai data penunjang dilakukan pengukuran kualitas air meliputi total *organic matter*, alkalinitas, salinitas, fosfat, amonium, nitrit, nitrat.

3.5.1 Rerata Berat Tubuh (RBT)

Sampling rerata berat tubuh pada penelitian ini dimulai saat udang berumur 33 hari. Menurut Hermawan (2012) rerata berat udang dapat dihitung menggunakan cara sebagai berikut:

$$RBT = \frac{\text{Berat total sampel}}{\text{Jumlah sampel}}$$

3.5.2 Rerata Pertumbuhan Harian

Rerata pertumbuhan harian merupakan kenaikan berat harian rata-rata udang dalam jangka waktu tertentu, yang digunakan untuk mengukur kecepatan pertumbuhan. Rerata pertumbuhan udang dapat dihitung menggunakan rumus yang dikemukakan oleh Haliman & Adijaya (2005).

$$RPH = \frac{RBT \text{ sampling sebelumnya} - RBT \text{ sampling saat ini}}{\text{Interval waktu sampling}}$$

3.5.3 Tingkat Kelangsungan Hidup

Tingkat kelangsungan hidup udang merujuk pada populasi udang yang hidup diakhir pemeliharaan dibandingkan dengan jumlah yang ditebar. Tingkat kelangsungan hidup dapat dihitung menggunakan rumus yang dijelaskan oleh Haliman & Adiwijaya (2005).

$$\text{Tingkat Kelangsungan Hidup} = \frac{\text{Jumlah tebar awal}}{\text{jumlah panen}} \times 100\%$$

3.5.4 Rasio Konversi Pakan

Rasio konversi pakan atau *Feed Conversion Ratio* (FCR) diartikan sebagai perbandingan antara berat pakan yang dimakan dengan pertambahan berat ikan yang terjadi. Nilai FCR dihitung berdasarkan persamaan (Zonneveld et al., 1991).

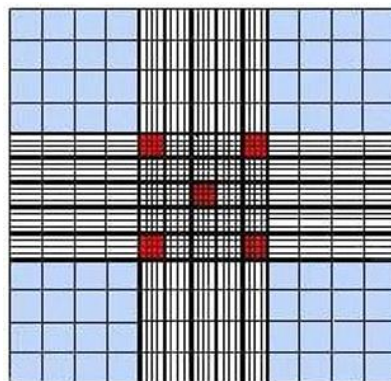
$$\text{Rasio Konversi Pakan} = \frac{\text{Jumlah pakan diberikan (kg)}}{\text{Pertambahan berat udang (kg)}}$$

3.5.5 Total Haemocyte Count (THC)

Pengamatan dilakukan dengan mengambil hemolim dari udang yang masih hidup. Pengukuran *total haemocyte count* dalam hemolim udang merupakan hal yang penting untuk menilai kondisi kesehatan dan sistem kekebalan udang (Pratiwi et al., 2016). Hal ini karena hemosit memiliki peran vital dalam melindungi tubuh udang dari patogen dan infeksi. Perhitungan nilai *total haemocyte count* menurut Himzanah et al. (2023) sebagai berikut:

$$\text{Total Hemosit (sel/ml)} = \text{Jumlah Sel (N)} \times 10^4 \times \text{Faktor pengencer}$$

$$\text{Faktor pengencer} = \frac{\text{Hemolim} + \text{Antikogulan}}{\text{Hemolim}}$$

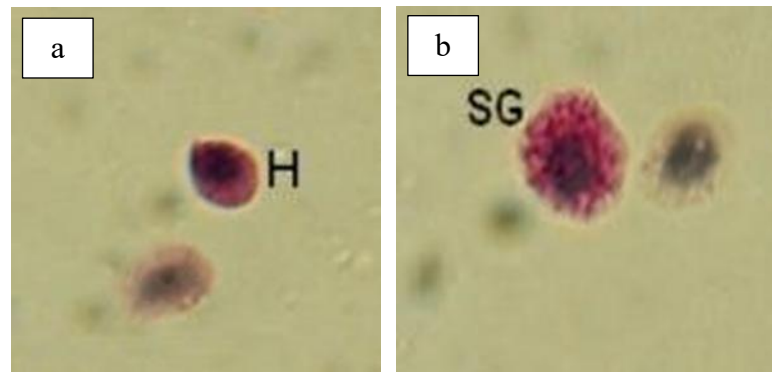


Gambar 10. Kotak *haemocytometer*
Sumber : Khan et al. (2012)

