



PENAMBAHAN SERBUK DAUN BINAHONG (*Anredera cardifolia*) PADA PAKAN TERHADAP RESPON IMUN, KELULUSHIDUPAN DAN STATUS KESEHATAN UDANG WINDU (*Penaeus monodon*) YANG DIINFEKSI *Vibrio harveyi*

*Addition of Binahong (*Anredera cordifolia*) Powder in Feed to Immune Response, Health Status and Survival Rate of Tiger Prawn (*Penaeus monodon*) Against *Vibrio harveyi**

Agil Setya Utomo, Slamet Budi Prayitno* dan Sarjito

Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Jl. Prof Soedarto, SH, Tembalang – Semarang Jawa Tengah – 50275, Telp/Fax. +6224 7474698

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan serbuk daun binahong (*Anredera cardifolia*) pada pakan terhadap respon imun, kelulushidupan dan status kesehatan udang windu (*P. monodon*) yang diinfeksi *V. harveyi*. Penelitian dilakukan dengan metode eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 ulangan. Udang uji yang digunakan berukuran berat 9 g. Udang dipelihara dalam media bervolume 10 L pada akuarium yang berukuran 30 cm x 40 cm x 60 cm. Udang uji dipelihara selama 31 hari, yaitu 7 hari aklimatisasi, 14 hari pemberian pakan perlakuan dan 10 hari paska uji tangang. Uji tangant dilakukan pada hari ke 14 setelah perlakuan. Perlakuan A yaitu dengan konsentrasi binahong sebanyak 0 g/100 g pakan, perlakuan B dengan konsentrasi 4 g/100 g pakan, perlakuan C dengan konsentrasi 8 g/100 g pakan dan perlakuan D dengan konsentrasi 12 g/100 g pakan. Hasil penelitian menunjukkan ada pengaruh terhadap respon imun yang ditunjukkan dengan bertambahnya jumlah total hemosit (THC) dengan hasil tertinggi ditunjukkan oleh perlakuan B yaitu 2.640×10^7 sel/mL pada pemeriksaan hari ke 12 (H4). Peningkatan jumlah total hemosit terbaik ditunjukkan oleh perlakuan B sebelum di infeksi *V. harveyi*. Kelulushidupan tertinggi ditunjukkan oleh perlakuan D dengan SR sebesar 83 %. Dapat disimpulkan bahwa konsentrasi terbaik adalah perlakuan B (4 g/100g).

Kata kunci: *Anredera cardifolia*; Imunostimulan; *Penaeus monodon*; Vibriosis

ABSTRACT

*The aims of this study are to determine of addition binahong powder *A. cardifolia* in feed to the immune response, health status and survival rate of tiger prawn (*P. monodon*) that were infected by *V. harveyi*. The study was conducted by using the experimental method with completely randomized design (CRD), 4 treatments and 3 replications. The verage weighth of experimental shrimp was 9 g. Shrimp was maintained in aquarium 30 cm x 40 cm x 60 cm with 10 L media with stoking density 8 shrimp per aquarium. Cultivation period was 31 days with 7 day acclimatization, 14 days treatment and 10 days after challenge by *V. harveyi*. Challenge test performed on day 14 after treatment. The *A. cardifolia* consentration in each treatment were (A) 0 g/100 g of feed, (B) 4 g/100 g of feed, (C) 8 g/100 g of feed and (D) 12 g /100 g of feed. The results showed that there was an effect of the treatment on immune response that it shown by increasing total hemocytes count number (THC) with highest result shown in treatment B, $2,640.10^7$ cell/mL on 12th(H4) day examination and the higest result in survival was shown in treatment D with 83% survival rate. It can be concluded that the best treatment is B (4 g/100 g).*

Keyword: *Anredera cardifolia*; Immunostimulation; *Penaeus monodon*; Vibriosis

* Corresponding author (sbudiprayitno@gmail.com)

PENDAHULUAN

Permasalahan utama pada budidaya udang windu (*P. monodon*) baik dalam pembenihan dan pada kegiatan pembesaran adalah serangan virus dan bakteri. Bakteri yang sering ditemukan adalah vibrio. *Vibrio* sering ditemukan sebagai agensia penyakit vibriosis. Salah satu bakteri penyebab vibriosis adalah dari genus *Vibrio harveyi*. Serangan bakteri ini berhubungan erat dengan rendahnya kelulushidupan larva maupun udang dewasa dengan mortalitas hingga 100% (Khamesipour *et al.*, 2014). Kematian udang yang berhubungan dengan bakteri *V. harveyi* pada udang pernah dilaporkan di Indonesia (Sunaryanto dan Mariyam, 1986), India (Karunasagar *et al.*, 1994) dan Taiwan (Song dan Lee, 1993).

Penanganan vibriosis yang dilakukan oleh pembudidaya yaitu dengan menggunakan antibiotik sebagai upaya pengobatan. Padahal, penggunaan antibiotik dapat menyebabkan residu yang dapat menurunkan mutu dan kualitas pada udang dan lingkungan. Perlu alternatif lain untuk mengurangi penggunaan antibiotik yang digunakan sebagai obat, misalnya upaya pencegahan dengan meningkatkan sistem pertahanan tubuh udang.



Peningkatan sistem pertahanan tubuh dapat dilakukan dengan menggunakan imunostimulan yang berasal dari tanaman herbal, karena tumbuhan merupakan gudang dan sumber bahan kimia yang aman dan murah.

