

**EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN KAWISTA (*Limonia acidissima*) TERHADAP
SISTEM IMUN UDANG VANAME (*Litopenaeus vanamei*) YANG
DIINJEKSI DENGAN BAKTERI *Vibrio harveyi***

*The Effectiveness of Kawista Leaf Extract (*Limonia acidissima*) Against the Vaname Shrimp
(*Litopenaeus vanamei*) Immune System Injection with *Vibrio harveyi* Bacteria*

Kurniawan¹, Fariq Azhar^{2*}, Zaenal Abidin³, Dewi Nur'aeni Setyowati⁴

¹Prodi Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Mataram
Jl. Pendidikan No.32 Mataram 83115 Nusa Tenggara Barat

*Corresponding author, e-mail: fariqazhar@unram.ac.id

ABSTRAK

Udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) merupakan biota akuatik yang termasuk dalam komoditas unggulan perikanan budidaya. Bakteri *Vibrio harveyi* dapat menyebabkan kematian pada udang vaname hingga 80 %. Tanaman kawista mengandung senyawa antibakteri seperti senyawa saponin, flavonoid, alkaloid dan tanin. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengevaluasi efektivitas ekstrak daun kawista (*Limonia acidissima*) terhadap sistem imun udang vaname yang diinjeksi dengan bakteri *Vibrio harveyi*. Penelitian ini bersifat eksperimental dengan menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL), yang terdiri dari 5 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan pada penelitian ini meliputi K (-) (Tidak diberikan ekstrak daun kawista dan diinjeksi dengan NaCl), K (+) (Tidak diberikan ekstrak daun kawista dan diinjeksi dengan *Vibrio harveyi*), P1 (Penambahan ekstrak daun kawista 0,5 % dan diinjeksi dengan *Vibrio harveyi*), P2 (Penambahan ekstrak daun kawista 1 % dan diinjeksi dengan *Vibrio harveyi*) dan P3 (Penambahan ekstrak daun kawista 2 % dan diinjeksi dengan *Vibrio harveyi*). Pada penelitian ini diperoleh perlakuan terbaik yaitu perlakuan P2 dengan nilai THC yaitu $11,75 \times 10^6$ Sel/ml, nilai DHC untuk sel hialin 65,33 %, sel granular 23,67 %, sel semi granular 11 %, nilai AF sebesar 68,05 %, nilai TBC sebesar OD₆₂₀ 3,12, nilai TVC sebesar OD₆₂₀ 3,14 dan nilai SR sebesar 60 %. Dari hasil penelitian diperoleh kesimpulan bahwa penambahan ekstrak daun kawista pada pakan dengan dosis berbeda mampu meningkatkan sistem imun dan kelulushidupan udang vaname yang diinjeksi dengan bakteri *Vibrio harveyi*.

Kata kunci: Udang vaname, *Vibrio harveyi*, Ekstrak daun kawista.

ABSTRACT

Vaname shrimp (Litopenaeus vannamei) is an aquatic biota that is include in the leading commodity of aquaculture. Vibrio harveyi bacteria can cause up to 80 % death in vaname shrimp. Kawista plants contain antibacterial compounds such as saponins, flavonoids, alkaloids and tannins. The purpose of this study was to evaluate the effectiveness of kawista leaf extract (Limonia acidissima) against the immune system of vannamei shrimp injected with Vibrio harveyi bacteria. This research is experimental using a Completely Randomized Design (RAL), which consisted of 5 treatments and 3 replications. The treatment in this study includes K (-) (Not given kawista leaf extract and injected with NaCl), K (+) (Not given kawista leaf extract and injected

with *Vibrio harveyi*), P1 (Added 0,5 % kawista leaf extract and injected with *Vibrio harveyi*), P2 (Added 1 % kawista leaf extract and injected with *Vibrio harveyi*) and P3 (Added 2 % kawista leaf extract and injected with *Vibrio harveyi*). In this study, the best treatment was obtained, namely P2 treatment, with a THC value of $11,75 \times 10^6$ Sel/ml, a AF value was 60 %, the TBC value was OD_{620} 3,12, the TVC value was OD_{620} 3,14, and the SR value was 60 %. From the results of the study it was conclude that the addition of kawista leaf extract to feed with different doses can improve the immune system and the survival of vannamei shrimph injected with *Vibrio harveyi* bacteria.

Keywords: Vanname shrimp, *Vibrio harveyi*, Kawista leaf extract.

PENDAHULUAN

Udang vaname merupakan salah satu komoditas unggulan perikanan budidaya yang merupakan udang introduksi dan ditetapkan secara resmi oleh Mentri DKP pada tahun 2001, dimana budidaya udang vaname berkembang pesat pada saat itu. Udang vaname memiliki kekuatan pasar dan harga yang cukup tinggi baik dipasar lokal maupun internasional. Selain itu, udang vaname memiliki sistem kekebalan tubuh yang lebih tinggi dibandingkan dengan udang windu (*Penaeus monodon*) dan tidak memerlukan waktu yang terlalu lama untuk dibudidayakan, sehingga udang vaname banyak diminati oleh masyarakat untuk dibudidayakan (Ismawati *et al.*, 2019).

Masalah terbesar yang sering dihadapi oleh para pembudidaya udang vaname umumnya yaitu hadirnya penyakit pada saat proses budidaya berjalan. Bakteri *Vibrio harveyi* ialah salah satu jenis bakteri yang memicu adanya penyakit vibriosis yang menjadi faktor penyebab kematian biota udang hingga 80 % dalam waktu yang cukup singkat. Jenis penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio harveyi* seperti vibriosis berpendar, vaskulitis dan lesi mata (Kusumaningrum *et al.*, 2017).