3.5.6 Differential Haemocyte Count (DHC)

Pengamatan *differential hemocyte* dilakukan dengan mengoleskan hemolim pada *object glass*, kemudian direndam dalam larutan methanol dan larutan giemsa. Setelah itu, dilakukan pembilasan dengan aquades dan dikeringkan menggunakan bunsen. Pengamatan jenis hemosit dilakukan dengan mikroskop, lalu diklasifikasikan menjadi sel granular dan sel hyalin. Penghitungan jumlah DHC menggunakan rumus (Tampangallo et al., 2012).

$$\text{Jenis Sel Hemosit (\%)} = \frac{\text{Jumlah tiap jenis sel hemosit}}{\text{total hemosit}} \times 100\%$$



Gambar 11. a) H = Sel hyalin b) SG = sel granular
Sumber : Kakoolaki et al. (2010)

3.5.7 Deteksi Penyakit AHPND dan EHP

Variabel ini digunakan untuk mendeteksi penyakit yang mungkin menyerang udang dengan metode *real time polymerase chain reaction*, dengan fokus pada *Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease* (AHPND) dan *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP). Sampel yang digunakan terdiri dari sedimen di dasar kolam dan udang. Pengecekan dilakukan sekali dalam seminggu sebelum umur udang mencapai 30 hari dan dilakukan sekali dalam dua minggu ketika umur udang melebihi 30 hari. Pengambilan sampel sedimen dilakukan dengan bantuan alat berupa stik, sedimen diperoleh dari dasar kolam dan untuk sampel udang diambil melalui anco, dimulai saat udang mencapai DOC 12 hari.

3.5.8 Biomassa

Biomassa merupakan jumlah berat total udang yang hidup dalam suatu populasi atau area tertentu pada periode waktu tertentu, Biasanya dinyatakan dalam satuan berat (kilogram atau ton). Biomassa dapat dihitung menggunakan rumus yang dijelaskan oleh Haliman & Adiwijaya (2005).

Biomassa = Jumlah udang x Berat rata rata udang

3.5.9 Pemantauan Kualitas Air

Selama pemeliharaan intensif udang vaname, parameter kualitas air yang diamati meliputi alkalinitas, *total organic matter*, salinitas, fosfat, amonium, nitrit dan nitrat. Pengukuran kualitas air dilakukan sekali dalam seminggu.

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian akan dianalisis secara kuantitatif dan kualitatif. Data kuantitatif akan ditabulasi menggunakan microsoft excel kemudian dilakukan uji T untuk variabel *total hamocyte count*, *differential haemocyte count*, rerata berat tubuh, rerata pertumbuhan harian, tingkat kelangsungan hidup dan rasio konversi pakan. Sedangkan variabel *polymerase chain reaction* dan kualitas air dianalisis menggunakan kualitatif secara deskriptif.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan kesimpulan yang didapatkan sebagai berikut :

1. Penambahan ragi dan *Bacillus* sp. dalam pakan udang vaname terbukti meningkatkan performa budidaya secara seimbang. *Bacillus* sp. lebih unggul dalam peningkatan rasio konversi pakan dan biomassa akhir melalui perbaikan pencernaan dan lingkungan, sedangkan ragi lebih menstimulasi sistem imun. Keduanya berpotensi sebagai bioaditif fungsional untuk budidaya udang berkelanjutan. Dengan nilai rasio konversi pakan P1 ragi (1,68) P2 *Bacillus* sp. (1,12) dan biomassa P1 ragi (805 kg) P2 *Bacillus* sp. (1099 kg).
2. Pemberian pakan yang ditambahkan ragi dan *Bacillus* sp. terbukti meningkatkan sistem imun non-spesifik udang vaname (*Litopenaeus vannamei*), khususnya pada parameter *total haemocyte count* (THC). ragi memberikan peningkatan THC lebih tinggi ($8,9 \times 10^6$ sel/ml) dibanding *Bacillus* sp. ($7,8 \times 10^6$ sel/ml).
3. Penggunaan ragi dan *Bacillus* sp. dalam pakan udang vaname belum mampu sepenuhnya mencegah infeksi AHPND dan EHP, meski dapat meningkatkan imun non-spesifik. Gen patogen tetap terdeteksi pada semua perlakuan