Binahong (*A. cardivolia*) berpotensi sebagai imunostimulan herbal. Penggunaan binahong sebagai imunostimulan pada udang belum banyak diteliti. Akan tetapi, sebagai antibakteri binahong mampu mencegah pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* (Darsana, 2012) dan mampu mempercepat penyembuhan luka pada mencit yang terinfeksi *Staphylococcus aureus* (Umar *et al.*, 2012). Potensi daun binahong sebagai agen imunostimulan diperkuat oleh adanya kandungan bahan aktif (Astuti, 2011) seperti alkaloid, flavonoid, fenol, steroid dan minyak esensial (Citarasu, 2010). Bahan aktif dari tanaman herbal terbukti memiliki kemampuan sebagai promotor pertumbuhan, anti stres, imunostimulan dan anti bakteri pada larva ikan dan kekerangan (Citarasu, 2010).

Upaya pencegahan serangan penyakit dengan imunostimulan memiliki kelebihan tersendiri, diantaranya adalah tidak menyebabkan resistensi dan lebih ramah lingkungan (Raa, 1996) dan (Smith *et al.*, 2003).

MATERI DAN METODE

Materi

Materi dalam penelitian ini meliputi udang windu (*P. monodon*) dengan bobot rata-rata 9 g yang didapatkan dari tambak pembesaran BBPBAP Jepara sebanyak 96 ekor. Isolat bakteri *V. harveyi* yang digunakan diperoleh dari koleksi Sarjito (2012). Adapun daun *A. cardivolia* diperoleh dari daerah Ambarawa, kabupaten Semarang. Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober 2014 – Januari 2015 di laboratorium Budidaya Perairan sebagai lokasi pemeliharaan udang uji, laboratorium *Tropical Marine and Biodiversity*, Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro sebagai tempat kultur bakteri dan uji sensitivitas dan Laboratorium Anatomi dan Patologi RSUP Kariadi Semarang, sebagai lokasi pembuatan preparat histologi hepatopankreas.

Metode

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari 4 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan yang diujikan yaitu penambahan serbuk daun binahong kedalam pakan dengan konsentrasi mengacu pada Sari *et al.* (2015) yang dimodifikasi. Persiapan daun binahong dan pembuatan pakan uji mengacu kepada Setyotomo (2011) dengan konsentrasi tiap perlakuan adalah A (0 g/100g pakan), B (4 g/100 g pakan), C (8 g/100 g pakan) dan D (12 g/100 g pakan). Perlakuan kultur bakteri *V. harveyi* dilakukan menggunakan media *Nutrient Agar* (NA) dan *Thiosulfate Citrate Bilesalt Sucrose* (TCBS) Agar. Sebelum digunakan bakteri terlebih dahulu dilakukan pasase. Perlakuan pemberian pakan yang mengandung binahong dilakukan sebelum infeksi dengan bakteri yaitu selama 14 hari. Bakteri *V. harveyi* disuntikan dengan kepadatan 10^8 CFU mL⁻¹ sebanyak 0,1 mL/ekor secara intramuskular. Pencucian bakteri mengacu pada Desrina *et al.* (2006). Parameter yang diamati meliputi respon imun dengan variabel ukur *Total Haemocyt Count* (Blaxhall dan Daisley, 1973), Status kesehatan ikan dengan variabel ukur gejala klinis dan histopatologi serta kelulushidupan. Pemeriksaan THC dilakukan sebelum dan sesudah infeksi sedangkan gejala klinis, histopatologi dan kelulushidupan diamati setelah infeksi *V.harveyi*. Kelulushidupan dianalisis secara kuantitatif menggunakan ANOVA.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Total Haemocyt Count (THC) dan Kelulushidupan

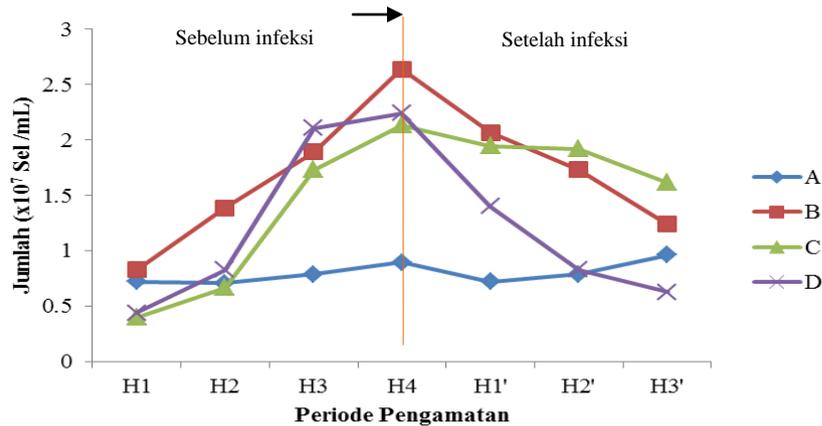
Hasil pengamatan THC pada udang uji yang diberikan bahan herbal berupa serbuk daun binahong *A. cardivolia* pada pakan dengan konsentrasi 4 g /100 g pakan (B), 8 g/100 g pakan (C) dan 12 g/100 g pakan (D) memperlihatkan peningkatan THC yang bervariasi dibandingkan dengan kontrol 0 g/100g (A). Nilai THC berkisar antara 0,4-2,6 ($\times 10^7$) sel/mL. Hasil pengamatan jumlah total hemosit pada hari ke-0 (H1), hari ke-4 (H2), hari ke-8 (H3) dan hari ke-12 (H4) serta pengamatan setelah infeksi bakteri pada hari ke-2 setelah infeksi (H1'), hari ke-4 (H2') dan hari ke-6 (H3') tersaji pada Gambar 1.

