

EKSTRAK KULIT BAWANG MERAH (*Allium ascalonicum*) SEBAGAI ANTIBAKTERI UNTUK PENGOBATAN UDANG VANAME YANG DIINFEKSI *Vibrio parahaemolyticus*

Dinamella Wahjuningrum¹, Rika Ani Saputri¹, Widanarni¹, dan Dian Eka Ramadhani^{2*}

¹Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB University, Bogor

²Program Studi Teknologi dan Manajemen Pembenihan Ikan, Sekolah Vokasi, IPB University, Bogor

(Naskah diterima: 12 Juni 2024; Revisi final: 05 Maret 2025; Disetujui publikasi: 05 Maret 2025)

ABSTRAK

Penyakit *early mortality syndrome* atau *acute hepato pancreatic necrosis disease* yang disebabkan oleh bakteri patogen *Vibrio parahaemolyticus* menyebabkan kematian massal pada budidaya udang. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan dosis efektif dari ekstrak kulit bawang merah sebagai upaya pengobatan pada udang vaname yang diinfeksi *V. parahaemolyticus* R^f (resisten rifampisin 50 µg mL⁻¹). Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap yang terdiri dari lima perlakuan dan tiga ulangan yaitu K- (kontrol negatif), K+ (kontrol positif), KBM6,25 (ekstrak kulit bawang merah 6,25% pakan), KBM12,5 (ekstrak kulit bawang merah 12,5% pakan), dan KBM25 (ekstrak kulit bawang merah 25% pakan). Metode ekstraksi menggunakan *microwave assisted extraction* (MAE) dengan perbandingan 1:10 (50 g serbuk kulit bawang merah : 500 mL etanol absolut). Penelitian ini menggunakan udang vaname ukuran 3,41 ± 0,73 g per ekor yang diinfeksi terlebih dahulu dengan bakteri *V. parahaemolyticus* R^f. Pengobatan dilakukan dengan metode *dipping* sesuai dengan perlakuan selama 10 menit, dikembalikan ke wadah dan dipelihara selama 14 hari. Hasil uji sensitivitas tertinggi dihasilkan oleh dosis ekstrak 25% yaitu 11,47 mm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kulit bawang merah dosis 6,25% menghasilkan *total haemocyte count*, *differential haemocyte count*, aktivitas fagositik, penurunan jumlah bakteri *V. parahaemolyticus* R^f, kelangsungan hidup, dan rasio pemberian pakan yang signifikan berbeda dibanding kontrol positif. Pemberian ekstrak kulit bawang merah pada dosis 6,25-25% mampu memulihkan kondisi udang pascainfeksi dalam waktu 14 hari dengan dosis terbaik didapatkan pada 6,25%.

KATA KUNCI: fitobiotik; kulit bawang merah; penyembuhan; udang vaname; *Vibrio parahaemolyticus*

ABSTRACT: *Shallot (Allium ascalonicum) Peel Extract as an Antibacterial Treatment for Pacific White Shrimp Infected with Vibrio parahaemolyticus*

Early mortality syndrome or acute hepatopancreatic necrosis disease, caused by the pathogenic bacterium Vibrio parahaemolyticus, leads to mass mortality in shrimp farming. This study aims to determine the effective dose of shallot peel extract as a treatment for Pacific white shrimp infected with V. parahaemolyticus R^f (rifampicin-resistant at 50

*Korespondensi: Program Studi Teknologi dan Manajemen Pembenihan Ikan, Sekolah Vokasi, IPB University, Bogor
Email: dianeka06@apps.ipb.ac.id

$\mu\text{g mL}^{-1}$). A completely randomized design was used, consisting of five treatments with three replicates: K- (negative control), K+ (positive control), KBM6.25 (6.25% shallot peel extract in feed), KBM12.5 (12.5% shallot peel extract in feed), and KBM25 (25% shallot peel extract in feed). The extraction method employed microwave-assisted extraction with a ratio of 1:10 (50 g of shallot peel powder to 500 mL of absolute ethanol). The study used Pacific white shrimp with an average size of 3.41 ± 0.73 g per individual, which were first infected with *V. parahaemolyticus* Rf^R. The treatment was applied through a dipping method for 10 minutes, followed by a 14-day maintenance period. The highest sensitivity test results were observed at a 25% extract dose, producing a 11.47 mm inhibition zone. The results indicated that administering a 6.25% shallot peel extract significantly improved total haemocyte count, differential haemocyte count, phagocytic activity, reduction of *V. parahaemolyticus* Rf^R bacterial count, survival rate, and feed conversion ratio compared to the positive control. The administration of shallot peel extract at doses ranging from 6.25% to 25% successfully restored post-infection shrimp conditions within 14 days, with the optimal dose determined to be 6.25%.

KEYWORDS: Pacific white shrimp; phyto-biotic; recovery; shallot peel; *Vibrio parahaemolyticus*

PENDAHULUAN

Udang vaname dikenal dengan dagingnya yang lezat, tekstur yang bagus, dan harga yang terjangkau. Tak heran jika permintaan udang ini terus meningkat dari tahun ke tahun. Di Indonesia, udang vaname merupakan salah satu komoditas yang paling banyak diekspor dengan keuntungan mencapai jutaan Dolar Amerika Serikat. Udang vaname telah menyumbang hingga 36% dari total komoditas ekspor perikanan Indonesia. Hal ini menunjukkan tingginya permintaan di pasar global. Indonesia menempati peringkat keempat negara pengekspor udang terbesar di dunia (Jory, 2024). Berdasarkan analisis Global Seafood Alliance (GSA) pada tahun 2023, harga udang di pasaran kembali menjadi perhatian nomor satu pada tahun 2023, dilanjutkan pada biaya pakan, akses pasar, pencegahan penyakit, dan kualitas induk merupakan kekhawatiran utama nomor kedua hingga kelima. Meski populer, industri udang vaname masih menghadapi berbagai tantangan. Tak hanya kendala teknis dalam budidaya, situasi makroekonomi juga menjadi tantangan serius serta isu pasar udang global juga memberikan dampak tidak langsung kepada para petambak.

Isu penyakit saat ini masih menjadi ancaman bagi petambak karena berpengaruh terhadap kondisi ekonomi maupun sosial.

Penyakit *early mortality syndrome* (EMS) atau lebih dikenal *acute hepato pancreatic necrosis disease* (AHPND) yang disebabkan oleh bakteri patogen *Vibrio parahaemolyticus* mampu menyerang udang vaname terutama pada bagian hepatopankreas hingga menyebabkan kematian massal (Ahmed *et al.*, 2021; Tran *et al.*, 2013). Umumnya penanganan penyakit pada budidaya udang masih menggunakan antibiotik, namun penggunaannya menimbulkan berbagai permasalahan diantaranya resistensi bakteri patogen, meninggalkan residu di lingkungan dan tubuh udang, serta isu jaminan keamanan pangan bagi konsumen. Salah satu alternatif untuk penanganan penyakit AHPND yaitu dengan fitobiotik yang mengandung senyawa aktif sebagai antibakteri (Marentek & Manoppo, 2013).

Fitobiotik merupakan senyawa aktif alami yang diperoleh dari beberapa sumber herbal misalnya rempah-rempah dan ekstrak tumbuhan (Grashorn, 2010; Tiwari *et al.*, 2018; Windisch *et al.*, 2008). Salah satu jenis fitobiotik yang dapat menjadi alternatif penanganan atau pengobatan penyakit AHPND yaitu bawang

merah (*Allium ascalonicum*). Bawang merah banyak dimanfaatkan oleh manusia sebagai bahan pangan, bahan obat, dan kebutuhan lainnya. Namun, bagian kulit dibuang karena dianggap sebagai limbah. Menurut Saputra *et al.* (2015), kulit bawang merah memiliki kandungan fitokimia berupa flavonoid, tanin, alkaloid, dan saponin yang memiliki peran penting bagi kesehatan makhluk hidup sebagai antioksidan, antimikroba maupun antibakteri (Setiani *et al.*, 2017).