Salah satu metode atau alternatif yang dapat digunakan untuk pencegahan penyakit pada udang vaname yaitu pemberian imunostimulan. Salah satu bahan herbal yang dapat digunakan sebagai bahan imunostimulan yaitudaun kawista (Samuria *et al.*, 2018). Tanaman kawista diketahui mengandung senyawa fitokimia yang berperan sebagai senyawa antibakteri, dimana senyawa fitokimia yang terkandung didalam tanaman kawista meliputi senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan senyawa fenol. Pemanfaatan daun kawista sebagai bahan imunostimulan dan antibakteri tidak memiliki daya saing yang tinggi dengan kebutuhan masyarakat, sehingga dapat diaplikasikan khususnya dibidang perikanan oleh para pembudidaya sebagai upaya dalam proses pencegahan penyakit penyebab kematian pada biota budidaya (Rini *et al.*, 2017). Dengan demikian, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui bagaimana pengaruh dari ekstrak daun kawista sebagai imunostimulan dan antibakteri pada udang vaname yang di serang bakteri *Vibrio harveyi*.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan selama 60 hari dari tanggal 27 Mei – 27 Juli 2022. Bertempat di Laboratorium Produksi dan Reproduksi Ikan dan Laboratorium Kesehatan Ikan, Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Mataram. Untuk uji fitokimia dan pembuatan ekstrak daun kawista dilakukan di Laboratorium Kimia Analitik dan Laboratorium Kimia Dasar, Fakultas MIPA, Universitas Mataram.

Alat dan Bahan

Adapun alat dan bahan yang digunakan yaitu timbangan analitik, toples kaca 2,5 L, erlenmeyer 250 ml, evaporator, gelas beaker 250 ml, corong kaca, bunsen, timbangan digital, hot plate, jarum ose, pH-meter, kontainer ukuran 40 cm × 30 cm × 28 cm, DO-meter, spektrofotometer, hemositometer (Marienfeld), cawan petri (Normax), kaca preparat (Sail Brand), tube 1,5 ml, tabung falcon 15 ml, sentrifugasi, vortex, autoklaf, mikroskop, mikropipet (20-200 μ), jarum suntik ukuran 1 ml, aquades, TSB (*Trypticase Soy Broth*), udang vaname PL-20, bakteri *Vibrio harveyi*, bakteri *Streptococcus*, ekstrak daun kawista, pakan komersial, media TCBS (*Thiosulfat Citrate Biesalt Sucrose*), media NA (*Natrium agar*), larutan gyemsa, methanol 96 %, kertas saring whatman nomor 1, aluminium foil, alkohol 90 %, NaCl 0,9 %, plastik okulasi, Trisodium citrate 1,76 g, NaCl 3,97 g dan EDTA 0,74 g.

Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan pada penelitian ini ialah menggunakan metode RAL (Rancangan Acak Lengkap) menggunakan 5 perlakuan dengan 3 kali ulangan pada setiap perlakuannya. Adapun perlakuan pada penelitian ini yaitu:

K (-) : Tidak diberikan ekstrak daun kawista pada pakan dan diinjeksi dengan NaCl

K (+) : Tidak diberikan ekstrak daun kawista pada pakan dan diinjeksi dengan *Vibrio harveyi*

P1 : Penambahan ekstrak daun kawista 0,5 % pada pakan dan diinjeksi dengan *Vibrio harveyi*

P2 : Penambahan ekstrak daun kawista 1 % pada pakan dan diinjeksi dengan *Vibrio harveyi*

P3 : Penambahan ekstrak daun kawista 2 % pada pakan dan diinjeksi dengan *Vibrio harveyi*

Prosedur Penelitian

Pembuatan Ekstrak Daun Kawista

Daun kawista yang digunakan diperoleh dari Desa Kempo, Kec. Kempo, Kab. Dompu. Daun kawista dicuci dan dibersihkan menggunakan air, kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari sekitar 3 hari hingga benar-benar kering. Setelah dikeringkan, daun kawista dibuat menjadi tepung. Tahapan selanjutnya tepung daun kawista dibawa ke Laboratorium Kimia Dasar, Fakultas MIPA, Universitas Mataram untuk dilakukan pembuatan ekstrak daun kawista. Kemudian dilakukan perendaman tepung daun kawista dengan etanol 96 % dengan perbandingan 1:4 yang berlangsung selama 3×24 jam. Selanjutnya bahan disaring menggunakan kertas saring whatman nomor 1 sebanyak 3 kali agar diperoleh larutan ekstrak tanpa ampas. Kemudian hasil saringan dipekatkan dengan metode evaporasi menggunakan evaporator pada suhu 50°C sampai diperoleh ekstrak pekat.

Uji Fitokimia Ekstrak Daun Kawista

Metode uji fitokimia dilakukan dengan mengikuti Standar Operasional Prosedur (SOP) Laboratorium, dimana 2 ml ekstrak daun kawista dimasukkan kedalam erlenmeyer dan dilarutkan menggunakan etanol absolut. Selanjutnya dimasukkan masing-masing sampel ekstrak sebanyak 2 ml kedalam tabung reaksi yang telah diberikan penanda.

Uji flavonoid dilakukan dengan cara ditambahkan 1 ml NaOH encer dan 1 ml asam asetat pekat (CH_3COOH), lalu ditambahkan 0,5 ml HCl dan serbuk Mg, selanjutnya ditambahkan 1 ml H_2SO_4 dan dihasilkan perubahan warna menjadi merah atau kuning. Uji alkaloid dilakukan

dengan cara ditambahkan beberapa tetes asam sulfat (H_2SO_4), selanjutnya dimasukan 1 ml reagen mayer dan dihasilkan endapan berwarna kuning atau putih, kemudian ditambahkan 1 ml wagner dan dihasilkan endapan berwarna coklat, lalu ditambahkan 1 ml dragendrof dan dihasilkan endapan berwarna merah jingga. Uji saponin dilakukan dengan cara ditambahkan beberapa tetes aquades dan dikocok, lalu didiamkan selama 5 menit sampai busa muncul dan bertahan lama. Uji fenol dilakukan dengan menambahkan larutan $FeCl_3$ sebanyak 3-4 tetes dan dihasilkan endapan berwarna hijau, merah, ungu, biru atau hitam pekat. Uji steroid dilakukan dengan menambahkan 0,5 ml klorofom dan dikocok, lalu ditambahkan 0,5 ml asam asetat dan 2 ml asam sulfat, hingga dihasilkan endapan berwarna hijau kebiruan. Uji tanin dilakukan dengan menambahkan 3-4 tetes larutan $FeCl_3$ dan dihasilkan endapan. Uji terpenoid dilakukan dengan cara ditambahkan 0,5 ml klorofom dan 0,5 ml asam asetat, lalu ditambahkan asam sulfat 2 ml, hingga dihasilkan endapan coklat berbentuk cincin.