Penambahan serbuk daun binahong berpengaruh terhadap THC dengan hasil yang ditunjukkan perlakuan B (4 g/100 g pakan) peningkatan THC mencapai $\pm 300\%$. Perlakuan B mengindikasikan nilai THC tertinggi dibandingkan perlakuan C dan D dengan konsentrasi 8 g/100 g dan 12 g/100 g. Perlakuan C menunjukkan kenaikan pada hari ke-8, dari jumlah rerata 0.667×10^7 sel/mL menjadi 1.733×10^7 sel/mL begitu juga dengan perlakuan D, dari rerata 0.827×10^7 sel/mL menjadi $2,107 \times 10^7$ sel/mL. Kecenderungan peningkatan jumlah total hemosit diduga berkaitan erat dengan pemberian bahan asing yaitu daun binahong *A. cardivolia* yang mengandung bahan aktif. Seperti yang dilaporkan (Su dan Chen, 2008) bahwa bahan aktif secara langsung mampu merangsang pembentukan sel-sel hemosit. Salah satu bahan aktif yang berperan dalam meningkatnya jumlah total hemosit adalah saponin. Penelitian Su dan Chen (2008), menunjukkan bahwa konsentrasi saponin yang diberikan kepada udang vanamei secara signifikan meningkatkan THC setelah 48 hingga 72 jam.

Saponin mengandung salah satu molekul dari asam glysitinik yang memiliki aktifitas anti-inflammatory dan anti tumor (Zhang *et al.*, 1990). Edahiro *et al.* (1991) melaporkan ikan ekor kuning yang diberikan saponin secara oral menunjukkan peningkatan pertahanan dalam menghadapi infeksi dari bakteri *E. seriola*, meskipun aktifitas fagositosis dan aktifitas lisozim pada makropage tidak meningkat. Meski demikian, Kim *et al.* (2006) melaporkan hasil uji in vitro dengan menggunakan saponin mampu meningkatkan aktifitas

respiratori makropage dan respon proliferative dari limfosit pada ikan salmon. Ninomiya *et al.* (1995) juga melaporkan bahwa saponin yang dikombinasikan dengan vaksin meningkatkan migrasi leukosit pada ikan ekor kuning ke arah luka akibat infeksi. Maka, dapat disimpulkan bahwa pemberian bahan aktif saponin telah mampu menstimulasi pertahanan tubuh udang uji (*P. monodon*).

Peningkatan THC antara perlakuan tidak berbanding lurus dengan jumlah konsentrasi daun binahong yang diberikan. Seperti tersaji pada Gambar 1. dimana perlakuan B dengan konsentrasi serbuk binahong terendah (4 g/100 g) menunjukkan peningkatan yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan C (8 g/100 g) dan perlakuan C (12 g/100 g). Tidak seperti yang dilaporkan Su dan Chen (2008), bahwa semakin banyak konsentrasi bahan aktif yang diberikan maka akan semakin banyak peningkatan THC pada udang. Hal ini diduga karena bahan aktif yang terkandung didalam daun binahong belum diketahui secara kuantitatif, sedangkan Su dan Chen (2008) menggunakan saponin yang telah diketahui kuantitasnya dan telah dimurnikan.



Keterangan:

H1-H4 = pengamatan THC hari ke 1 – hari ke 12 selama perlakuan pemberian pakan yang mengandung binahong sebelum uji tantang dengan infeksi *V. harveyi*, dengan interval pemeriksaan 3 hari.

H1'-H3' = pengamatan THC hari ke 1 – hari ke 6 setelah uji tantang dengan *V. harveyi*, dengan interval waktu pemeriksaan 2 hari.

→ = uji tantang dengan infeksi *V. harveyi*

Gambar 1. Grafik nilai THC Udang Windu (*P. monodon*) sebelum dan sesudah infeksi

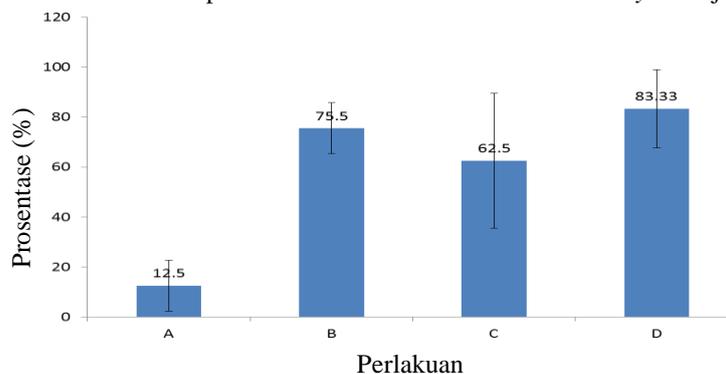
Jumlah total hemosit kembali menurun setelah udang di infeksi dengan *V. harveyi* pada hari ke-14 yaitu setelah pemeriksaan THC H4 (Gambar 1.). Penurunan jumlah total hemosit terlihat pada perlakuan B, 2.640×10^7 sel/mL menjadi 2.067×10^7 sel/mL dan perlakuan D, 2.240×10^7 sel/mL menjadi 1.400×10^7 sel/mL. Pada perlakuan D penurunan terjadi hingga 100% di pengamatan terakhir setelah infeksi yaitu (H3'). Perlakuan B dan juga perlakuan C mengalami penurunan. Namun pada perlakuan A. relatif tidak meningkat seperti pada gambar 1. Secara berurutan jumlah total hemosit pada setiap perlakuan di akhir pengamatan THC adalah, perlakuan A 0.60×10^7 sel/mL, perlakuan B 1.240×10^7 sel/mL, perlakuan C 1.613×10^7 sel/mL dan perlakuan D 0.627×10^7 sel/mL.