Hasil penelitian Octaviani *et al.* (2019) menunjukkan bahwa hasil skrining fitokimia kulit bawang merah konsentrasi 50% mengandung senyawa flavonoid yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif *Staphylococcus epidermidis* 11,75 mm dan *Staphylococcus aureus* 16,03 mm serta bakteri Gram negatif *Salmonella typhi* 9,42 mm dan *Escherichia coli* 7,77 mm. Konsentrasi suatu larutan merupakan hal yang esensial yang digunakan untuk menentukan laju reaksi tertentu dan kondisi di mana kesetimbangan dapat dipertahankan untuk reaksi tersebut. Oktaviani *et al.* (2019) melaporkan bahwa konsentrasi ekstrak kulit bawang merah 1,5% dan 3,125% menghasilkan zona hambat kurang dari 5 mm (kategori lemah) pada bakteri *S. epidermidis* dan *S. aureus*. Selain itu, pada konsentrasi tersebut juga tidak menunjukkan adanya zona hambat pada bakteri *S. thypi* dan *E. coli*.

Penelitian lainnya pada udang vaname menunjukkan bahwa pemberian ekstrak air bawang merah dan akuades dengan perbandingan 1:1 dapat menghambat pembentukan *blackspot* tanpa berpengaruh terhadap bau dan tekstur daging udang vaname. Namun demikian, penggunaan ekstrak air bawang merah tersebut perlu dikombinasikan dengan sodium metabisulfat atau bahan lainnya untuk menunjukkan pengaruh yang nyata (Yuniarty *et al.*, 2018). Pengujian ekstrak kulit bawang merah untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen *V. parahaemolyticus* hingga saat ini belum pernah dilakukan baik diuji secara *in vitro* maupun *in vivo*. Penelitian ini bertujuan

untuk mendapatkan dosis yang efektif dari ekstrak kulit bawang merah sebagai upaya pengobatan udang vaname yang diinfeksi *V. parahaemolyticus*.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat

Ekstraksi kulit bawang merah dilaksanakan di Ruang Pilotplane, South-East Asia Food and Agricultural Science and Technology Center (SEAFST), Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor (IPB). Pemeliharaan dan pengujian ekstrak kulit bawang merah dilaksanakan di Laboratorium Manajemen Kesehatan Hewan Akuatik, Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau Jepara,

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) terdiri atas lima perlakuan dengan tiga ulangan yaitu K- (kontrol negatif), K+ (kontrol positif), KBM6,25 (ekstrak kulit bawang merah 6,25%), KBM12,5 (ekstrak kulit bawang merah 12,5%), dan KBM25 (ekstrak kulit bawang merah 25%). Pengobatan dilakukan dengan cara menginfeksi hewan uji terlebih dahulu kemudian memberikan pengobatan sesuai dengan perlakuan. Infeksi pertama dilakukan pada udang kontrol negatif yaitu menginjeksi udang dengan *phosphate buffer saline* (PBS) sebanyak 0,1 mL ekor⁻¹ pada bagian ruas ke-3 abdomen. Selanjutnya infeksi bakteri *V. parahaemolyticus* Rf^R kepadatan 10⁶ CFU mL⁻¹ (bakteri patogen yang resisten terhadap rifampisin 50 µg mL⁻¹) dilakukan dengan cara injeksi sebanyak 0,1 mL dilakukan pada kelompok udang kontrol positif, KBM6,25%, KBM12,5%, dan KBM25% pada bagian ruas ke-3 abdomen (Yunarty *et al.*, 2020).

Persiapan Wadah dan Media Pemeliharaan

Wadah yang digunakan yaitu akuarium ukuran 60x40x40 cm³ sebanyak 15 buah

dan toples dengan volume 10 L. Persiapan wadah dilakukan dengan mencuci akuarium terlebih dahulu dengan deterjen kemudian dibilas dengan air tawar dan didesinfeksi menggunakan kaporit dosis 100 mg L⁻¹ dan dibiarkan selama 2-3 jam. Setelah itu, akuarium dibilas dengan air tawar dan dikeringkan. Bagian luar akuarium dilapisi plastik hitam dan bagian dalam dipasang aerasi. Akuarium diisi air laut salinitas 27-28 g L⁻¹ dengan ketinggian air 20 cm. Selanjutnya dilakukan desinfeksi dengan kaporit 30 mg L⁻¹ dan diaerasi selama 24 jam. Setelah itu akuarium ditambahkan Na₂S₂O₃ 15 mg L⁻¹ untuk menetralkan residu kaporit.

Persiapan Udang Vaname

Udang vaname yang digunakan berasal dari kolam budidaya Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro yang berada di Teluk Awur, Jepara. Udang vaname yang digunakan sebanyak 225 ekor (15 ekor per akuarium) dengan bobot rata-rata 3,41 ± 0,73 g per ekor dan panjang rata-rata 7,85 ± 0,56 cm per ekor. Proses aklimatisasi udang vaname berlangsung selama 5-7 hari di akuarium.

Pembuatan Ekstrak Kulit Bawang Merah

Kulit bawang merah diperoleh dari pedagang bawang merah kupas di pasar Dramaga, Bogor, Jawa Barat sebanyak 7-8 kg. Langkah pertama adalah menyiapkan alat diantaranya *grinder*, *microwave oven*, *erlenmeyer* 200 mL dan 250 mL, wadah nampan, aluminium foil, *rotary evaporator*, *vaccum dryer*, dan botol kaca 100 mL. Bahan yang disiapkan yaitu kulit bawang merah, air bersih, akuades 10 L, dan etanol 70%. Langkah selanjutnya yaitu pencucian kulit bawang merah menggunakan air hingga bersih dan dilakukan pencucian terakhir menggunakan akuades. Kulit bawang merah yang telah dicuci, dikeringkan selama 1-2 hari tanpa terkena sinar matahari. Selanjutnya, kulit bawang merah yang telah kering dihaluskan menggunakan blender (Octaviani *et al.*, 2019).

Ekstraksi kulit bawang merah menggunakan metode *microwave assisted extraction* (MAE)

dengan perbandingan 1:10 yaitu serbuk kulit bawang merah 50 g ditambahkan etanol 70% sebanyak 500 mL etanol absolut (Setiani *et al.*, 2017). Larutan dimasukkan ke dalam *microwave oven* dengan daya 800 W selama 6 menit, kemudian diradiasi berkala selama 1 menit dan dimatikan selama 2 menit. Larutan didiamkan pada suhu kamar dan disaring, kemudian hasil filtrasi diuapkan melalui *rotary evaporator* untuk mengeluarkan etanol 70% dan memperoleh ekstrak pekat atau rendemen kulit bawang merah sekitar 10% dari 500 mL awal ekstrak.

Persiapan Bakteri Patogen

Bakteri *V. parahaemolyticus* diperoleh dari Laboratorium Manajemen Kesehatan Hewan Akuatik, BBPBAP Jepara yang telah dikonfirmasi menggunakan *polymerase chain reaction* (PCR) dan uji biokimia. Langkah pertama, bakteri dikultur dalam media *thiosulfate citrate bile salt sucrose* (TCBS) selama 24 jam. Koloni *V. parahaemolyticus* yang tumbuh di media TCBS tanpa *marker* ditanam kembali pada media TCBS yang telah diberi antibiotik rifampisin 50 µg mL⁻¹ yang selanjutnya disebut *V. parahaemolyticus* resisten antibiotik rifampisin (*V. parahaemolyticus* R^{fr}) (Ramadhani *et al.*, 2019; Widanarni *et al.*, 2008). Langkah kedua, bakteri dikultur dalam media cair *triptic soy broth* (TSB) yang diberi NaCl 1% tanpa antibiotik rifampisin (Khasani *et al.*, 2010). Bakteri ini selanjutnya digunakan untuk kegiatan ujiantang dan *lethal dose* 50 (LD₅₀).

Ethical Clearance Statement

Semua prosedur percobaan dan pemeliharaan hewan menyesuaikan dengan panduan budidaya pembesaran udang vaname SNI 7311:2009 (Badan Standardisasi Nasional, 2009).