Persiapan Wadah dan Pemeliharaan Hewan Uji

Wadah yang digunakan untuk penelitian ini yaitu kontainer plastik dengan ukuran 40 cm × 30 cm × 28 cm. Kontainer dibersihkan terlebih dahulu menggunakan air dan detergen hingga bersih dan dikeringkan, lalu ditata sesuai dengan rancangan percobaan yang telah disusun sebelumnya sebanyak 15 unit. Kemudian kontainer diisi dengan air laut sebanyak 20 L. Udang yang digunakan pada penelitian ini yaitu benur PL-20 dan dipelihara selama 50 hari. Benur udang terlebih dahulu diaklimatisasi selama 7 hari di bak penampungan sebelum ditebar. Kemudian untuk kegiatan penyiponan dilakukan 1 kali sehari dan dilakukan pergantian air setiap 10 hari sekali dengan melakukan pergantian total.

Persiapan Pakan

Pakan yang diberikan pada penelitian ini yaitu pakan crumble yang mengandung protein lebih dari 30 % dengan dosis pemberian pakan yaitu 5 % dari biomassa. Pakan ditimbang terlebih dahulu untuk keperluan selama 3 hari dan dicampurkan dengan ekstrak menggunakan mikropipet (20-200 μ) sesuai dengan dosis perlakuan yaitu 0,5 %, 1% dan 2 % dari total pakan yang diberikan dan dikering anginkan, lalu disimpan pada plastik klip. Pemberian pakan dilakukan sebanyak 3 kali dalam sehari yaitu pada pukul 08.00, 13.00 dan 17.00.

Persiapan Bakteri

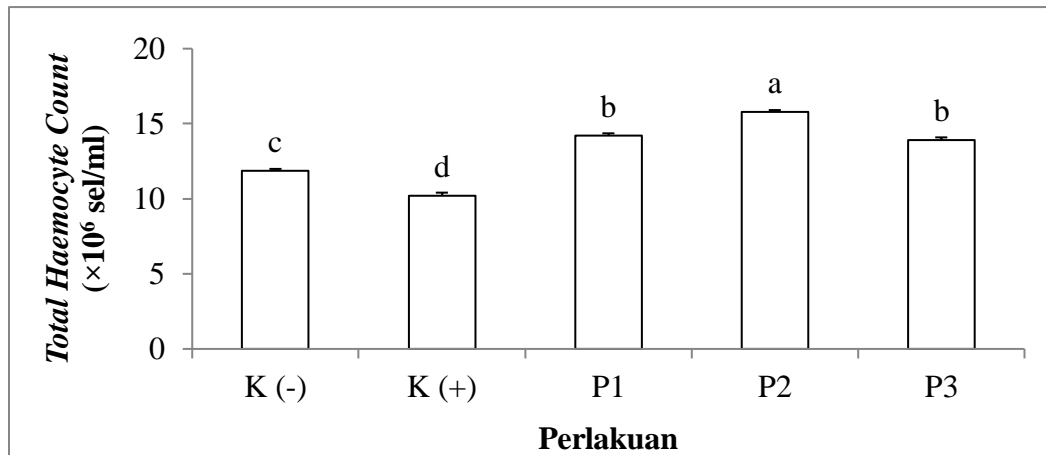
Persiapan bakteri dilakukan pada hari ke 48-49 sebelum proses uji tangant dilakukan. Isolat murni bakteri *Vibrio harveyi* yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau Jepara dan biakan bakteri *Streptococcus* diperoleh dari Laboratorium Kesehatan Ikan, Prodi Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Mataram. Bakteri terlebih dahulu dikultur dengan tujuan untuk mendapatkan bakteri yang lebih virulen. Media yang digunakan untuk peremajaan bakteri *Vibrio harveyi* yaitu media agar TCSB (*Thiosulfat Citrate Biesalt Sucrose*), dan untuk bakteri *Streptococcus* digunakan media NA (*Natrium Agar*), serta media TSB (*Trypticase Soy Broth*) untuk pengenceran bakteri.

Uji Tangant

Kegiatan uji tangant dilakukan pada hari ke 50. Tahapan uji tangant yang dilakukan yaitu diambil bakteri yang telah diinkubasi menggunakan jarum suntik ukuran 1 ml. Kemudian dilakukan penginjeksian bakteri *Vibrio harveyi* sebanyak 0,01 ml dengan cara intramuskular yaitu menyuntikan bakteri pada bagian punggung udang diantara segmen kedua dan ketiga pada masing-masing udang terkecuali perlakuan kontrol negatif, dimana pada perlakuan kontrol negatif diinjeksi dengan NaCl sebanyak 0,01 ml.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Total Haemocyte Count (THC)