Penurunan jumlah total hemosit diduga merupakan dampak daripada infeksi bakteri. Hemosit akan bergerak ketempat luka akibat infeksi dan melakukan perlawanan terhadap bakteri sebagai bahan asing yang menyebabkan konsentrasi hemosit dalam hemolimph menjadi berkurang (Van de Braak, 2002). Hemosit beragregat menjadi gumpalan setelah infeksi bakteri yang akut (Van de Braak, 2002). Sel-sel fagositik hemosit akan meninggalkan sirkulasi setelah melakukan aktifitas fagositik dan masuk kedalam jantung, jaringan penunjang dan insang (Van de Braak, 2002). Biasanya degranulasi dapat diikuti oleh lisis sel (Soderhal *et al.*, 1988) atau sel juga akan melakukan bunuh diri atau dikenal juga dengan istilah apoptosis setelah melakukan perlawanan terhadap bakteri. Hemosit berperan penting dalam pertahanan seluler udang. THC yang rendah dapat mengurangi ketahanan udang terhadap patogen (Lee Moullac *et al.* 1998). Variasi jumlah hemosit diantara spesies udang penaid disebabkan juga oleh infeksi dan stresor lingkungan (Persson *et al.*, 1987), sedangkan Maeda *et al.* (1997) menyebutkan penurunan jumlah total hemosit disebabkan oleh akumulasi hemosit pada bagian luka yang diinfeksi sehingga terjadi aktifitas fagositosis dan penyembuhan luka yang menyebabkan kematian sel setelah melakukan fagositosis karena muatan dalam sel yang berlebih.

Total hemosit merupakan salah satu parameter imun pada krustase. Penelitian mengenai THC telah banyak dilakukan, yang menunjukkan bahwa keberadaan hemosit sangat penting untuk pertahanan terhadap patogen. Persson *et al.* (1987) melaporkan hubungan Antara jumlah total hemosit dan ketahanan *Pacifastacus leniusculus* terhadap jamur *Apahanomyces astaci*, bahwa penurunan THC udang karang *crayfish* melawan *A. astaci* ketikan infeksi, menyebabkan kematian pada inang. Lorenzo *et al.* (1999) melaporkan bahwa jumlah hemosit bebas dapat bervariasi dan dapat menurun secara drastis selama infeksi oleh patogen. Le Moullac (1998) mengemukakan bahwa *Penaeus stylorotis* dengan total hemosit yang rendah akibat hypoxia, menjadi lebih

sensitif terhadap infeksi bakteri yang sangat virulent. THC berubung erat dengan kelulushidupan udang uji. Pemberian daun binahong telah meningkatkan THC dan kelulushidupan. Kelulushidupan tertinggi ditunjukkan oleh perlakuan D yaitu sebesar 83,33%, perlakuan B sebesar 75% dan perlakuan C sebesar 62,5%. Citarasu *et al.* (2006), melaporkan bahwa penambahan tanaman herbal (*C. dactilon*, *Aegle marmelos*, *T. cardivolia*, *P. kurooa* dan *E. alba*) pada pakan yang diaplikasikan untuk udang dengan konsentrasi yang berbeda menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap kelulushidupan udang yang diinfeksi virus WSSV.

Pengamatan kelulushidupan (survival rate) udang windu setelah infeksi bakteri *V. harveyi* menunjukkan hasil yaitu pada perlakuan D (12 g/100 g pakan) sebesar 83,33%, perlakuan B (4 g/100 g pakan) sebesar 75 %, perlakuan C (8 g/100g pakan) sebesar 62,5% dan yang paling rendah perlakuan A (0 g/100 g pakan) sebesar 12,5%. Hasil pengamatan kelulushidupan udang windu setelah infeksi *V. harveyi* tersaji pada gambar 2.



Gambar 2. Kelulushidupan Udang Windu Setelah Infeksi Bakteri *V. harveyi*

Penambahan serbuk daun binahong berpengaruh nyata terhadap nilai kelulushidupan dengan hasil yang ditunjukkan Gambar 2. Nilai Kelulushidupan tertinggi ditunjukkan oleh perlakuan D yaitu sebesar 83,33 %, diikuti perlakuan B sebesar 75%, perlakuan C sebesar 62,5% dan perlakuan A tanpa pemberian binahong menunjukkan kelulushidupan sangat rendah. Kelulushidupan udang windu yang cukup tinggi setelah infeksi diduga karena respon imun udang telah meningkat setelah pemberian pakan perlakuan. Bahan aktif yang terkandung dalam binahong khususnya saponin telah merangsang pembentukan sel-sel hemosit dan melawan *V. harveyi* yang menginfeksi inang. Secara langsung, bahan aktif memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri (Darsana, 2007) dan merangsang pembentukan sel-sel hemosit (Su dan Chen, 2008). Rendahnya nilai kelulushidupan perlakuan A, diduga karena tidak adanya penambahan bahan aktif yang mampu merangsang peningkatan sistem imun. Diduga hemosit pada udang perlakuan A berkurang setelah aktifitas perlawanan terhadap infeksi secara fagositik maupun sel hemosit melakukan apoptosis setelah enkapsulasi bakteri. Oleh karena itu dapat diasumsikan bahwa semakin sedikit hemosit pada tubuh udang maka pertahanan tubuh semakin berkurang dan tidak mampu melawan infeksi bakteri yang menyebabkan kematian inang.