Pengujian LD₅₀

Lethal dose 50 (LD₅₀) adalah jumlah suatu bahan yang diberikan sekaligus yang menyebabkan kematian 50% pada kelompok

hewan uji. Metode merupakan salah satu cara untuk mengukur potensi keracunan jangka pendek (toksisitas akut) suatu bahan (Hodson, 1985; Zolotarev *et al.*, 2016). Uji LD₅₀ bakteri *V. parahaemolyticus* Rf^R pada penelitian ini menggunakan berbagai kepadatan sel bakteri diantaranya 10⁵ CFU mL⁻¹, 10⁶ CFU mL⁻¹, dan 10⁷ CFU mL⁻¹. Penghitungan nilai LD₅₀ mengacu pada Reed & Muench (1938). Hasil penghitungan LD₅₀ dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasarkan hasil uji LD₅₀ didapatkan bahwa kepadatan sel bakteri sebanyak 10⁶ CFU mL⁻¹ mengakibatkan kematian sebanyak 40% mendekati 50%. Hasil uji ini juga sesuai dengan penelitian Palawi *et al.*, (2019).

Uji Sensitivitas

Uji sensitivitas dilakukan untuk mengetahui konsentrasi ekstrak kulit bawang merah yang dapat menghambat bakteri *V. parahaemolyticus* Rf^R pada kepadatan sel 10⁶ CFU mL⁻¹. Uji sensitivitas mengacu pada penelitian Octaviani (2019) menggunakan metode difusi cakram yang ditetesi 20 µL ekstrak kulit bawang merah dengan konsentrasi seperti pada Tabel 2.

Pemeliharaan Pascaperlakuan

Pemeliharaan dilakukan dengan memberi pakan komersial tipe pelet tenggelam dengan kadar protein 40%. Pemberian pakan

Tabel 1. Hasil uji LD₅₀ bakteri *Vibrio parahaemolyticus* Rf^R pada udang vaname
Table 1. Results of LD50 test for *Vibrio parahaemolyticus* Rf^R on Pacific white shrimp

Konsentrasi Concentration (CFU mL ⁻¹)	Jumlah hewan Number of animals (ekor) (ind)	Akumulasi Accumulation		Persentase kematian Mortality (%)	Konsentrasi LD ₅₀ LD ₅₀ concentration (CFU mL ⁻¹)
		Mati Dead	Hidup Alive		
10 ⁵	10	2	8	20	10 ⁶
10 ⁶	10	4	6	40	
10 ⁷	10	7	3	70	

Tabel 2. Hasil uji sensitivitas ekstrak kulit bawang merah terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus* Rf^R 10⁶ CFU mL⁻¹

Table 2. Results of sensitivity test of shallot peel extract against *Vibrio parahaemolyticus* Rf^R 10⁶ CFU mL⁻¹

Konsentrasi Concentration (%)	Daya hambat Inhibition zone (mm)
0,00	0,00 ± 0,00
6,25	9,40 ± 0,10
12,50	10,93 ± 0,11
25,00	11,47 ± 0,06
50,00	11,93 ± 0,11
75,00	12,93 ± 0,06
100,00	13,93 ± 0,06

Keterangan:
Note:

< 5 mm
< 5 mm
5-10 mm
5-10 mm

= lemah
= weak
= sedang
= average

10-20 mm = kuat
10-20 mm = strong
> 20 mm = sangat kuat
> 20 mm = very strong

dilakukan lima kali per hari pada pukul 06:00, 10:00, 14:00, 18:00, dan 22:00 WIB secara *restricted* berdasarkan *feeding rate* (FR) 5% dari bobot udang vaname. Seluruh kegiatan pemeliharaan udang vaname mengacu pada SNI 8037.1-2014. Uji pengobatan dilakukan dengan metode *dipping* pada masing-masing perlakuan selama 10 menit lalu dikembalikan pada wadah pemeliharaan. Selanjutnya dilakukan pemeliharaan selama 14 hari untuk mengamati pengaruh ekstrak kulit bawang merah pada udang vaname yang terinfeksi bakteri *V. parahaemolyticus* R^f.

Pengelolaan Kualitas Air

Pengelolaan kualitas air dilakukan dengan cara sifon bagian dasar akuarium, pergantian air 5-30%, dan pengecekan aerasi setiap hari. Kualitas air media pemeliharaan udang vaname dipertahankan dengan kisaran sesuai pada Tabel 3.

Parameter yang Diamati

Parameter yang diamati diantaranya *total haemocyte count* (THC) (Blaxhall & Daishley, 1973), *differential haemocyte count* (DHC) (Reed & Muench, 1938), aktivitas fagositosis (AF) (Anderson & Siwicki, 1995), gejala klinis dan total bakteri *V. parahaemolyticus* R^f (Tyas *et al.*, 2018), histopatologi (Lightner & Redman, 1977), tingkat kelangsungan hidup (TKH) (Huisman, 1987) serta rasio konversi pakan (RKP) (Zonneveld, 1991). Pengamatan gejala klinis dan abnormalitas dilakukan pada hari ke-3 pascainfeksi, hari ke-5, hari ke-7, dan hari ke-14 pascapengobatan. Pengobatan dilakukan setelah 3x24 jam injeksi bakteri *V. parahaemolyticus* R^f atau setelah adanya gejala klinis yang muncul di hari ke-3 pascainfeksi. Preparat histopatologi udang vaname dibuat setelah pemeliharaan 14 hari pascapengobatan dengan ekstrak kulit bawang merah. Bagian cephalothorax dan abdomen udang vaname diinjeksi dan difiksasi melalui perendaman dengan larutan Davidson's sebelum pembuatan preparat histopatologi.

Analisis Data

Parameter kesehatan (THC, DHC, dan AF) dan parameter pertumbuhan (TKH dan RKP) diuji secara kuantitatif. Gejala klinis, jumlah *V. parahaemolyticus* R^f, dan histopatologi udang vaname dianalisis secara deskriptif. Data THC, DHC, dan AF dianalisis menggunakan ANOVA pada aplikasi IBM SPSS 25.0, jika hasil berbeda nyata ($P < 0.05$) maka dilakukan uji lanjut *Duncan's multiple range test* (DMRT) untuk mengukur perbedaan spesifik di antara rata-rata dengan selang kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Total Haemocyte Count

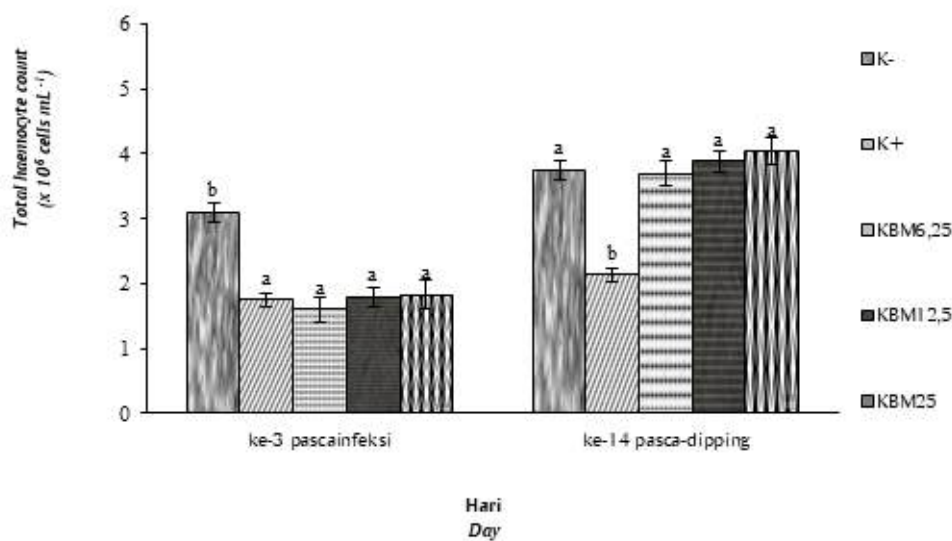
Hasil pengukuran THC udang vaname pascainfeksi hari ke-3 menunjukkan bahwa perlakuan K- menghasilkan nilai THC tertinggi $3,10 \pm 0,15 \times 10^6$ sel mL⁻¹ dan berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan perlakuan lainnya (Gambar 1). Pascapengobatan hari ke-14, nilai THC tertinggi dihasilkan pada perlakuan KBM25 dan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dengan perlakuan K-, KBM6,25, KBM12,5, dan KBM25. Nilai THC pada perlakuan K+ menunjukkan nilai terendah dan berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan perlakuan lainnya.