5.2 Saran

Dari penelitian ini dapat disarankan terkait penggunaan ragi dan *Bacillus* sp. sebagai aditif pakan pada udang vaname dikembangkan lebih lanjut dalam skala yang lebih luas dengan pendekatan metodologis yang lebih komprehensif. Optimalisasi dosis, frekuensi pemberian, serta potensi kombinasi dengan imunostimulan atau agen biologis lain yang bersinergi perlu dikaji untuk meningkatkan

efektivitas terhadap ketahanan infeksi. Selain itu, perluasan durasi penelitian dan peningkatan jumlah sampel diperlukan guna memperoleh data yang lebih representatif dan valid secara statistik.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Achupallas, J. M., Zhou, Y., & Davis, D. (2016). Pond production of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, fed grain distillers dried yeast. *Aquaculture Nutrition*, 22(6), 1222–1229. <https://doi.org/10.1111/anu.12359>
- Agustama, Y., Lestari, T. A., Verdian, A. H., Witoko, P., & Marlina, E. (2021). Penambahan probiotik EM4 dan *Bacillus* sp. pada pakan buatan terhadap pertumbuhan dan kelangsungan hidup post larva udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Perikanan Terapan*, 2(1), 39–44. <https://doi.org/10.25181/peranan.v2i1.2358>
- Albab, M. A., & Rachmawati, R. (2025). Pengaruh kualitas air terhadap laju pertumbuhan udang vaname (*Penaeus vannamei* Boone, 1931). *Management of Aquatic Resources Journal*, 12(1), 45–52. <https://doi.org/10.14710/marj.v12i1.48589>
- Aras, A. K., & Faruq, W. E. M. (2024). Penerapan budi daya udang vaname dengan sistem super intensif (studi kasus: PT XYZ, Karangasem, Bali). *Jurnal Ilmu Perikanan dan Kelautan Indonesia*, 6(1), 60–75. <https://doi.org/10.36526/jl.v6i1.3241>
- Ariadi, H., Wafi, A., Musa, M., & Supriatna. (2021). Keterkaitan hubungan parameter kualitas air pada budi daya intensif udang putih (*Litopenaeus vannamei*). *Samakia: Jurnal Ilmu Perikanan*, 12(1), 18–27. <https://doi.org/10.35316/jsapi.v12i1.781>
- Arlo, W. F & James, L. L. (1991). *Marine shrimp culture: principles and practices*. Elsevier Science. https://api.pageplace.de/preview/DT0400.9781483291048_A23885173/preview-9781483291048_A23885173.pdf
- Azzahra, A. S., Mufidah, S., Turahmi, S., & Praja, R. N. (2024). The effectiveness of β -glucan *Saccharomyces cerevisiae* and endophytic bacteria *Sonneratia alba* leaves on the immune response of *Litopenaeus vannamei* infected with *Vibrio harveyi*. *Journal of Aquaculture Science*, 9(2), 128–132. <https://doi.org/10.20473/joas.v9i2.61942>

- Azzahra, F. (2024). Pengaruh penambahan probiotik *Bacillus* sp pada pakan terhadap tingkat pertumbuhan udang vanname (*Litopenaeus vannamei*). (No Publikasi 42347) [Skripsi. Universitas Muhammadiyah Makassar]. Digital Library Universitas Muhammadiyah Makassar.
- Babu, S. G., Uma, A., & Shanmugam, S. A. (2024). Metagenomic profiling identifies potential biomarkers for shrimp health assessment and pathobiome-like association involving WFS/AHPND associated bacteria in *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP)-infected *Penaeus vannamei*. *Indian Journal of Animal Research*, 58(9), 1512–1520. <https://doi.org/10.18805/IJAR.B-5394>
- Biswas, G., De, D., Ghoshal, T. K., & Maiti, T. K. (2012). Dietary supplementation of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) enhances growth and immunity of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture Research*, 43(5), 714–726. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.02883.x>
- Boonyawiwat, V., Patanasatienkul, T., Kasornchandra, J., Poolkhet, C., Yaemkasem, S., Hammell, L., & Davidson, J. (2017). Impact of farm management on expression of early mortality syndrome/acute hepatopancreatic necrosis disease (EMS/AHPND) on penaeid shrimp farms in Thailand. *Journal of Fish Diseases*, 40(5), 649–659. <https://doi.org/10.1111/jfd.12545>
- Caro, L. F., Mai, H. N., Kanrar, S., Cruz-Flores, R., & Dhar, A. K. (2020). A mutant of *Vibrio parahaemolyticus* pirABvp(+) that carries binary toxin genes but does not cause acute hepatopancreatic necrosis disease. *Microorganisms*, 8(10), 1549. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8101549>
- Castex, M., Lemaire, P., Wabete, N., & Chim, L. (2009). Effect of dietary *Saccharomyces cerevisiae* (CNCM I-3856) and *Bacillus subtilis* (2335) on immune response and resistance to *Vibrio nigripulchritudo* in *Litopenaeus stylirostris*. *Aquaculture*, 290(1–2), 56–60. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.01.019>
- Cesena, C. E., Villasante, F. V., Guzman, G. A., Gonzalez, A. L., & Cordova, A. I. C. (2021). Update on the use of yeast in shrimp aquaculture: a minireview. *International Aquaculture Research*, 13, 1–16. <https://doi.org/10.22034/IAR.2021.1904524.1066>
- Chang, C. F., Su, M. S., Chen, H. Y., & Liao, I. C. (2000). Dietary β -1,3-glucan effectively improves immunity and survival of the grouper *Epinephelus malabaricus* during *Vibrio anguillarum* infection. *Aquaculture*, 189(1–2), 11–20. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(00\)00355-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00355-3)