Kelulushidupan udang uji diduga pula berkaitan erat dengan peningkatan THC, karena daya tahan tubuh udang bersifat non spesifik (Ramu dan Zakaria, 2000). Tidak seperti hewan vertebrata yang memiliki sel memori dan memiliki antibody spesifik. Pertahanan pertama udang terhadap infeksi dilakukan oleh hemosit melalui fagositosis, enkapsulasi dan formasi nodul (Selvin *et al.*, 2000), Oleh karena itu, kenaikan THC diduga akan meningkatkan kemampuan sistem imun dan juga diasumsikan sebagai bentuk dari peningkatan respon imun seluler tubuh udang (Van de Braak, 2002). Dengan demikian, semakin tinggi THC maka semakin baik pertahanan tubuh dan kelulushidupan udang uji.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentersasi 4 g/100 g (perlakuan B), merupakan konsentersasi terbaik untuk imunostimulan karena konsentrasi tersebut sudah mampu merangsang peningkatan THC. Hal ini tidak lepas dari saponin sebagai salah satu bahan aktif yang terkandung didalam daun binahong *A. cardivolia*.

Status Kesehatan Ikan

Gejala klinis

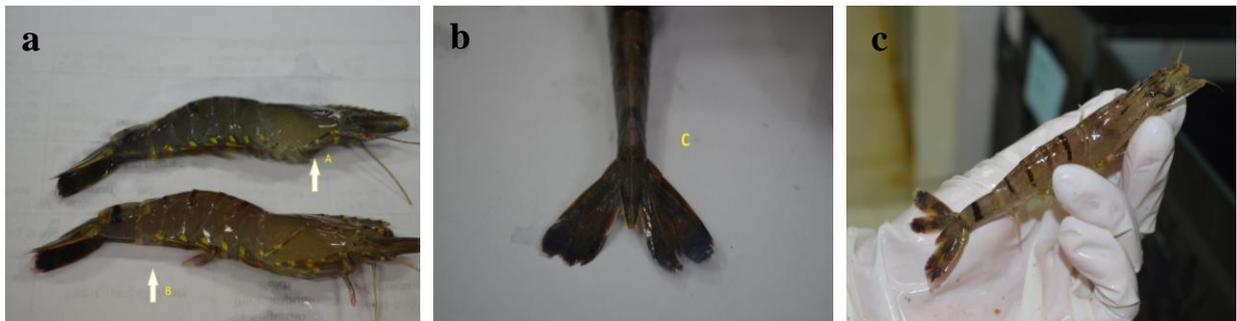
Gejala klinis yang teramati pada udang windu paska infeksi *V. harveyi* yaitu adanya perubahan tingkah laku dan perubahan kenampakan (morfologi tubuh). Perubahan tingkah laku udang uji diantaranya adalah nafsu makan yang menurun dan pergerakan udang yang pasif. Secara morfologis, seperti tersaji pada Gambar 3. yaitu perubahan warna tubuh menjadi kemerah-merahan, moulting, kaki jalan dan kaki renang yang memerah, nekrosis pada ekor dan hepatopankreas berwarna keruh kecoklatan.

Semua udang uji menampilkan memiliki gejala klinis yang sama. Diduga, gejala klinis yang tampak merupakan akibat dari infeksi *V. harveyi* dengan ciri-ciri tubuh memerah, kaki jalan dan kaki renang serta ekor menjadi merah. Baik perlakuan A, perlakuan B, perlakuan C maupun perlakuan D, menunjukkan gejala klinis pada jam ke 24 - 30 setelah infeksi *V. harveyi*. Sesuai dengan yang dilaporkan Sunaryanto dan Mariyam (1987); Nasi (2011); Septiani *et al.* (2012) dan Sarjito *et al.* (2012), gejala klinis udang terserang vibriosis adalah perubahan warna menjadi kemerahan, diikuti kaki jalan, kaki renang, telson dan ekor yang memerah. Jayasree (2006) melaporkan bahwa bakteri vibrio menimbulkan nekrosis pada ekor, penyakit pada karapas (Shell



disease), penyakit merah (*Red Disease*), sindrom lepasnya karapas (*Lose Shell Syndrome*) dan penyakit usus putih (*White Gut Disease*) dan Sarjito *et al.* (2012) menambahkan gejala klinis udang windu yang terserang vibriosis pada tambak memiliki ciri-ciri seperti terdapat melanosis pada tubuh, terdapat bercak putih dan moncong berwarna gelap.

Tidak ditemukan ciri khas dari bakteri *V. harveyi* setelah infeksi pada udang uji. Seperti yang dilaporkan Prayitno dan Latchford (1995), bahwa *V. harveyi* merupakan salah satu bakteri yang mampu berpendar (*luminescence bacteria*). Namun setelah dilakukan isolasi dan uji biokimia di Balai Karantina Ikan dan Pengendalian Mutu Hasil Perikanan kelas I Semarang, udang uji positif (+) terinfeksi *V. harveyi*. Hal ini diduga bahwa kepadatan bakteri *V. harveyi* pada udang berpengaruh terhadap terlihat atau tidaknya perpendaran pada udang uji.