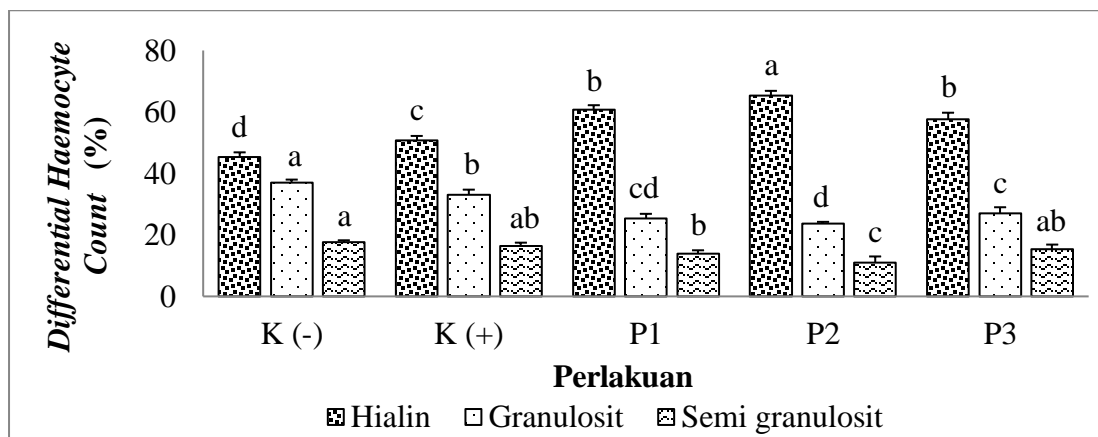


Gambar 1. Rata-rata Nilai THC Udang Vaname

Gambar 1 menunjukkan bahwa penambahan ekstrak daun kawista pada pakan dengan dosis yang berbeda berpengaruh ($p < 0,05$) terhadap nilai THC udang vaname yang diinjeksi dengan bakteri *Vibrio harveyi*. Hasil pemeliharaan udang vaname selama 60 hari menunjukkan bahwa perlakuan P2 memiliki nilai THC tertinggi yaitu $15,78 \times 10^6$ sel/ml dan berbeda ($p < 0,05$) dengan semua perlakuan. P1 dan P3 memiliki nilai THC yang tidak berbeda ($p > 0,05$) dengan nilai berturut-turut $14,19 \times 10^6$ dan $13,92 \times 10^6$ sel/ml, diikuti K (-) dengan nilai THC yaitu $11,86 \times 10^6$ sel/ml dan berbeda ($p < 0,05$) dengan K (+), sedangkan K (+) memiliki nilai THC terendah yaitu $10,22 \times 10^6$ sel/ml dan berbeda ($p < 0,05$) dengan semua perlakuan.

Hemosit merupakan sistem pertahanan seluler yang bersifat non spesifik pada udang. Pengamatan terhadap jumlah hemosit (THC) menjadi salah satu indikator penting dalam mengetahui keadaan sistem imun maupun kesehatan udang. Sesuai dengan pernyataan Ismawati *et al.*, (2019) bahwa hemosit dapat dijadikan sebagai parameter kuantitatif dalam mengukur respon stress pada udang. Tingginya nilai THC pada perlakuan P2 diduga adanya interaksi positif kandungan senyawa fitokimia seperti flavonoid, tanin, alkaloid dan senyawa fenol yang terkandung didalam ekstrak daun kawista sebagai imunostimulan yang masuk kedalam tubuh udang dan mampu meningkatkan jumlah hemosit. Sesuai pernyataan Abdi *et al.*, (2022) bahwa meningkatnya jumlah hemosit pada tubuh udang disebabkan oleh adanya kandungan senyawa flavonoid yang terkandung didalam imunostimulan. Selanjutnya didukung oleh pernyataan Hidayat *et al.*, (2017) yang menyatakan bahwa aktifitas sel-sel hemosit pada udang akan dirangsang oleh adanya bahan imunostimulan yang masuk kedalam tubuh udang sebagai upaya dalam melawan patogen yang masuk.

Differential Haemocyte Count (DHC)



Gambar 2. Rata-rata Nilai DHC Udang Vaname

Keterangan: Nilai dengan *superscript* berbeda pada jenis sel yang sama menunjukkan hasil yang berbeda ($p < 0,05$)

Penambahan ekstrak daun kawista pada pakan dengan dosis yang berbeda berpengaruh ($p < 0,05$) terhadap nilai sel hialin, granulosit dan semi granulosit udang vaname yang diinjeksi dengan bakteri *Vibrio harveyi*. Gambar 2 menunjukkan bahwa nilai hialin tertinggi terdapat pada perlakuan P2 yaitu 65,33 % dan berbeda ($p < 0,05$) dengan semua perlakuan. P1 dan P3 memiliki nilai hialin yang tidak berbeda ($p > 0,05$) yaitu masing-masing 60,67 dan 57,67 %, diikuti K (+) dengan nilai hialin yaitu 50,67 % dan tidak berbeda dengan K (-), sedangkan K (-) memiliki nilai hialin terendah yaitu 45,33 % dan berbeda ($p < 0,05$) dengan semua perlakuan. Selanjutnya nilai granulosit tertinggi terdapat pada perlakuan K (-) yaitu 37 % dan berbeda ($p > 0,05$) dengan semua perlakuan, diikuti K (+) dengan nilai granulosit yaitu 33 % dan berbeda ($p < 0,05$) dengan P3, P1 dan P2. P3 dan P1 memiliki nilai granulosit yang sama dengan nilai masing-masing 27 dan 25 %, namun P3 berbeda ($p < 0,03$) dengan P2, sedangkan P2 memiliki nilai granulosit terendah yaitu 23,67 % dan berbeda ($p < 0,05$) dengan semua perlakuan yaitu 23,67 %. Berikutnya perlakuan K (-), K (+) dan P3 memiliki nilai semi granulosit tertinggi yaitu berturut-turut 17,67, 16,33 dan 15,33 % dan tidak berbeda ($p > 0,05$) namun K (-) berbeda ($p < 0,05$) dengan P1 dan P2, diikuti P1 dengan nilai semi granulosit yaitu 14 % dan berbeda ($p < 0,05$) dengan P2, sedangkan P2 memiliki nilai semi granulosit terendah dan berbeda ($p < 0,05$) dengan semua perlakuan yaitu 11 %. Pengamatan terhadap nilai DHC juga merupakan indikator penting terkait adanya respon imun pada udang oleh sel-sel hemosit. Sesuai dengan pernyataan Rahim *et al.*, (2020) yang menyatakan bahwa kondisi kesehatan dan modulasi sistem imun pada udang dapat diketahui melalui parameter seluler dan humoral seperti differensial hemosit.