Bakteri *V. parahaemolyticus* yang menginfeksi udang vaname mampu melepaskan toksin hingga menyebabkan gangguan keseimbangan mikrobiota saluran pencernaan atau disebut disbiotik. Keadaan ini dapat memicu respons imun dan mengganggu persimpangan antarsel epitel lambung hingga muncul kerusakan jaringan (Kumar *et al.*, 2020). Respons imun udang dalam melawan infeksi patogen dapat diketahui dari kondisi sel hemosit dalam darah udang. Sel hemosit terdiri atas sel hialin, sel semigranular dan sel granular (Braak, 2000). Sel hemosit berperan dalam merespon imunitas seperti aktifitas fagositik, enkapsulasi, deteksi partikel asing, dan pengendalian sistem *prophenoloxidase* proPO (Sahoo *et al.*, 2008). Aktifitas fagositosis secara dominan dilakukan oleh sel hialin (Salinas *et al.*, 2021), sedangkan

Tabel 3. Kualitas air pada pemeliharaan udang vaname selama 14 hari pascapengobatan dengan ekstrak kulit bawang merah

Table 3. Water quality of Pacific white shrimp rearing during 14-day-post-treatment with shallot peel extract

Parameter	Hasil monitoring Monitoring results	Standard SNI 8008:2014*
Suhu (°C) Temperature (°C)	27,30-29,60	Min. 27
Dissolved oxygen (mg L ⁻¹)	5,04-5,36	> 4,0
pH	7,47-7,53	7,5-8,5
Salinitas (g L ⁻¹) Salinity (g L ⁻¹)	27,00-28,00	10-32
Ammonia (mg L ⁻¹)	0,0040-0,0059	Max. 0,1



Gambar 1. Total haemocyte count udang vaname hari ke-3 pascainfeksi dengan *Vibrio parahaemolyticus* Rf^R dan pascapengobatan dengan metode dipping menggunakan ekstrak kulit bawang merah hari ke-14. Huruf superscript yang berbeda di atas batang pada hari yang sama menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata ($P<0,05$). K- = kontrol negatif; K+ = kontrol positif; KBM6,25 = pengobatan dengan ekstrak kulit bawang merah pada dosis 6,25%; KBM12,5 = dosis 12,5%; dan KBM25 = dosis 25%

Figure 1. Total haemocyte count of Pacific white shrimp on the 3rd day post-infection with *Vibrio parahaemolyticus* Rf^R and post-treatment using the dipping method with shallot peel extract on the 14th day. Different superscript letters above the bars on the same day indicate significantly different effects ($P<0.05$). K- = negative control; K+ = positive control; KBM6,25 = treatment with shallot peel extract at a dose of 6.25%; KBM12,5 = dose of 12.5%; and KBM25 = dose of 25%

sel semigranular dan granular berperan menjalankan sistem proPO, enkapsulasi, sitotoksis, tetapi memiliki keterbatasan pada aktivitas fagositosis (Battistella *et al.*, 2009; Johansson *et al.*, 2000). Jumlah sel hemosit dihitung berdasarkan THC.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai THC pada perlakuan ekstrak kulit bawang merah menunjukkan peningkatan nilai THC yang nyata pada udang vaname pascapengobatan. Hal tersebut diduga bahwa ekstrak kulit bawang merah mampu membantu

memperbaiki dan merangsang pemulihan sel hemosit setelah terinfeksi bakteri *V. parahaemolyticus* R^f. Peningkatan jumlah total hemosit diasumsikan sebagai bentuk dari respons imun seluler pada tubuh udang (Braak, 2000). Nilai THC yang meningkat diduga berkaitan dengan kandungan berupa flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin yang berperan sebagai antibakteri (Sofihidayati *et al.*, 2018). Penelitian Yani *et al.* (2022) melaporkan bahwa ekstrak daun bawang juga memiliki kandungan antibakteri berupa flavonoid, saponin, tanin, alkaloid, steroid, dan triterpenoid. Kandungan antibakteri tersebut diperlukan untuk tujuan penyembuhan penyakit. Menurut Dewiyanti *et al.* (2022), ekstrak daun bawang yang berasal dari Aceh yang telah dianalisis dengan GC-MS menunjukkan kandungan asam lemak yang tinggi diantaranya *hexadecanoic acid methyl ester*, *octadecadienoic acid*, dan *octadecatrienoic acid*. Kandungan asam lemak tersebut mampu untuk membunuh bakteri patogen. Penelitian Annisa *et al.* (2015) menggunakan daun sirih (*Piper betle*) sebagai antibakteri mampu meningkatkan nilai THC seiring dengan adanya infeksi patogen.

Differential Haemocyte Count

Differential haemocyte count (DHC) yang diamati yaitu sel hialin dan sel granular (Gambar 2). Nilai DHC sel hialin hari ke-3 pascainfeksi menunjukkan udang kontrol negatif (K-) $75,80 \pm 0,97\%$ berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan kontrol positif (K+); KBM6,25; KBM12,5; dan KBM25, sedangkan nilai DHC sel granular hari ke-3 pascainfeksi menunjukkan bahwa KBM6,25; KBM12,5; dan KBM25 menghasilkan nilai yang lebih besar dan berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan K-. Pascapengobatan hari ke-14, nilai DHC sel hialin dan granular pada perlakuan K+ berbeda nyata ($P < 0,05$) dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

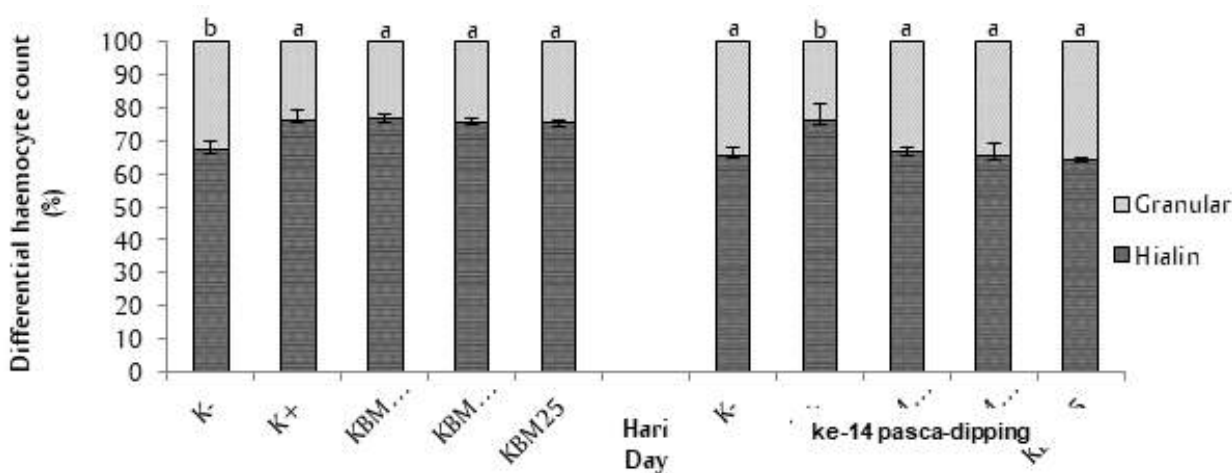
Sel-sel hemosit memiliki peran yang berbeda-beda, dalam penelitian ini sel hemosit yang diukur yaitu sel hialin dan sel granular yang dinyatakan dalam nilai DHC. Ukuran dan bentuk sel semigranular diduga menyerupai sel granular, sehingga persentase sel tersebut

dihitung bersama dengan sel granular (Jannah *et al.*, 2018). Hasil penelitian ini didapatkan bahwa jumlah sel hialin terendah pascapengobatan yaitu pada pemberian ekstrak kulit bawang merah 25% dan tertinggi terdapat pada kontrol positif $75,96 \pm 5,33\%$. Persentase sel hialin tersebut masih dalam kisaran kondisi udang kontrol negatif yaitu 60-93% (Owens & O'Neill, 1997). Peningkatan sel hialin pada udang kontrol positif diduga sebagai bentuk pertahanan tubuh dalam melawan bakteri *V. parahaemolyticus* R^f yang masuk ke dalam tubuh udang vaname, sedangkan pada perlakuan ekstrak kulit bawang merah jumlah sel hialin lebih rendah dari kontrol positif. Hal ini diduga udang vaname pada perlakuan mengalami masa penyembuhan dan aktivitas sel hialin dalam melawan patogen telah selesai.