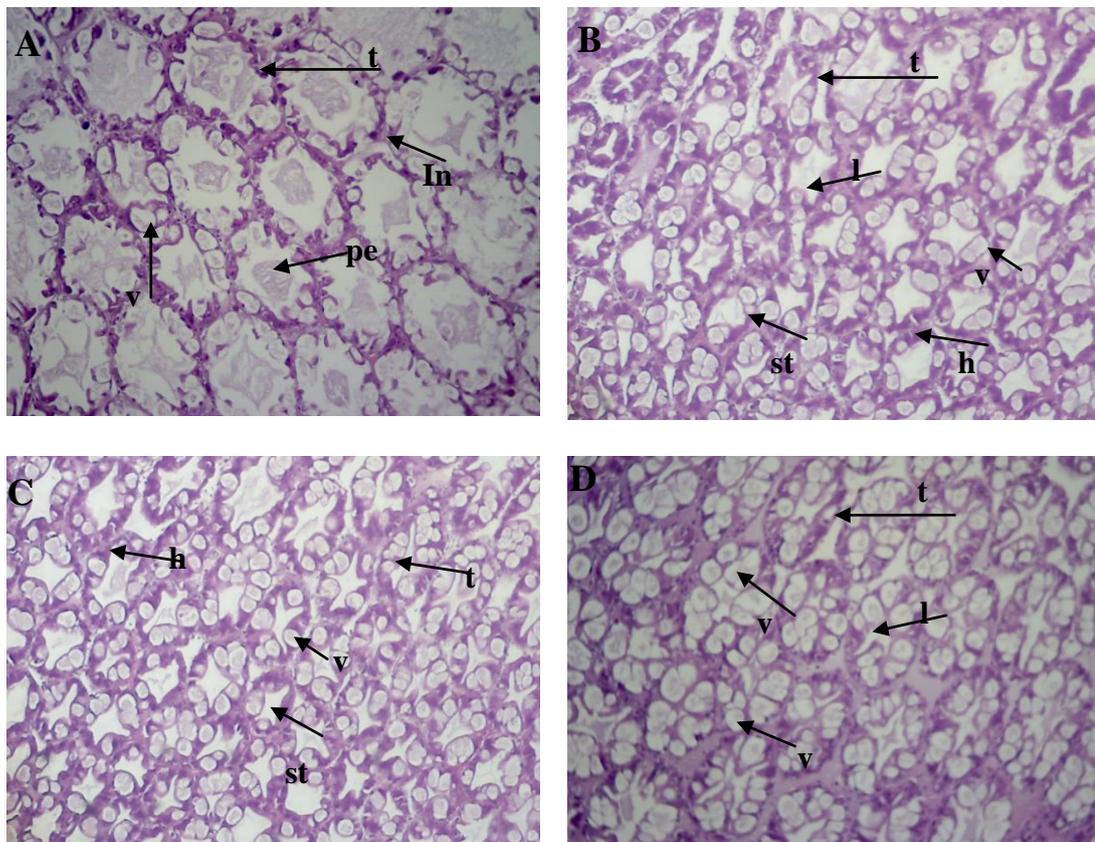


Keterangan: (a) Perubahan warna yang memerah; (b) ekor dan telson memerah serta terjadi nekrosis; (c) hepatopankreas berwarna gelap kecoklatan

Gambar 3. Gejala klinis Udang Windu 36 jam Setelah Infeksi *V. harveyi*

Histopatologi hepatopankreas

Hasil pengamatan histopatologi hepatopankreas dapat dilihat pada gambar 4. pada perbesaran preparat hepatopankreas dengan potongan melintang dan dengan 400x perbesaran mikroskop.



Keterangan:
 t = tubula; v = vakuolis;
 In = inti sel; l = sel epitel;
 st = saluran tubula; dan pe = peluruhan sel epitel yang mengisi saluran tubula

Gambar 4. Histopatologi Hepatopankreas perbesaran 400x
 (A) perlakuan 0 g/100 g; (B) 4 g/100g; (C) 8 g/100g; dan (D) 12 g/100 g



Hasil pengamatan histopatologi hepatopankreas dari keseluruhan perlakuan yang diinfeksi *V. harveyi* menunjukkan adanya kerusakan jaringan hepatopankreas. Kerusakan tidak terindikasi akibat serangan bakteri, karena tidak ditemukan bakteri pada preparat, namun kerusakan ini berkaitan erat dengan infeksi *V. harveyi*. Saluran pada tubula hepatopankreas udang terinfeksi *V. harveyi* mengalami pelebaran dan didalamnya terdapat sel-sel epitel yang telah rusak/luruh (Gambar 4A.). Jika dibandingkan dengan hepatopankreas udang sehat saluran tubula hepatopankreas udang yang sehat berbentuk pipih dan kosong (Musallamah *et al.*, 2010). Gambar A, B, C dan D menunjukkan inti sel yang sudah mengalami nekrosis dan vakuola mengalami abnormalitas, (biasa disebut dengan vakuolisasi). Vakuolisasi ditandai dengan sel epitel tubulus yang kehilangan isi selnya/kosong (Soegianto *et al.*, 1999).

Gambar 4A. (0 g/100 g) menunjukkan kerusakan yang berat dibandingkan Gambar 4B. (4 g/100 g), Gambar 4C. (4 g/100 g) dan Gambar 4D. (12 g/100 g). Bentuk tubula pada gambar tersebut terlihat tidak utuh karena epitel sudah mengalami lisis. Kerusakan ini diduga karena pada perlakuan A tidak ada penambahan binahong sebagai imunostimulan dan anti bakteri. Sehingga bakteri yang menginfeksi udang merusak jaringan tubuh dan saluran metabolisme. Yogeewaran *et al.* (2012) menjelaskan bahwa ada peningkatan kadar protein dan glukosa pada hemolim setelah infeksi oleh bakteri, hal ini dapat menyebabkan sel tidak mampu melakukan metabolisme dengan baik sehingga sel akan kelebihan muatan dan akhirnya mati. Lo *et al.* (1997) melaporkan bahwa tingginya konsentrasi protein dan asam amino pada hemolim udang akan merusak enzim dan jaringan otot serta hepatopankreas sebagai alat metabolisme dan hepatopankreas akan rusak karena tidak mampu mensintesis protein dan asam amino dalam jumlah besar. Hal ini menjadi penyebab kerusakan pada tubula hepatopankreas.