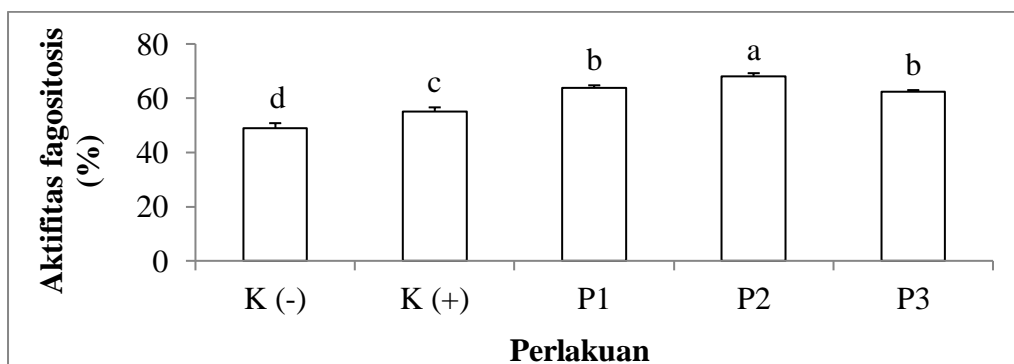
Presentase nilai sel hialin yang diperoleh berkisar antara 45,33 - 65,33 % dan masih tergolong normal jika mengacu pada pernyataan Rahim *et al.*, (2020) yang menyatakan bahwa presentase nilai sel hialin pada hemosit udang normal yaitu 50 - 80 %. Perlakuan P2 berpengaruh terhadap tingginya nilai sel hialin diduga terjadinya proses aktifitas fagositosis (perlawanan terhadap benda asing atau bakteri yang masuk kedalam tubuh udang), serta adanya pengaruh dari ekstrak daun kawista sebagai imunostimulan dalam meningkatkan kinerja sistem imun, termasuk dalam merangsang pembentukan atau pengaktifan sel-sel hemosit seperti sel hialin dalam tubuh udang. Sesuai dengan pernyataan Suleman *et al.*, (2019) menyatakan bahwa aktifitas fagositosis erat kaitannya dengan jumlah sel hialin yang mengalami peningkatan, karena yang melakukan

proses fagosit yaitu sel hialin dan sedikit dilakukan semi granulosit. Lebih lanjut oleh Kurniawan *et al.*, (2018) menyatakan bahwa peningkatan hemosit diakibatkan oleh adanya imunostimulan yang masuk kedalam tubuh udang, dimana imunostimulan berhubungan secara langsung dengan sel sistem imun yang membuat sel-sel hemosit (hialin, granulosit, dan semi granulosit) tersebut lebih aktif.

Selanjutnya nilai sel granulosit yang diperoleh berkisar antara 23,67 – 37 %, dan terbilang normal jika mengacu pada pernyataan Kurniawan *et al.*, (2018) yang menyatakan bahwa pada udang normal presentase nilai sel granulosit berkisar antara 17 - 40 %. Rendahnya nilai sel granulosit pada P2 diduga terjadinya proses aktifitas fagositosis yang dibuktikan dengan adanya peningkatan sel hialin yang dibantu oleh sel granulosit dalam melakukan aktifitas fagositosis di dalam tubuh udang ketika ada patogen yang masuk. Berdasarkan pernyataan Hidayat *et al.*, (2017) menyatakan bahwa imunostimulan akan mengaktifkan sel hemosit yaitu sel hialin dan granulosit untuk melakukan aktifitas fagositosis pada udang. Diperkuat oleh pernyataan Darwanti *et al.*, (2016) bahwa pengaktifan PPA (*Prophenoloksidase Activating Enzim*) pada sel granulosit oleh adanya imunostimulan yang masuk kedalam tubuh udang akan merangsang *prophenoloksidase* menjadi *phenoloksidase*, dan dihasilkan sejenis protein *opsonin faktor* yang akan menginduksi sel-sel hialin agar dapat meningkatkan aktifitasnya.

Sedangkan nilai sel semi granulosit yang diperoleh berkisar antara 11-17,67% dan masih terbilang normal jika merujuk pada pernyataan Muliani *et al.*, (2016) yang menyatakan bahwa presentase nilai sel semi granulosit pada udang normal berkisar antara 9-30 %. Rendahnya nilai sel semi granulosit pada P2 sejalan dengan peningkatan sel hialin dan diduga terjadinya proses fagositosis sebagai bentuk perlawanan terhadap patogen yang masuk kedalam tubuh udang. Sesuai dengan pernyataan Wangi *et al.*, (2019) menyatakan bahwa sel semi granulosit yaitu pematangan dari sel hialin dan apabila terjadi serangan patogen maka sel hialin yang pertama berperan, sehingga sel ini tidak berkembang menjadi sel semi granulosit dan terlihat jumlah sel semi granulosit mengalami penurunan pada jumlah hemosit, serta dalam proses fagositosis peranan sel semi granulosit sedikit. Diperkuat oleh pernyataan Widanarni *et al.*, (2019) menyatakan bahwa aktifitas fagositosis merupakan sistem pertahanan penting dalam menghadapi patogen yang masuk kedalam tubuh udang yang dilakukan oleh sel hialin dan sedikit peran dari sel semi granulosit.

Aktifitas fagositosis(AF)



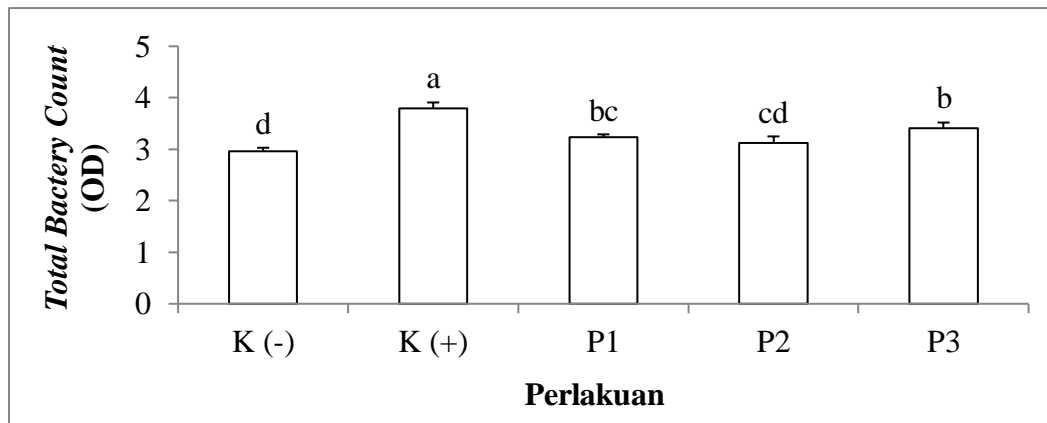
Gambar 3. Rata-rata Nilai Aktifitas Fagositosis Udang Vaname