- Chang, C.C., Gua, W.R., & Cheng, W. (2013). Effects of dietary administration of the probiotic, *Saccharomyces cerevisiae*, on the immune responses, and disease resistance of the white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology*, 40, 43–55.
[https://doi.org/10.29822/JFST.201303_40\(1\).0004](https://doi.org/10.29822/JFST.201303_40(1).0004)
- Chen, M., Chen, X., Tian, L., Liu, Y., & Niu, J. (2020). Enhanced intestinal health, immune responses and ammonia resistance in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed dietary hydrolyzed yeast (*Rhodotorula mucilaginosa*) and *Bacillus licheniformis*. *Aquaculture Reports*, 17, 100385.
<https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100385>
- Cheng, A.C., Chang, H.T., Lee, T.Y., Lin, J.-S., & Liu, C.H. (2024). SYNLAB prime probiotics enhances growth performance, and resistance of white shrimp, *Penaeus vannamei* to *Enterocytozoon hepatopenaei* and *Vibrio alginolyticus*: Insights into immune and metabolic pathway modulations. *Fish & Shellfish Immunology*, 110016.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2024.110016>
- Delosaqua. (2020). *Parameter kualitas air dalam budidaya udang*.
<https://delosaqua.com/id/parameter-kualitas-air-dalam-budidaya-udang/>
- Goh, J. X. H., Tan, L. T.H., Law, J. W.F., Khaw, K.Y., Zengin, G., Chan, K. G., & Goh, B.H. (2023). Probiotics: Comprehensive exploration of the growth promotion mechanisms in shrimps. *Progress in Microbes & Molecular Biology*, 6(1). <https://doi.org/10.36877/pmmmb.a0000324>
- Hai, N. V., & Fotedar, R. (2009). Comparison of the effects of the prebiotics (inulin and β -glucan) and the probiotic (*Bacillus subtilis*) on the growth, the haemolymph quality and the intestinal microbiota of juvenile western king prawns (*Penaeus latisulcatus* Kishinouye, 1896). *Aquaculture Research*, 40(7), 734–744. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.02147.x>
- Haliman, R. W., & Adijaya, D. S. (2005). *Udang vaname*. Penebar Swadaya.
- Han, J. E., Tang, K. F. J., Tran, L. H., & Lightner, D. V. (2015). *Photorehabdus* insect-related (Pir) toxin-like genes in a plasmid of *Vibrio parahaemolyticus*, the causative agent of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) of shrimp. *Diseases of Aquatic Organisms*, 113(1), 33–40. <https://doi.org/10.3354/dao02830>
- Hermawan, D. (2012). Teknik Pemeliharaan Larva Udang Windu (*Penaeus monodon*) di HSRT. *Proposal Praktek Kerja Lapangan II Jurusan Teknologi Budi daya Perikanan*. Jawa Timur: Akademi Perikanan Sidoarjo.
- Himzanah, S. S., Rudi, M., Prasetyo, H., & Hartana, N. S. (2023). Perbandingan imunostimulan yang berbeda terhadap gambaran darah udang vaname (*litopenaeus vannamei*) di Tambak Pendampingan PT Suri Tani Pemuka.

Jurnal Akuakultur, Teknologi dan Manajemen Perikanan Tangkap dan Ilmu Kelautan, 6(2), 110-122.