Sel granular udang vaname pascapengobatan menunjukkan presentase tertinggi pada pemberian ekstrak kulit bawang merah dengan nilai $35,52 \pm 0,52\%$, sedangkan nilai terendah dihasilkan oleh kontrol positif sebesar $24,04 \pm 5,34\%$. Presentase sel granular tersebut masih dalam kisaran kondisi udang kontrol negatif yaitu antara 17-40% (Owens & O'Neill, 1997). Nilai sel granular mengalami penurunan pada udang yang telah diinfeksi karena adanya serangan patogen yang memengaruhi sel granular menjalankan proses degranulasi, *cytotoxicity*, dan lisis terhadap komponen asing yang masuk ke dalam tubuh udang vaname. Hal tersebut menyebabkan terjadinya penurunan jumlah sel granular (Darwanti *et al.*, 2016). Sel granular pascapengobatan diperoleh hasil tertinggi pada perlakuan KBM25 sebesar $35,52 \pm 0,52\%$ dan presentase hasil terendah pada udang kontrol positif sebesar $24,49 \pm 5,33\%$. Tingginya sel granular pascapengobatan diduga akibat menurunnya jumlah bakteri *V. parahaemolyticus* R^f.

Aktifitas Fagositik

Nilai AF pascainfeksi pada hari ke-3 menunjukkan bahwa udang kontrol negatif (K-) menghasilkan nilai AF tertinggi ($36,16 \pm 3,45\%$),



Gambar 2. *Differential haemocyte count* udang vaname hari ke-3 pascainfeksi dengan *Vibrio parahaemolyticus* R^{fr} dan hari ke-14 pascapengobatan dengan ekstrak kulit bawang merah. Huruf *superscript* yang berbeda di atas batang pada hari yang sama menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata ($P<0,05$). K- = kontrol negatif; K+ = kontrol positif; KBM6,25 = pengobatan dengan ekstrak kulit bawang merah pada dosis 6,25%; KBM12,5 = dosis 12,5%; dan KBM25 = dosis 25%

Figure 2. *Differential haemocyte count* of Pacific white shrimp on the 3rd day post-infection with *Vibrio parahaemolyticus* R^{fr} and the 14th day post-treatment with shallot peel extract. Different superscript letters above the bars on the same day indicate significantly different effects ($P<0.05$). K- = negative control; K+ = positive control; KBM6.25 = treatment with shallot peel extract at a dose of 6.25%; KBM12.5 = dose of 12.5%; and KBM25 = dose of 25%

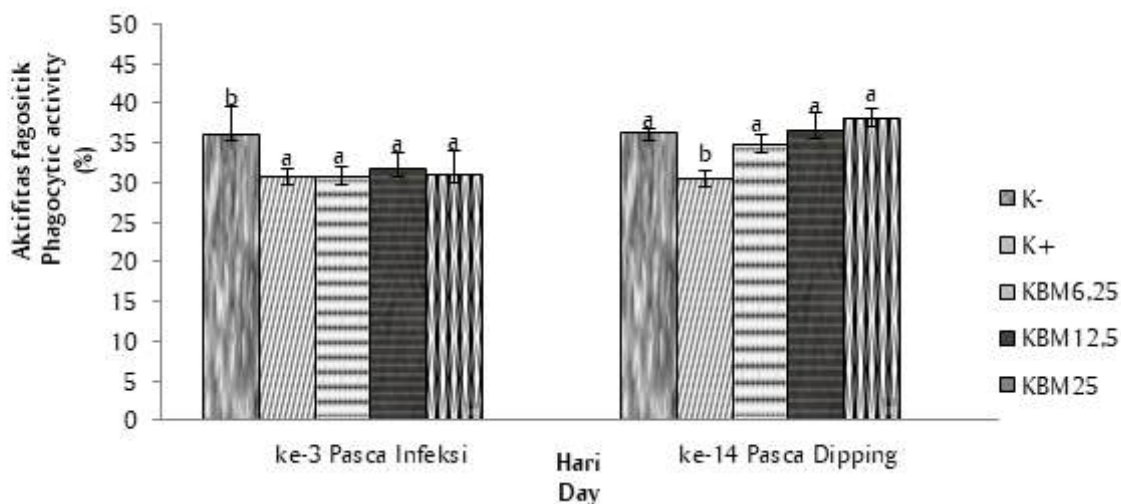
dan berbeda nyata ($P<0,05$) dibandingkan perlakuan lainnya. Pascapengobatan pada hari ke-14, udang kontrol positif (K+) menghasilkan nilai AF terendah ($30,35 \pm 1,25\%$) dan berbeda nyata ($P<0,05$) dengan perlakuan lainnya (Gambar 3).

Aktivitas fagositik (AF) merupakan mekanisme pertahanan non-spesifik dalam melindungi udang dari serangan patogen (Wu *et al.*, 2024). Udang vaname memiliki respons imun yang berasal dari *prophenoloxidase activating enzyme* (PPA) yang terletak di sel granular hemosit. Protein tersebut diaktivasi oleh lipopolisakarida dan β 1.3-glukan yang merangsang *prophenoloksidase* untuk membentuk *phenoloksidase*. Proses tersebut akan menghasilkan semacam protein *opsonin factor* yang memengaruhi proses fagositosis (Rohmin *et al.*, 2017). Nilai AF pascapengobatan dengan ekstrak kulit bawang merah 25% menunjukkan nilai tertinggi dan nilai terendah yang dihasilkan oleh kontrol positif. Hasil ini diduga semakin tinggi dosis ekstrak kulit bawang merah maka akan meningkatkan

nilai AF. Hal ini sesuai dengan pernyataan Kurniawan *et al.* (2018) bahwa pemberian bahan yang mengandung antibakteri dapat merangsang dan meningkatkan kemampuan sel dalam merespons imun non-spesifik.

Gejala Klinis

Pengamatan gejala klinis dilakukan setelah udang vaname diinfeksi menggunakan bakteri *V. parahaemolyticus* R^{fr} pada hari ke-3, ke-5, ke-7, dan ke-14 pascapengobatan (Tabel 4). Pengamatan gejala klinis menunjukkan bahwa perlakuan K+; KBM6,25; KBM12,5; dan KBM25 pada hari ke-3 hingga ke-5 menunjukkan udang dengan hepatopankreas dan usus yang berwarna pucat, terjadi melanosis pada abdomen dan pereopod (kaki jalan), serta bagian pleopod (kaki renang) dan uropod berubah warna menjadi kemerahan hingga mengalami nekrosis. Pengamatan hari ke-7 terjadi menunjukkan terjadinya penurunan gejala klinis pada semua perlakuan ekstrak kulit bawang merah yaitu pereopod, abdomen,



Gambar 3. Aktifitas fagositik udang vaname hari ke-3 pascainfeksi dengan *Vibrio parahaemolyticus* R^f dan hari ke-14 pascapengobatan dengan metode *dipping* ekstrak kulit bawang merah. Huruf *superscript* yang berbeda di atas batang pada hari yang sama menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata ($P < 0,05$). K- = kontrol negatif; K+ = kontrol positif; KBM6,25 = pengobatan dengan ekstrak kulit bawang merah pada dosis 6,25%; KBM12,5 = dosis 12,5%; dan KBM25 = dosis 25%

Figure 3. Phagocytic activity of Pacific white shrimp on the 3rd day post-infection with *Vibrio parahaemolyticus* R^f and the 14th day post-treatment using the dipping method with shallot peel extract. Different superscript letters above the bars on the same day indicate significantly different effects ($P < 0.05$). K- = negative control; K+ = positive control; KBM6.25 = treatment with shallot peel extract at a dose of 6.25%; KBM12.5 = dose of 12.5%; and KBM25 = dose of 25%

dan pleopod mengalami pemudaran melanosis. Pengamatan hari ke-14 menunjukkan bahwa semua perlakuan ekstrak kulit bawang merah mengalami pemulihan yang ditandai semua bagian tubuh mulai normal.