Hasil yang diperoleh pada Gambar 3 menunjukkan bahwa penambahan ekstrak daun kawista pada pakan dengan dosis yang berbeda berpengaruh ($p < 0,05$) terhadap nilai aktifitas

fagositosis udang vaname yang diinjeksi dengan bakteri *Vibrio harveyi*. Nilai aktifitas fagositosis tertinggi terdapat pada perlakuan P2 yaitu 68,05 % dan berbeda ($p < 0,05$) dengan semua perlakuan. P1 dan P3 memiliki nilai aktifitas fagositosis yang tidak berbeda ($p > 0,05$) dengan nilai masing-masing 63,75 dan 62,49 %, diikuti K (+) dengan nilai aktifitas fagositosis yaitu 55,02 % dan berbeda ($p < 0,05$) dengan K (-), sedangkan K (-) memiliki nilai aktifitas fagositosis terendah yaitu 49,01 % dan berbeda ($p < 0,05$) dengan semua perlakuan.

Pengamatan terhadap nilai aktifitas fagositosis juga dapat dijadikan sebagai indikator terkait keadaan respon imun pada udang. Sesuai dengan pernyataan Suleman *et al.*, (2019) menyatakan bahwa aktifitas respon pertahanan tubuh secara seluler ketika masuknya komponen mikrobial dalam tubuh dapat diamati melalui aktifitas fagositosis yang merupakan proses pertahanan pertama pada tubuh udang ketika terjadi infeksi oleh benda asing. Tingginya nilai aktifitas fagositosis pada P2 sejalan dengan tingginya jumlah total hemosit dan diduga baiknya kinerja ekstrak daun kawista sebagai imunostimulan yang masuk kedalam tubuh udang dalam merangsang sel-sel hemosit untuk melakukan aktifitas fagosit dalam menghambat aktifitas bakteri yang masuk didalam tubuh udang. Sesuai pernyataan Satyantini *et al.*, (2016) bahwa jumlah THC mengindikasikan kemampuan inang dalam merespon material asing dalam tubuhnya, semakin tinggi jumlah total hemosit maka aktifitas fagositosis yang diberikan inang dalam melawan mikroorganisme asing juga akan mengalami peningkatan. Lebih lanjut oleh Hidayat *et al.*, (2017) menyatakan bahwa pemberian imunostimulan pada udang tidak mempunyai efek samping dan sangat baik untuk diterapkan pada organisme yang tidak mempunyai sel memori dalam sistem imunnya sehingga dapat merangsang atau memaksimalkan respon imun non spesifik. Diperkuat oleh Hanifah (2020) bahwa senyawa alkaloid dan flavonoid berfungsi sebagai antioksidan dan imunomodulator yang memproduksi molekul sitokin sebagai respon induksi akibat invasi bakteri patogen, kerusakan sel dan regenerasi sel.

Total Bactery Count (TBC)

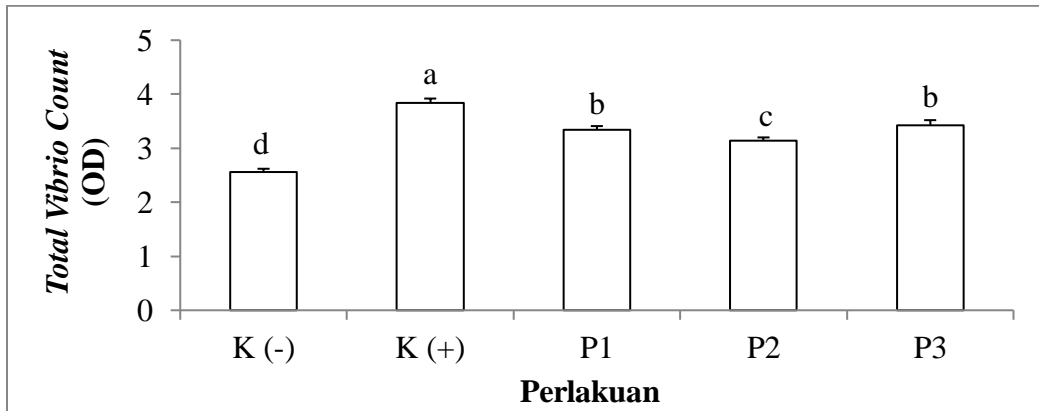


Gambar 4. Rata-rata Nilai TBC Udang Vaname

Gambar 4 menunjukkan bahwa penambahan ekstrak daun kawista pada pakan dengan dosis yang berbeda berpengaruh ($p < 0,05$) terhadap nilai TBC udang vaname yang diinjeksi dengan bakteri *Vibrio harveyi*. Perlakuan K (+) memiliki nilai TBC tertinggi yaitu OD_{620} 3,79 dan berbeda ($p < 0,05$) dengan semua perlakuan. P3 dan P1 memiliki nilai TBC yang sama yaitu masing-masing OD_{620} 3,41 dan 3,24 namun P3 berbeda ($p < 0,05$) dengan P2. Selanjutnya P1 dan P2 memiliki nilai TBC yang sama dengan nilai berturut-turut OD_{620} 3,24 dan 3,12 namun P1

berbeda ($p < 0,05$) dengan K (-), sedangkan K (-) memiliki nilai TBC terendah yaitu OD_{620} 2,96 dan berbeda ($p < 0,05$) dengan semua perlakuan.