- Hong, X., Lu, L., & Xu, D. (2016). Progress in research on acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND). *Aquaculture International*, 24(2), 577–593. <https://doi.org/10.1007/s10499-015-9948-x>
- Hou, Z. H., Yu, J. Y., Wang, J. J., Li, T., Chang, L. R., Fang, Y., & Yan, D. C. (2021). Development of a PCR assay for the effective detection of *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) and investigation of ehp prevalence in Shandong Province, China. *Journal of Invertebrate Pathology*, 184, 107653. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2021.107653>
- Islami, A. S., & Madyowati, S. O. (2024). Pengaruh penambahan dosis probiotik *Bacillus sp.* yang berbeda pada pakan terhadap pertumbuhan berat mutlak udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) umur 30 hari. *Soetomo Jurnal Pertanian AgroPro*, 2(3), 307–320.
- Jala.tech. (2021). *Standar kualitas air untuk budidaya udang*. <https://jala.tech/id/blog/tips-budidaya/standar-kualitas-air-sumber-untuk-budidaya-udang>
- Johansson, M. W., Keyser, P., Sritunyalucksana, K., & Söderhäll, K. (2000). Crustacean haemocytes and haematopoiesis. *Aquaculture*, 191(1-3), 45–52. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(00\)00418-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00418-9)
- Jullianti, I., Tri, Y., & Shavika, M. (2020). Pengaruh penambahan ragi (*Saccharomyces cerevisiae*) pada pakan terhadap pertumbuhan benih ikan bawal bintang (*Trachinotus blochii*). *Jurnal Intek Akuakultur*, 4(1), 44-57. DOI: 10.31629/intek.v4i1.2023
- Kakoolaki, S., Sharifpour, I., Soltani, M., Ebrahimzadeh, M. H. A., Mirzagar, S., & Rostami, M. (2010). Select morpho-chemical features of hemocytes in farmed shrimp, *Fenneropenaeus indicus* in Iran. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 9(2), 219-232. <http://jifro.ir/article-1-3-en.html>
- Kewcharoen, W., & Srisapoome, P. (2019). Probiotic effects of *Bacillus* spp. from Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) on water quality and shrimp growth, immune responses, and resistance to *Vibrio parahaemolyticus* (AHPND strains). *Fish & Shellfish Immunology*, 94, 175–189. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.09.013>
- Khan, S., Khan, A., Saleh., Khattak, F., & Naseem, A. (2012). An accurate and cost effective approach to blood cell count. *International Journal of Computer Applications*, 50(1), 18–24. <https://doi.org/10.5120/7734-0682>

- Khazalina, T. (2020). *Saccharomyces cerevisiae* dalam pembuatan produk halal berbasis bioteknologi konvensional dan rekayasa genetika. *Journal of Halal Product and Research*, 3(2), 88-91. DOI: 10.20473/jhpr.vol.3-issue.2.88-94
- KKP. (2022, September). *Data Volume Produksi Perikanan Budidaya Pembesaran per Komoditas Utama (Ton)*. Statistik-KKP. https://statistik.kkp.go.id/home.php?m=prod_ikan_prov&i=2#panel-footer-kpda
- Kumar, V., Roy, S., Behera, B. K., Bossier, P., & Das, B. K. (2021). Acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND): Virulence, pathogenesis and mitigation strategies in shrimp aquaculture. *Toxins*, 13(8), 524. <https://doi.org/10.3390/toxins13080524>
- Li, H., Xu, C., Zhou, L., Dong, Y., Su, Y., Wang, X., Qin, J. G., Chen, L., & Li, E. (2019). Beneficial effects of dietary β -glucan on growth and health status of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* at low salinity. *Fish & Shellfish Immunology*, 91, 315–324. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.05.052>
- Li, K., Zheng, T., Tian, Y., Xi, F., Yuan, J.J., Zhang, G., & Hong, H. (2007). Beneficial effects of *Bacillus licheniformis* on the intestinal microflora and immunity of the white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Biotechnology Letters*, 29, 525–530. <https://doi.org/10.1007/s10529-006-9291-4>
- Li, P., & Gatlin III, D. M. (2004). Dietary brewers yeast and the prebiotic Grobiotic™ AE influence growth performance, immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* $\times$ *M. saxatilis*) to *Streptococcus iniae*. *Aquaculture*, 231(1-4), 445–456. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.10.021>
- Ljubica, S. T., Popovic, V., Skarlak, R., Zivanovic, L. Stevanovic, A., Golijan, J., & Ikanovic, J. (2019). Microbiological purification of waste water. *Novi Sad*. 185-194. https://www.researchgate.net/publication/336116050_MICROBIOLOGICAL_PURIFICATION_OF_WASTEWATER
- López-Cervantes, G., Álvarez-Ruiz, P., Luna-Suárez, S., Luna-González, A., Esparza-Leal, H., Castro-Martínez, C., Gámez-Jiménez, C., & Soto-Alcalá, J. (2021). Temperature and salinity modulate virulence and *PirA* gene expression of *Vibrio parahaemolyticus*, the causative agent of AHPND. *Aquaculture International*, 29, 743–756. <https://doi.org/10.1007/s10499-021-00654-0>
- Madani, N. S. H., Adorian, T. J., Farsani, H. G., & Hoseinfar, S. H. (2018). The effect of dietary probiotic Bacilli (*Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis*) on growth performance, feed efficiency, body composition, and immune parameters of whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*)