Hasil pengamatan udang vaname setelah terinfeksi *V. parahaemolyticus* R^f menunjukkan adanya gejala klinis secara morfologi seperti melanosis pada abdomen, nekrosis, kaki jalan, dan kaki renang berubah warna menjadi kemerahan, kosongnya saluran pencernaan serta warna hepatopankreas lebih pucat. Gejala klinis lainnya adalah pergerakan udang pasif dan respons udang terhadap pakan rendah. Gejala klinis udang vaname yang terinfeksi bakteri *Vibrio* diantaranya udang bergerak pasif, berenang tidak beraturan, dan nafsu makan menurun (Annisa *et al.*, 2015). Selain itu terdapat adanya melanosis pada tubuh, bercak putih di bagian kaki jalan, kemerahan pada telson, dan kaki renang (Sarjito *et al.*, 2012). Gejala klinis lainnya yaitu kemerahan pada tubuh, ekor, dan pleopod (kaki renang), serta terjadinya

nekrosis pada karapas. Pemberian ekstrak kulit bawang merah pada penelitian ini berpengaruh terhadap pemulihan morfologi udang vaname seperti memudarnya warna kemerahan pada kaki jalan, kaki renang, ekor, dan hilangnya nekrosis pada karapas udang vaname. Pemulihan ini diduga karena adanya pengaruh senyawa aktif pada ekstrak kulit bawang merah yang berperan sebagai antibakteri pascainfeksi *V. parahaemolyticus* R^f.

Jumlah *Vibrio parahaemolyticus* R^f

Hasil penghitungan bakteri *V. parahaemolyticus* R^f dilakukan pascainfeksi pada hari ke-3 dan pascapengobatan pada hari ke-14 yang dapat dilihat pada Tabel 5. Hasil pengamatan pascainfeksi pada hari ke-3 menunjukkan bahwa pada perlakuan KBM6,25 terdapat jumlah bakteri *V. parahaemolyticus* R^f sebanyak $2,47 \pm 0,06 \times 10^6$ CFU mL⁻¹ yang merupakan jumlah tertinggi dan berbeda nyata ($P < 0,05$) dibandingkan perlakuan

Tabel 4. Gejala klinis udang vaname pascainfeksi dengan *Vibrio parahaemolyticus* R^f dan pascapengobatan dengan ekstrak kulit bawang merah
Table 4. Clinical symptoms of Pacific white shrimp in the post-infection period with *Vibrio parahaemolyticus* R^f and the post-treatment period with shallot peel extract

Perlakuan Treatments	Hari ke- Day			
	3	5	7	14
K-				
K+				
KBM6,25				
KBM12,5				
KBM25				

Keterangan:  = hepatopankreas,  = abdomen,  = uropod

lainnya. Pascapengobatan hari ke-14, terjadi penurunan jumlah bakteri *V. parahaemolyticus* R^f pada perlakuan pengobatan dengan ekstrak kulit bawang merah dan berbeda nyata ($P<0,05$) dengan K+. Namun demikian, perlakuan K+ mengalami peningkatan jumlah bakteri *V. parahameolyticus* R^f baik pascainfeksi hari ke-3 hingga pascapengobatan hari ke-14. Pada perlakuan K- tidak terdeteksi adanya *V. parahemolyticus* R^f baik pascainfeksi hari ke-3 dan pascapengobatan hari ke-14.

Jumlah bakteri *V. par* R^f pascapengobatan dengan ekstrak kulit bawang merah mengalami penurunan dari kepadatan 10^6 CFU mL⁻¹ hingga 10^2 CFU mL⁻¹. Regulasi gen virulen adalah respons positif dari mekanisme *quorum sensing* (QS), yang terjadi saat sinyal komunikasi antarsel atau *autoinducer* mencapai *quorum* (Defoirdt *et al.*, 2004). Bakteri patogen *V. parahaemolyticus* menghasilkan senyawa *autoinducer* berupa *acyl homoserine lactones* (AHL), seperti 3-oxo-C6 HSL (Vinoj *et al.*, 2014). Jika QS terganggu, misalnya oleh degradasi *autoinducer* oleh enzim laktonase, maka virulensi bakteri terhambat karena tidak ada respons balik yang diterima

oleh reseptor sel bakteri, sehingga regulasi faktor virulensi tidak terjadi (Widyastuti *et al.*, 2021). Keberadaan bakteri *V. parahaemolyticus* R^f yang masih ditemukan dalam inang diduga dikendalikan oleh penghambat ekspresi pada faktor virulensi. Sinyal komunikasi sel bakteri diduga didegradasi oleh zat aktif dari ekstrak kulit bawang merah sehingga QS menjadi tidak aktif atau dikenal dengan *anti quorum sensing* (AQS)

Histopatologi Udang Vaname

Histopatologi hepatopankreas udang vaname pada hari ke-14 pascapengobatan tersaji pada Tabel 6. Histopatologi hepatopankreas K- pada udang vaname kontrol negatif ditandai adanya sinus hemal (pembuluh), sel epitel tubulus hepatopankreas lengkap dengan vakuola dan lumen. Histopatologi udang K+ mengalami peluruhan struktur acinar dan bolitas (pembengkakan) jaringan akibat infeksi bakteri *V. parahaemolyticus* R^f. Selain itu, terjadi atrofi atau kondisi penyusutan akibat hilangnya vakuola pada sel epitel tubulus

Tabel 5. Jumlah *Vibrio parahaemolyticus* R^{fr} pada udang vaname pascainfeksi dan pascapengobatan dengan ekstrak kulit bawang merah

Perlakuan	Pascainfeksi <i>Post-infection</i> (x10 ⁶ CFU mL ⁻¹)	Pascapengobatan <i>Post-treatment</i> (x10 ⁶ CFU mL ⁻¹)
K-	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a
K+	2,07 ± 0,06 ^b	3,62 ± 0,01 ^b
KBM6,25	2,47 ± 0,06 ^c	0,0006 ± 0,01 ^a
KBM12,5	2,37 ± 0,29 ^{ab}	0,0001 ± 0,56 ^a
KBM25	2,17 ± 0,25 ^{ab}	0,00 ± 0,00 ^a

Keterangan: Huruf *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata (P<0,05). K- = kontrol negatif; K+ = kontrol positif; KBM6,25 = pengobatan dengan ekstrak kulit bawang merah pada dosis 6,25%; KBM12,5 = dosis 12,5%; dan KBM25 = dosis 25%

Note: Different superscript letters in the same column indicate significantly different effects (P<0.05). K- = negative control; K+ = positive control; KBM6.25 = treatment with shallot peel extract at a dose of 6.25%; KBM12.5 = dose of 12.5%; and KBM25 = dose of 25%

hepatopankreas dan ditemukan vakuolisasi atau proses degenerasi vakuola.

Perlakuan KBM6,25 menunjukkan kondisi sel epitel tubulus hepatopankreas lengkap dengan vakuola yang mengelilingi lumen, vakuola berada dalam proses *recovery* dan pemulihan jaringan, namun masih ditemukan bolitas. Pada perlakuan KBM12,5 terlihat vakuola mengelilingi lumen, namun terjadi nekrosis sel. Hasil pengamatan pada perlakuan KBM25 menunjukan kondisi yang sama dengan perlakuan ekstrak kulit bawang merah lainnya, hanya saja dibedakan dengan adanya hiperemia. Kondisi hepatopankreas pada perlakuan KBM6,25; KBM12,5; dan KBM25 mengalami *recovery* hepatopankreas dan perbaikan kesehatan udang vaname.