Total Vibrio Count (TVC)

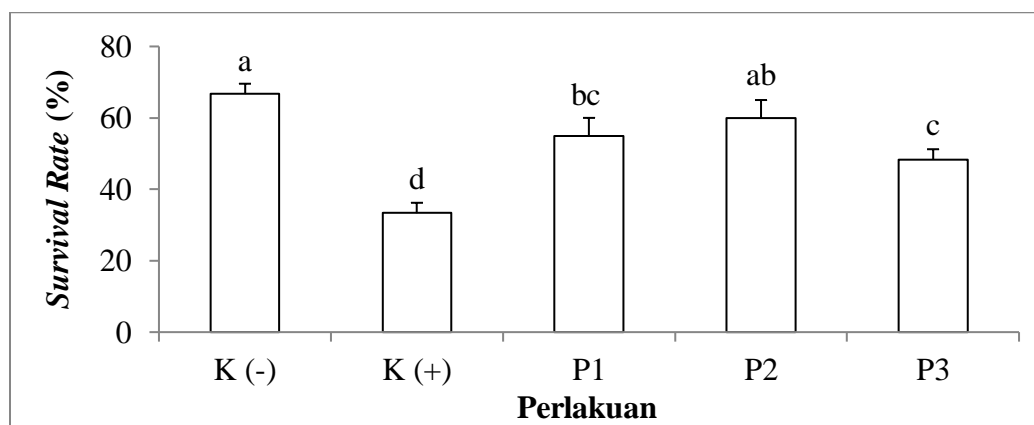


Gambar 5. Rata-rata Nilai TVC Udang Vaname

Penambahan ekstrak daun kawista pada pakan dengan dosis yang berbeda berpengaruh ($p < 0,05$) terhadap nilai TVC udang vaname yang diinjeksi dengan bakteri *Vibrio harveyi*. Gambar 5 menunjukkan bahwa nilai TVC tertinggi terdapat pada perlakuan K (+) yaitu OD_{620} 3,84 dan berbeda ($p < 0,05$) dengan semua perlakuan. P3 dan P1 memiliki nilai TVC yang tidak berbeda ($p > 0,05$) yaitu masing-masing OD_{620} 3,43 dan 3,34, diikuti P2 dengan nilai TBC yaitu OD_{620} 3,14 dan berbeda ($p < 0,05$) dengan K (-), sedangkan K (-) memiliki nilai TBC terendah yaitu OD_{620} 2,96 dan berbeda ($p < 0,05$) dengan semua perlakuan.

Pengamatan terhadap nilai TBC dan TVC dilakukan untuk mengetahui kemampuan dari ekstrak daun kawista dalam menghambat kinerja bakteri sebagai patogen penyebab penyakit yang dapat mempengaruhi tingkat kelangsungan hidup udang. Berdasarkan pernyataan Satyantini *et al.*, (2016) bahwa pemberian imunostimulan merupakan strategi alternatif yang mampu meningkatkan sistem pertahanan imun udang sehingga meningkatkan resistensi udang untuk melawan bakteri. Rendahnya nilai TVC pada perlakuan P2 sejalan dengan rendahnya nilai TBC dan diduga adanya interaksi positif senyawa fitokimia yang terkandung didalam ekstrak daun kawista (flavonoid, alkaloid, tanin dan steroid) dalam menghambat kinerja bakteri sebagai patogen yang masuk kedalam tubuh udang. Hal ini sesuai dengan pernyataan Fitri *et al.*, (2018) menyatakan bahwa senyawa flavonoid baik pada konsentrasi tinggi atau rendah akan tetap mampu bekerja dalam merusak membran sel (seperti membran sitoplasma) dan mengendapkan protein sel, sehingga akibat yang ditimbulkan yaitu bocornya metabolit penting untuk pengaktifan sistem enzim dari bakteri serta mampu mendenaturasi sel bakteri dan merusak membran sel tanpa bisa diperbaiki lagi. Didukung oleh Farida *et al.*, (2020) yang menyatakan bahwa senyawa steroid dapat berperan dalam menyebabkan kebocoran pada lisosom bakteri dan 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.

Survival Rate (SR)



Gambar 6. Rata-rata Nilai SR Udang Vaname

Hasil yang diperoleh pada Gambar 6 menunjukkan bahwa penambahan ekstrak daun kawista pada pakan dengan dosis yang berbeda berpengaruh ($p < 0,05$) terhadap nilai SR udang vaname yang diinjeksi dengan bakteri *Vibrio harveyi*. Perlakuan dengan nilai SR tertinggi terdapat pada K (-) dan P2 dengan nilai berturut-turut 66,67 dan 60 % dan tidak berbeda ($p > 0,05$) namun K (-) berbeda ($p < 0,05$) dengan P1, P3 dan K (+), P2 dan P1 memiliki nilai SR yang tidak berbeda ($p > 0,05$) yaitu masing-masing 60 dan 55 % namun P2 berbeda ($p < 0,05$) dengan P3, diikuti P3 dengan nilai SR yaitu 48,33 % dan berbeda ($p < 0,05$) dengan K (+), sedangkan K (+) memiliki nilai SR terendah yaitu 33,33 % dan berbeda ($p < 0,05$) dengan semua perlakuan. Pengamatan terhadap nilai tingkat kelangsungan hidup (SR) dijadikan sebagai parameter utama dalam mengetahui tingkat keberhasilan dalam penelitian ini. Sesuai dengan pernyataan Azhari *et al.*, (2017) yang menyatakan bahwa kelangsungan hidup merupakan faktor yang sangat penting dalam menentukan keberhasilan suatu budidaya. Nilai SR yang diperoleh berkisar antara 33,33 – 66,67 % dan masih tergolong baik jika merujuk pada pernyataan Rosyida *et al.*, (2022) yang menyatakan bahwa tingkat kelulushidupan udang vaname yang baik ialah ketika nilai $SR > 70\%$, dan terbilang rendah apabila nilai $SR < 50\%$. Tingginya nilai kelangsungan hidup pada perlakuan P2 diduga baiknya kinerja ekstrak daun kawista yang masuk kedalam tubuh udang dalam merangsang terjadinya peningkatan respon imun, sehingga imunostimulan yang masuk kedalam tubuh udang mampu melindungi (bersifat protektif) terhadap adanya infeksi oleh bakteri *Vibrio harveyi*. Hal ini sesuai dengan pernyataan Darwatin *et al.*, (2016) bahwa aktifitas sel-sel hemosit seperti sel hialin, granular dan semi granular akan dirangsang oleh adanya imunostimulan yang masuk kedalam tubuh udang sebagai upaya dalam melawan patogen penyebab penyakit kedalam tubuh udang tersebut. Diperkuat oleh pernyataan Azhar (2018) bahwa dengan adanya peningkatan respon imun pada udang mampu meningkatkan nilai tingkat kelangsungan hidup pada udang, dikarenakan terjadi peningkatan resistensi (ketahanan tubuh) udang terhadap serangan patogen.