- postlarvae. *Journal of Aquaculture Research*, 49, 1926–1938.
<https://doi.org/10.1111/are.13648>
- Mogalekar, H. S., Sahil, Lal, J., & Gautam, P. (2025). Taxonomy, biology and anatomy of whiteleg shrimp, *Penaeus vannamei*. In *Shrimp culture technology: farming, health management and quality assurance* (pp. 25–36). Singapore: Springer Nature Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-97-8549-0_2
- Monier, M. N., Kabary, H., Elfeky, A., Saadony, S., El-Hamed, N. N. A., Eissa, M. E., & Eissa, E. S. H. (2023). The effects of *Bacillus* species probiotics (*Bacillus subtilis* and *B. licheniformis*) on the water quality, immune responses, and resistance of whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) against *Fusarium solani* infection. *Aquaculture International*, 31(6), 3437–3455. <https://doi.org/10.1007/s10499-023-01136-1>
- Nayak, S. K. (2010). Probiotics and immunity: a fish perspective. *Fish & Shellfish Immunology*, 29(1), 2–14. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2010.02.017>
- Nam, N. T., Oanh, D. T. H., Thanh, T. T., & Ha, C. H. (2022). Isolation and evaluation the effect of *Bacillus subtilis* BLD01 strain on the survival rates and gut microbiota of *Penaeus vannamei* after challenge with *Vibrio parahaemolyticus*. *Vietnam Journal of Biotechnology*, 20(3), 505–516. <https://doi.org/10.15625/1811-4989/16373>
- Nimrat, S., Khaopong, W., Sangsong, J., Boonthai, T., & Vuthiphandchai, V. (2021). Dietary administration of *Bacillus* and yeast probiotics improves the growth, survival, and microbial community of juvenile whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Applied Aquaculture*, 33(1), 15–31. <https://doi.org/10.1080/10454438.2019.1655517>
- Padilah, B., Rohaiza-Asmini, Y., Gan, H.M., Wan Rozana, W., Wan Muhammad Hazim Wan Sajiri, W., & Kua, B.-C. (2022). Detection of PirA/B toxin genes for acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) and *Vibrio parahaemolyticus* in *Penaeus vannamei* culture from major white shrimp producing farms in Malaysia. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*, 45(1), 171–186. <https://doi.org/10.47836/pjtas.45.1.10>
- Permanti, W. D., Budiardi, T., & Kartamihardja, E. S. (2018). Pengaruh pemberian probiotik *Bacillus* sp. terhadap pertumbuhan dan kelangsungan hidup benur udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Peranan*, 9(2), 125–132. <https://jurnal.polinela.ac.id/PERANAN/article/view/2358>
- Prastiti, L. A., Verdian, A. H., Oktaviana, A., Fatimah, N., Fathurohman, K., Astria, Q., & Siburian, A. F. (2023). Peningkatan respon imun udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) melalui kombinasi vitamin D3, mineral Ca