KESIMPULAN DAN SARAN

Penambahan serbuk daun binahong berpengaruh dalam meningkatkan jumlah total hemosit (THC) dan berpengaruh nyata terhadap kelulushidupan. Status kesehatan udang yang diinfeksi mengalami penurunan yaitu ditunjukkan dengan gejala klinis, diantaranya nafsu makan menurun, warna tubuh memerah dan hepatopankreas berwarna keruh kecoklatan serta gambaran histologis udang uji sudah mengalami kerusakan yaitu vakuolisasi, peluruhan sel epitel dan hipertropi. Konsentrasi terbaik untuk meningkatkan respon imun adalah perlakuan B dengan 4g daun binahong/100 g pakan.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini merupakan sebagian dari payung penelitian Dr. Ir. Sarjito, M.AppSc. Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada Ibu Dra. Wilis Ari Setyati, M.Si dan bapak Handung Nuryadi S.Kel atas bimbingan dan arahan selama menggunakan laboratorium *Tropical Marine Biology*, kepada Bapak Supito serta instansi BBPBAP Jepara, laboratorium Kimia Organik Fakultas Sains dan Matematika serta laboratorium anatomi dan patologi RSUP Kariadi, Semarang.

DAFTAR PUSTAKA

- Astuti, S. M. 2011. *Determination of Saponin Compound from Anredera cordifolia (Binahong) to Potential Treatment for Several Diseases*. Journal of Agricultural Science, 3 (4): 224-232
- Blaxhall, P. C and K. W. Daisley 1973. *Routine Haematological Method for Use with Fish Blood*. Journal Fish Biology. 5: 577-581.
- Citarasu, T. 2010. *Herbal Biomedicines - A New Opportunity to Aquaculture Industry*. Aquacult Int., 18: 403-414.
- Citarasu, T., V.Sivaram, G. Immanuel, N. Rout and V. Murugan. 2006. *Influence of Selected Indian Immunostimulant Herbs Against White Spot Syndrome Virus (WSSV) Infection in Black Tiger Shrimp, Penaeus monodon with Reference to Haematological, Biochemical and Immunological Changes*. Fish Shellfish Immunol., 21:372-384.
- Darsana, I. G. O., I. N .K. Besung dan H. Mahatmi. 2012. *Potensi Daun Binahong (Anredera Cordifolia (Tenore) Steenis) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli secara In Vitro*. Indonesia Medicus Veterinus. 1(3) : 337 – 351.
- Desrina, A. Taslihan, Ambariyanto dan Susiani Suryaningrum. 2006. *Uji Keganasan Bakteri Vibrio pada Ikan Kerapu Macan (Epinephelus fuscoguttatus)*. Ilmu Kelautan. 11 (3): 119-125
- Edahiro, T., M. Hamaguchi and R. Kusuda. 1991. *Suppressive Effect of Glycyrrhizia Against Streptococcal Infection Promoted by Feeding Oxidized Lipids to Yellow Tail Seriola quinqueradiata*. Suisanzoshoku, 39:21-27.
- Jayasree, L., P. Janakiram., and R. Madhavi. 2006. *Characterization of Vibrio spp. Associated with Diseased Shrimp from Culture Ponds of Andhra Pradesh (India)*. Journal of the World Aquaculture Society, 37(4): 523-533.
- Karunasagar, I., R. Pai, R., G. R. Malathi. and I. Karunasagar. 1994. *Mass Mortality of Penaeus monodon Larvae due to Antibiotic Resistant Vibrio harveyi infection*. Aquaculture, 128: 203-209.