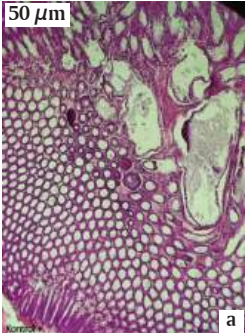
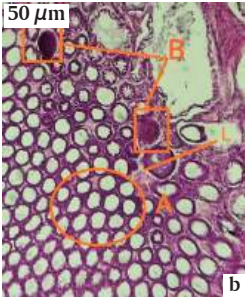
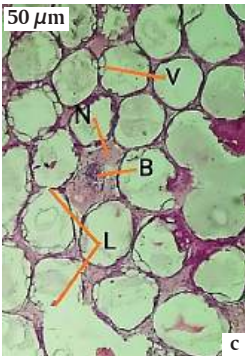
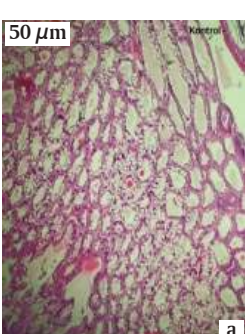
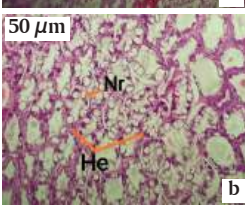
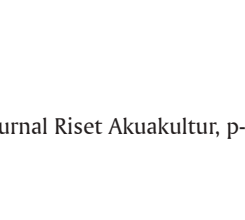
Pada pengamatan preparat histopatologi hepatopankreas ditemukan adanya bolitas atau koloni bakteri pada udang yang terinfeksi yang diduga merupakan koloni *V. parahaemolyticus* R^{fr}. Perlakuan kontrol positif (K+) mengalami peluruhan sel epitel yang mengakibatkan hilangnya struktur acinar pada tubulus hepatopankreas. Selain itu, terjadi vakuolisasi atau degenerasi vakuola akibat infeksi patogen. Kondisi yang sama juga ditemukan atrofi atau penyusutan hingga hilangnya vakuola pada sel epitel tubulus hepatopankreas. Hal ini

diperkuat oleh penelitian Annisa *et al.* (2015) yang melaporkan bahwa infeksi vibriosis menunjukkan adanya nekrosis, luruhnya struktur acinar, atrofi sel epitel, vakuolisasi, dan pengelupasan pada lumen. Hasil pengamatan histopatologi hepatopankreas setelah pengobatan menunjukkan adanya pemulihan jaringan seperti *recovery* lumen, epitel, dan vakuola. Hasil pengamatan pada perlakuan dosis 6,25%; 12,5%; dan 25% umumnya menunjukkan bahwa udang telah berada pada kondisi pemulihan jaringan dari patogenitas *V. parahaemolyticus* R^{fr}. Jaringan hepatopankreas pada dosis 6,25% lebih cepat mengalami pemulihan jika dibandingkan dengan dosis 12,5% dan 25%. Hal ini berkaitan dengan efektifitas dosis yang lebih tepat dalam proses pemulihan jaringan setelah dilakukan pengobatan.

Pengamatan menunjukkan kondisi tubulus hepatopankreas perlakuan dosis 12,5% dan 25% mengalami perbaikan jaringan dan pemulihan dari infeksi bakteri *V. parahaemolyticus* R^{fr}. Tubulus hepatopankreas pada dosis 6,25% masih ditemukan bolitas, meskipun demikian keberadaan bolitas tidak mengganggu proses *recovery* jaringan setelah dilakukan pengobatan. Hal ini diduga bahwa perendaman selama 10 menit dengan pengobatan

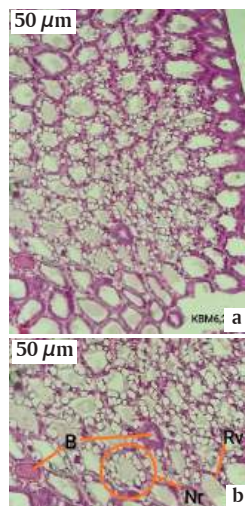
Tabel 6. Histopatologi udang vaname yang pascainfeksi *Vibrio parahaemolyticus* Rf^R dan pascapengobatan dengan ekstrak kulit bawang merah

Table 6. Histopathology of Pacific white shrimp in the post-infection period with *Vibrio parahaemolyticus* Rf^R and the post-treatment period with shallot peel extract

No	Perlakuan	Histopatologi hepatopankreas udang vaname	Keterangan
1	Kontrol +		
			B = Bolitas atau pembengkakan jaringan yang berbentuk seperti bola atau koloni diakibatkan oleh infeksi bakteri <i>V. parahaemolyticus</i> Rf ^R . L = Kehilangan struktur acinar menunjukkan adanya peluruhan lapisan epitel.
			A = Atrofi atau kondisi penyusutan atau hilangnya vakuola pada sel epitel tubulus hepatopankreas. Kondisi seperti ini menyebabkan udang kehilangan nafsu makan dan pada kondisi parah dapat menyebabkan kematian. V = Vakuolisasi adalah proses degenerasi vakuola akibat kondisi lingkungan maupun infeksi patogen yang menyebabkan menurunnya nafsu makan udang. Vakuolisasi terjadi mendekati 100%.
			
2	Kontrol -		Nr = Adanya lumen, kondisi sel epitel tubulus hepatopankreas lengkap dengan vakuola yang mengelilingi lumen, vakuola tidak terjadi kerusakan atau kehilangan sel, tidak ditemukan koloni bakteri. Sel blasenzellen mengandung vakuola.
			He = Terlihat tubulus dan sinus hemal (pembuluh) yang menunjukkan kondisi normal.

3

KBM6,25



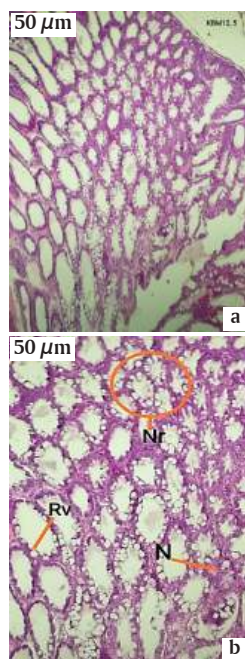
Nr = Adanya lumen, kondisi sel epitel tubulus hepatopankreas lengkap dengan vakuola yang mengelilingi lumen. Sel blasenzellen mengandung vakuola, terlihat tubulus dan sinus hemal (pembuluh) yang menunjukkan kondisi normal.

B = Masih ditemukan bolitas atau pembengkakan jaringan yang berbentuk seperti bola diakibatkan oleh infeksi bakteri *V. parahaemolyticus* Rf[®].

Rv = Proses *recovery* vakuola setelah terinfeksi patogen *V. parahaemolyticus* Rf[®]. Vakuola mulai kembali, mulai terlihat tubulus dan sinus hemal (pembuluh). Kondisi dalam pemulihan jaringan.

4

KBM12,5



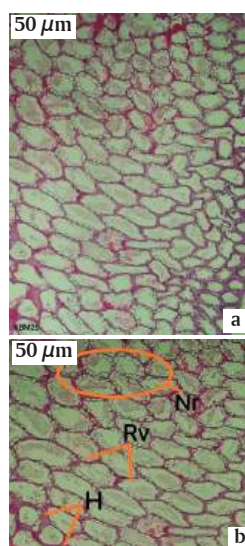
N = Nekrosis dikenal dengan kematian sel atau jaringan

Nr = Adanya lumen, kondisi sel epitel tubulus hepatopankreas lengkap dengan vakuola yang mengelilingi lumen. Sel blasenzellen mengandung vakuola, terlihat tubulus dan sinus hemal (pembuluh) yang menunjukkan kondisi hampir normal.