- dan Mg pada pakan. *Jurnal Ilmu-ilmu Perikanan dan Budidaya Perairan*, 18(1), 14–24. <https://doi.org/10.31851/jipbp.v18i1.11326>
- Pratiwy, F., & Kharima, Z. (2022). The use of bread yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) in increasing growth, disease resistance, and as immunostimulating for various kinds of fish: A review. *Asian Journal of Fisheries and Aquatic Research*. <https://doi.org/10.9734/ajfar/2022/v20i6517>
- Rajendran, K. V., Shivam, S., Praveena, P. E., Rajan, J. J. S., & Avunje, S. (2016). Enterocytozoon hepatopenaei (EHP) in farmed shrimp: First report from India. *Aquaculture*, 454, 272–280. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.12.024>
- Rasuliyanasari, M., & Diniariwisan, D. (2024). Pembenihan larva udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) di Balai Produksi Induk Udang Unggul dan Kekerangan Karangasem, Bali. *Jurnal Vokasi Ilmu-Ilmu Perikanan*, 4(2), 168–175. <https://doi.org/10.35726/jvip.v4i2.7153>
- Reyes-Becerril, M., Angulo, C., Estrada, N., & Ascencio-Valle, F. (2008). Effects of dietary yeast *Saccharomyces cerevisiae* on immune response and growth of juvenile green abalone (*Haliotis fulgens*). *Fish & Shellfish Immunology*, 24(5), 591–599. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2008.01.006>
- Setyawati, R., & Zubaidah, S. (2021). Optimasi konsentrasi primer dan suhu annealing dalam mendeteksi gen leptin pada sapi Peranakan Ongole (PO) menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). *Indonesian Journal of Laboratory*, 4(1), 36-40. <https://doi.org/10.22146/ijl.v4i1.65550>
- Soto-Rodriguez, S. A., Lozano-Olvera, R., Palacios-Gonzalez, D. A., Bolan-Mejia, C., & Rendon-Aguilar, K. G. (2019). Characterization and growth conditions of *Vibrio parahaemolyticus* strains with different virulence degrees that cause acute hepatopancreatic necrosis disease in *Litopenaeus vannamei*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 50(5), 1002–1015. <https://doi.org/10.1111/jwas.12617>
- Staykov, Y., Spring, P., Denev, S., & Sweetman, J. (2007). Effect of a mannan oligosaccharide on the growth performance and immune status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture International*, 15(2), 153–161. <https://doi.org/10.1007/s10499-007-9096-z>
- Subash, P., Chrisolite, B., Sivasankar, P., George, R., Amirtharaj, K., Padmavathy, P., Rani, V., Balaje, R., Gowtham, S., & Mageshkumar, P. (2023). White feces syndrome in *Penaeus vannamei* is potentially an *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) associated pathobiome origin of *Vibrio* spp.. *Journal of invertebrate pathology*, 107932. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2023.107932>.

- Suharli, L., Hamjah, M., Suriyadin, A., & Milis, M. (2023). Potensi agen imunostimulan rumput laut dalam modulasi hemosit udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Ilmu-ilmu Perikanan dan Budidaya Perairan*, 19(1). <https://doi.org/10.31851/jipbp.v19i1.13257>
- Sukonthamarn, P., Wongvises, P., Sangklai, N., Jaroenlak, P., & Tassanakajon, A. (2024). Prophenoloxidase-activating system plays a crucial role in innate immune responses to *Enterocytozoon hepatopenaei* infection in shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology*, 154, 109925 <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2024.109925>
- Syamsuddin, H. S. A., Bimantara, A., & Susanti, D. (2023). Deteksi *Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease* (AHPND) pada udang putih (*Litopenaeus vannamei*) dan air tambak dengan metode nested PCR. Dalam *Prosiding Seminar Nasional Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat*, 1, 22 Juli 2023, LPPM Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta (hlm. 166–173).
- Tahe, S., Mangampa, M., & Suwoyo, H. S. (2020). Pengaruh lama waktu pemeliharaan terhadap pertumbuhan dan sintasan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) pada sistem pentokolan. *Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur*, 2020, 85–92. <https://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/fita/article/view/4779>
- Tampangallo, B. R., Pakidi, C. S., & Rantetondok, A. (2012). Respon imun udang windu (*Penaeus monodon*) yang dipapar bakteri *Vibrio harveyi*. *Prosiding Seminar Nasional Ilmu Pengetahuan dan Teknologi Perikanan (InSINas)*.
- Tang, K. F. J., Han, J. E., Aranguren, L. F., White-Noble, B., Schmidt, M. M., & Piamsomboon, P. (2016). Detection of EHP in *Penaeus vannamei* using nested PCR and its relation to growth retardation in the shrimp. *Diseases of Aquatic Organisms*, 119(2), 111–118. <https://doi.org/10.3354/dao02991>
- Tangprasittipap, A., Sritunyalucksana, K., Chouwdee, S., Somboon, M., Piraporn, N., Withyachumnarnkul, B., & Flegel, T. W. (2013). The microsporidian *Enterocytozoon hepatopenaei* is not the cause of white feces syndrome in whiteleg shrimp *Penaeus (Litopenaeus) vannamei*. *BMC Veterinary Research*, 9, 1–10. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-9-139>
- Tian, J., Yang, Y., Xu, W., Du, X., Ye, Y., Zhu, B., Huang, Y., Zhao, Y., & Li, Y. (2023). Effects of β -1,3-glucan on growth, immune responses, and intestinal microflora of the river prawn (*Macrobrachium nipponense*) and its resistance against *Vibrio parahaemolyticus*. *Fish & Shellfish Immunology*, 142, 109142. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2023.109142>
- Tsai, C.-Y., Chi, C.-C., & Liu, C.-H. (2019). The growth and apparent digestibility of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, are increased with the probiotic,