- Khamesipour, F., E. Noshadi, M. Moradi and M. Raissy. 2014. *Detection of Vibrio spp. in Shrimp from Aquaculture Site in Iran Using Polymerase Chain Reaction (PCR)*. AACL Bioflux. 7 (1): 1-7.
- Kim, D. H. dan B. Austin. 2006. *Innate Immune Responses in Rainbow Trout (Oncorhynchus mykiss, Walbaum) Induced by Probiotics*. Fish Shellfish Immunol. 21:513-534.
- Le Moullac. 1998. *Effect of Hypoxia Stress on the Immune and Resistance to Vibriosis of Shrimp Penaeus stylirostris*. Fish and Shellfish Immunol. 8:621-629.
- Lo, C. F., C. H. Ho, C. H. Chen, K. F. Liu, Y. L. Chiu and P. Y. Yeh. 1997. *Detection and Tissue Tropism of White Spot Syndrome Baculovirus (WSBV) in Captured Brooders of Penaeus monodon with a Special Emphasis on Reproductive Organ*. Dis. Aquat Organ. 30 : 53-72.
- Maeda M, T. Itami, M. Kondo, O. Henning, Y. Takahashi, I. Hirano. 1997. *Characteristics of Penaeid Rod Shaped DNA Virus of Kuruma Shrimp. New Approaches to Viral Disease of Aquatic Animals. NRIA International Workshop*. Nansei, Mie, Japan: National Research Institute of Aquaculture. 218-228 pp.
- Musallamah. Aunorohim dan Abdulgani N. 2010. Pengaruh Paparan timbal (Pb) terhadap Perubahan Histopatologi Hepatopankreas Udang Galah (*Macrobrachium rosenbergii* De Mann). Institut Teknologi Sepuluh November, Surabaya. 56 hlm.
- Nasi, Lina. 2011. Kajian Bakteri Penyebab Vibriosis pada Udang secara Biomolekuler. [Thesis]. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Diponegoro. Semarang. 136 hlm.
- Ninomiya M., H. Hata, M. Fujiki, M. Kim and T. R. Yamamoto. 1995. *Enhancement of Chemotactic Activity of Yellowtail (Seriola quinqueradiata) Leucocytes by Oral Administration of Quillaja Saponin*. J. Fish Shellfish Immunol., 5:325-327.
- Persson, M, L. Cerenius and K. Soderhall. 1987. *The Influence of Haemocytes Number on the Resistance of the Freshwater Crayfish Pacifastacus leniusculus Dana, to the Parasitic Fungus Aphanomyces astaci*. J. Fish. Dis. 10:471-478.
- Prayitno, S.B. and J. W. Latchford. 1995. *Experimental Infections of Crustacean with Luminous Bacteria Related to Photobacterium and Vibrio. Effect of Salinity and on Infectiosity*. Aquaculture. 132:105-112.
- Raa, J. 1996. *The Use of Immunostimulatory Substances in Fish and Shellfish Farming*. Rev. Fish. Sci. 4: 229-288.
- Ramu K. and S. Zakaria 2000. *Defence Mechanism in Crustacean*. Infofish International. 5: 30-32.
- Sari, R. R. B., Sarjito, A. H. C. Haditomo. 2015. Pengaruh Penambahan Serbuk Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) dalam Pakan terhadap Kelulushidupan dan Histopatologi Hepatopankreas Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang Diinfeksi Bakteri *Vibrio harveyi*. Journal of Aquaculture Management and Technology. 4 (1): 26-32.
- Sarjito, N. E. W. Ningrum., O. K. Radjasa and S.B. Prayitno. 2012. *Application of Repetitive Sequence-Based PCR on the Richness of Vibrio on the Tiger Shrimp (Penaeus monodon Fab.)*. Journal of Coastal Development, 15 (3):303-309.
- Selvin J., A. J. Huxleya and A. P. Lipton. 2004. *Immunomodulatory Potential of Marine Secondary Metabolites Against Bacterial Diseases of Shrimp*. Aquaculture, 230: 241-248.
- Septiani, G., S. B. Prayitno. dan S. Anggoro. 2013. Potensi Antibakteri Ekstrak daun Jeruju (*Acanthus ilicifolius*) terhadap *Vibrio harveyi* secara In-Vitro. Jurnal Kedokteran Hewan, 7(1):17-20.
- Setyotomo, K. 2011. Efektivitas Campuran Bubuk Meniran *Phyllanthus niruri* dan Bawang Putih *Allium sativum* dalam Pakan untuk Pengobatan Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Lele Dumbo *Clarias sp.* [Skripsi]. Bogor. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB, Bogor, 41 hlm.
- Smith, J.V., J. H. Brown and C. Hauton. 2003. *Immunostimulation in Crustaceans; Does It Really Protect Against Infection*. Fish Shellfish Immunology, 15: 71-90.
- Soegianto, A., M. Charmantier-Daures, J. P. Trilles and G. Charmantier, 1999. *Impact of Copper on the Structure of Gills and Epipodites of the Shrimp Penaeus japonicas (Decapoda)*. J. Crustacean Biol., 19: 209-223
- Song, Y. L. dan S. P. Lee. 1993. *Characterization and Ecological Implication of Luminous Vibrio harveyi Isolated from Tiger Shrimp Penaeus monodon*. Bull. Inst. Zool. Acad. Sin. 32: 217-220.
- Söderhäll, K., W. Rögener, I. Söderhäll, R. P. Newton and N. A. Ratcliffe. 1988. *The Properties and Purification of a Blaberus craniifer Plasma Protein which Enhances the Activation of Haemocyte Prophenoloxidase by a β 1,3-glucan*. Insect Biochemistry, 18 (4): 323-330.
- Su, Bo-Kun and Jiann-Chu Chen. 2008. *Effect of Saponin Immersion on Enhancement of the Immune Response of White Shrimp Litopenaeus vannamei and Its Resistance Against Vibrio alginolyticus*. J. Fish & Shellfish Immunology, 24: 74-81.
- Sunaryanto, A. and A. Mariyam. 1987. *Occurrence of Pathogenic Bacteria Causing Luminescence in Penaeid Larvae in Indonesia Hatcheries*. Bull. Brackhis Water Aqua. Devl. Centre, 8: 64-70.
- Umar, A., D. Krihariyani dan D. T. Mutiarawati. 2012. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap Kesembuhan Luka Infeksi *Staphylococcus aureus* pada Mencit. Analisis Kesehatan Sains. 1(2): 68-75.



- Van de Braak, K. 2002. *Haemocytic Defence in Black Tiger Shrimp (Penaeus monodon)*. [P.hD Thesis] Wageningen University. Netherland, 159 pp.
- Yogeeswaran, A., S. Velmurugan, S. M. J. Punitha, M. M. Babu, T. Selvaraj, T. Kumaran and T. Citarasu. 2012. *Protection of Penaeus monodon Against White Spot Syndrome Virus by Inactivated Vaccine with Herbal Immunostimulants*. *Fish & Shellfish Immunology*, 32: 1058-1067
- Zhang Y. H., T. Yoshida, K. Isobe, M. J. Rahman, F. Nagase, L. Ding and I. Nakashima. 1990. *Modulation by Glycyrrhizin of the Cell-surface Expression of H-2 Class I Antigens on Murine Tumor Cell Lines and Normal Cell Populations*. *Immunology*, 70:405-410.