KESIMPULAN

Penambahan ekstrak daun kawista 1 % pada pakan mampu meningkatkan sistem imun udang vaname yang diinjeksi dengan bakteri *Vibrio harveyi*. Diperoleh nilai THC yaitu $11,75 \times 10^6$ sel/ml, nilai DHC pada sel hialin sebesar 65,33 %, sel granular 23,67 %, sel semi granular

yaitu 11 %, nilai AF sebesar 68,05 %, nilai TBC sebesar OD₆₂₀ 3,12, nilai TVC sebesar OD₆₂₀ 3,14 dan nilai SR sebesar 60 %.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdi R, Setyowati DN, Mukhlis A. 2022. Pengaruh Penambahan Ekstrak Daun Jeruju (*Acanthus ilicifolius*) dengan Dosis Berbeda pada Pakan Terhadap Kelangsungan Hidup Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang Diinfeksi *Vibrio parahaemolyticus*. *Jurnal Perikanan Unram* 12(1): 33–44.
- Azhar F. 2018. Aplikasi Bioflok yang Dikombinasikan dengan Probiotik untuk Pencegahan Infeksi *Vibrio parahaemolyticus* pada Pemeliharaan Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of Aquaculture Science* 3(1): 128–137.
- Azhari A, Muchlisin ZA, Dewiyanti I. 2017. Pengaruh Padat Penebaran Terhadap Kelangsungan Hidup dan Pertumbuhan Benih Ikan Seurukan (*Osteochilus vittanus*). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan Unsyiah* 2(1): 12–19.
- Darwanti K, Sidik R, Mahasri G. 2016. Efisiensi Penggunaan Imunostimulan dalam Pakan Terhadap Laju Pertumbuhan, Respon Imun dan Kelulushidupan Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Biosains Pascasarjana* 18(2).
- Farida EN, Diantari R, Esti H. 2020. The Effect of Immersion of Mangrove (*Avicennia alba*) Leaf Extract With Different Concentration in Preventing Bacterial Disease *Vibrio harveyi* in Vanname Shrimp. *Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan* 8(2): 1–23.
- Fitri ZM, Kismiyati, Mubarak AS. 2018. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Api-Api (*Avicennia alba*) Terhadap *Vibrio harveyi* Penyebab Vibriosis Secara Invitro. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan* 10(2): 131.
- Hanifah L, Kiptiyah. 2020. Potensi Kesambi (*Scheuchzeria oleosa*) sebagai Kandidat Immunomodulator. *Journal Uin Alaudin*. 119–126.
- Hidayat RP, Suwarno, Mahasri G. 2017. Evaluasi Pemberian Crude Protein *Zoothamnium penaei* Terhadap Laju Pertumbuhan, Respon Imun dan Kelulushidupan Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) di Tambak. *Jurnal Biosains Pascasarjana* 19(2): 111-126.
- Ismawati, Destryana RA, Huzaimah N. 2019. Imunitas Udang Vanname (*Litopenaeus vannamei*) yang Diberi Pakan Tambahan Daun Kasembukan (*Paederia foetida* Linn.). *Jurnal Kelautan* 12(2): 201–206.
- Kurniawan MH, Putri B, Elisdiana Y. 2018. Efektifitas Pemberian Bakteri *Bacillus polymyxa* Melalui Pakan Terhadap Imunitas Non Spesifik Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). *E-Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan* 7(1): 739.
- Kusumaningrum PD, Thessiana L, Gunarti NF. 2017. Sistem Sterilisasi Bakteri *Vibrio harveyi* Menggunakan Radioisotop Cobalt-60 untuk Budidaya Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Kelautan Nasional* 10: 125–137.
- Muliani, Tampangalo, BR, Rosmiati. 2016. Aktivitas Anti-White Spot Syndrome Virus (WSSV) Ekstrak Tanaman Mangrove *Sonneratia caseolaris* dan *S. lanceolata* pada Udang Windu (*Penaeus monodon*). *Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur*. 837–846.
- Rahim N, Wulan S, Zaenuddin EN. 2020. Isolasi Metabolit Sekunder dari Daun Kawista. *Jurnal Ilmu Farmasi* 3(1): 159–161.

- Rini AA, Supriatno, Rahmatan H. 2017. Skrining Fitokimia dan Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Kawista (*Limonia Acidissima L.*) dari Daerah Kabupaten Aceh Besar Terhadap Bakteri *Escherichia Coli*. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Keguruan dan Ilmu Pendidikan Unsyiah* 2(1): 1–12.
- Rosyida A, Azhar F, Setyowati DN. 2022. Pengaruh Penambahan Ekstrak Kunyit Putih (*Curcuma zedoaria*) Terhadap Sistem Imun Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang Diuji Tantang dengan Bakteri *Vibrio harveyi*. *Jurnal Perikanan dan Kelautan* 27(2): 136–144.
- Samuria SA, Nur I, Hamzah M. 2018. Pengaruh Ekstrak Daun Mangrove (*Avicennia marina*) terhadap Ketahanan Tubuh Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Sains dan Inovasi Perikanan* 2(2): 50-54.
- Satyantini WH, Kurniawan A, Kusdarwati R. 2016. Penambahan Ekstrak *Gracilaria verrucosa* Terhadap Peningkatan Total Hemosit, Kelangsungan Hidup dan Respon Fisiologi Udang Galah (*Macrobrachium rosenbergii*). *Jurnal Akuatika Indonesia* 1(2): 120–129.
- Suleman, Andayani S, Yuniarti A. 2019. Potensi Ekstrak Kasar *Ulva lactuta* dalam Meningkatkan Total Haemocyte Count (THC) dan Aktivitas Fagositosis pada Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Ilmu Perikanan* 10(1): 1–7.
- Wangi SAS, Nur I, Idris M. 2019. Uji Diferensial Hemosit pada Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang Dibudidayakan di Sekitar Area Tambak. *Media Akuatika* 4(2): 77–81.
- Widanarni, Gustilatov M, Sukenda, Utami DAS. 2019. Pemanfaatan Madu untuk Meningkatkan Respon Imun dan Resistensi Udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) Terhadap Infeksi WSSV. *Jurnal Riset Akuakultur* 14(1): 59–69.