- Bacillus subtilis*. *Aquaculture Research*, 50(5), 1475–1481.
<https://doi.org/10.1111/are.14022>
- Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P., & Verstraete, W. (2000). Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64(4), 655–671.
<https://doi.org/10.1128/MMBR.64.4.655-671.2000>
- Wang, H., Chen, G., Li, X., Zheng, F., & Zeng, X. (2020). Yeast β -glucan, a potential prebiotic, showed a similar probiotic activity to inulin. *Food & Function*, 11(12). <https://doi.org/10.1039/D0FO02224A>
- Wang, Z., Fan, L., Wang, J., Xie, S., Zhang, C., Zhou, J., Zhang, L., Xu, G., & Zou, J. (2021). Insight into the immune and microbial response of the white-leg shrimp *Litopenaeus vannamei* to microplastics. *Marine Environmental Research*, 169, 105377. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2021.105377>
- Wijaya, R., Mahardika, I. G. N., & Susilo, F. X. (2023). Enhancement of shrimp immune parameters using β -glucan derived from *Saccharomyces cerevisiae*. *Jurnal Akuakultur Tropika*, 8(2), 89–96.
<https://doi.org/10.24843/JAT.2023.v8.i2.3>
- Wikumpriya, G. C., Prabhatha, M. W. S., Lee, J., & Kim, C.H. (2023). Epigenetic modulations for prevention of infectious diseases in shrimp aquaculture. *Genes*, 14(9), 1682. <https://doi.org/10.3390/genes14091682>
- World Organisation for Animal Health (WOAH). (2023). *Acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND)*. In *Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals* (Chapter 2.2.1). WOAH. Retrieved from https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/aahm/current/2.2.01_AHPND.pdf
- Xue, M., Wu, Y., Hong, Y., Meng, Y., Xu, C., Jiang, N., Yuan, Y., Liu, W., Fan, Y., & Zhou, Y. (2022). Effects of dietary *Bacillus amyloliquefaciens* on the growth, immune responses, intestinal microbiota composition and disease resistance of yellow catfish, *Pelteobagrus fulvidraco*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12, 1047351.
<https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.1047351>
- Yan, P., Lin, C., He, M., Zhang, Z., Zhao, Q., & Li, E. (2022). Immune regulation mediated by JAK/STAT signaling pathway in hemocytes of Pacific white shrimps, *Litopenaeus vannamei*, stimulated by lipopolysaccharide. *Fish & Shellfish Immunology*, 130, 141–154.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2022.07.048>
- Yusuf, Z. K. (2010). *Polymerase chain reaction (PCR)*. *Jurnal Saintek*, 5(6), 1–6.
<https://ejurnal.ung.ac.id/index.php/ST/article/view/379/371>

- Zhang, H., Gong, H.Y., Cao, W.W., Que, M.Y., Ye, L., & Shi, L. (2022). Duplex droplet digital PCR method for the detection of *Enterocytozoon hepatopenaei* and *Vibrio parahaemolyticus* acute hepatopancreatic necrosis disease. *Journal of Fish Diseases*, 45(6), 761–769.
<https://doi.org/10.1111/jfd.13600>
- Zhang, X., Tian, X., Jiang, W., Zhao, K., Dong, S., Cai, Y., & Liang, J. (2020). Growth performance, non-specific immunity and *Vibrio parahaemolyticus* resistance of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in response to various microbial-derived additives. *Aquaculture Nutrition*. 27(3), 666-678
<https://doi.org/10.1111/anu.13213>
- Zhou, X., Wang, Y., & Li, W. (2009). Effect of probiotic on larvae shrimp (*Penaeus vannamei*) based on water quality, survival rate and digestive enzyme activities. *Aquaculture*, 287(3–4), 349–353.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.10.046>
- Zokaeifar, H., Balcázar, J. L., Saad, C. R., Kamarudin, M. S., Sijam, K., Arshad, A., & Nejat, N. (2012). Effects of *Bacillus subtilis* on the growth performance, digestive enzymes, immune gene expression and disease resistance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology*, 33(4), 683–689. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2012.05.027>
- Zonneveld, N., Huisman, E. A. & Boon, J.H. (1991). *Prinsip-prinsip budi daya ikan*. Gramedia Pustaka Utama.