Rv = Proses *recovery* vakuola setelah terinfeksi patogen *V. parahaemolyticus* Rf[®]. Vakuola mulai kembali, mulai terlihat tubulus dan sinus hemal (pembuluh). Kondisi dalam pemulihan jaringan.

5

KBM25



Nr = Adanya lumen, kondisi sel epitel tubulus hepatopankreas lengkap dengan vakuola yang mengelilingi lumen. Sel blasenzellen mengandung vakuola, terlihat tubulus dan sinus hemal (pembuluh) yang menunjukkan kondisi hampir normal.

Rv = Proses *recovery* vakuola setelah terinfeksi patogen *V. parahaemolyticus* Rf[®]. Vakuola mulai kembali, mulai terlihat tubulus dan sinus hemal (pembuluh). Kondisi dalam pemulihan jaringan.

H = Hiperemia atau kondisi peningkatan volume pembuluh akibat bertambahnya aktivitas metabolisme.

Keterangan: a. Perbesaran 40x; b. Perbesaran 100x

menggunakan ekstrak kulit bawang merah pada dosis 6,25% mampu menyebabkan pemulihan jaringan yang rusak dan menekan keberadaan patogenitas bakteri hingga berada dalam batas aman konsentrasi *V. parahaemolyticus* R^f dalam tubuh udang vaname. Menurut Ridlo dan Pramesti (2009), senyawa aktif semacam flavonoid, saponin, tanin, dan sejenisnya akan menunjukkan aktivitasnya untuk bekerja pada organ target. Oleh karena itu dosis yang dibutuhkan adalah dosis yang dapat diserap oleh hemolim untuk disalurkan ke organ target dan bekerja secara efektif. Konsentrasi ekstrak kulit bawang yang tepat mampu menekan dan menghambat patogenitas bakteri. Hasil tersebut membuktikan senyawa aktif pada ekstrak kulit bawang merah berperan sebagai antibakteri. Hal ini dipengaruhi oleh pemberian dosis yang tepat ekstrak kulit bawang merah, sehingga membantu perbaikan jaringan dan pemulihan kesehatan udang vaname (Rosidah & Afizia, 2012).

Tingkat Kelangsungan Hidup

Nilai TKH udang vaname pada hari ke-14 pascapengobatan didapatkan bahwa perlakuan K- ($82,22 \pm 3,85\%$) berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan semua perlakuan. Nilai TKH perlakuan ekstrak kulit bawang merah didapatkan bahwa perlakuan KBM6,25 ($66,76 \pm 9,26\%$) menghasilkan nilai TKH tertinggi dibanding perlakuan ekstrak lainnya serta berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan K+ (Gambar 4).

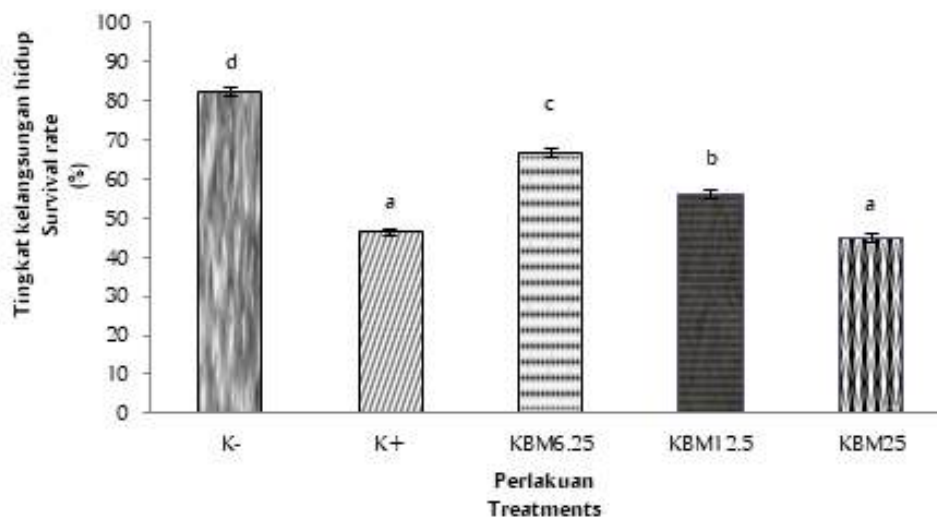
Pengamatan kelangsungan hidup udang vaname menunjukkan persentase tertinggi pada udang kontrol negatif yaitu $82,22 \pm 3,85\%$ diikuti perlakuan pemberian ekstrak kulit bawang merah 6,25% dan 12,5%. Hasil penelitian menyatakan bahwa semakin tinggi dosis ekstrak kulit bawang merah yang diberikan maka mortalitas pada udang vaname semakin meningkat. Kelangsungan hidup yang berbanding terbalik dengan tingginya pemberian dosis diduga adanya sifat

toksik dari ekstrak kulit bawang merah pada pemberian dosis yang tinggi. Semakin tinggi dosis diduga akan menghambat proses kinerja insang udang vaname. Menurut Sambodo *et al.* (2022), bahan obat yang larut dalam air dapat diserap dengan baik oleh insang, sehingga saat dosis yang diberikan terlalu tinggi maka akan menimbulkan sifat toksik dan mengganggu proses pernafasan serta metabolisme udang vaname. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dosis 25% adalah dosis yang terlalu tinggi untuk udang sehingga menimbulkan efek beracun dan menyebabkan kelangsungan hidup udang vaname menjadi lebih rendah daripada udang kontrol positif. Hal ini diperkuat dengan penelitian Andayani *et al.* (2017) yang melaporkan bahwa pemberian dosis yang terlalu tinggi dapat menghambat proses stimulasi imun karena antibodi tidak terbentuk dan tubuh udang tidak mampu menjalankan mekanisme respons seluler dan humoral.

Rasio Konversi Pakan

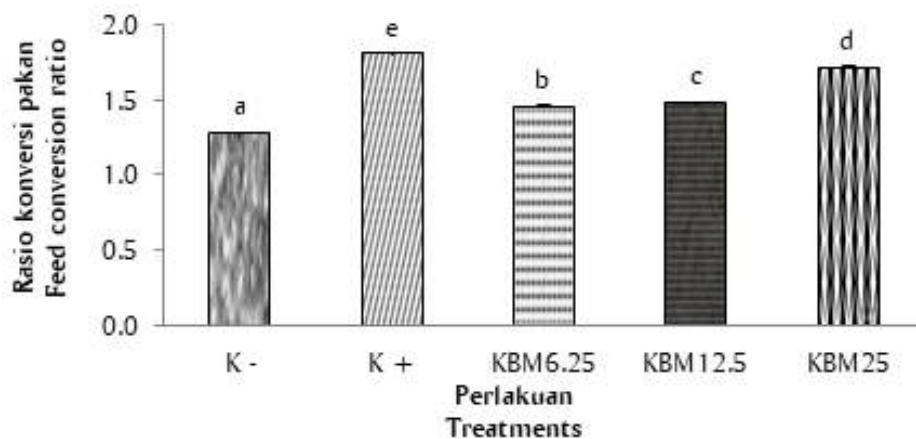
Nilai RKP menunjukkan bahwa nilai RKP terendah merupakan yang terbaik. Hasil penghitungan menunjukkan bahwa nilai RKP terendah dihasilkan oleh perlakuan KBM6,25 ($1,45 \pm 0,01$), sedangkan nilai RKP yang dihasilkan pada perlakuan K+ yaitu $1,81 \pm 0,01$ dan berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan perlakuan lainnya (Gambar 5).

Nilai RKP pada pemberian ekstrak kulit bawang merah 6,25% menghasilkan nilai RKP terbaik dibanding kontrol dan perlakuan lainnya. Semakin kecil nilai RKP menunjukkan tingkat efisiensi pemanfaatan pakan yang lebih baik, dan sebaliknya nilai RKP yang semakin tinggi maka tingkat efisiensi pemanfaatan pakan kurang baik (Iskandar & Elrifadah, 2015). Penelitian ini memperoleh hasil bahwa semakin tinggi dosis obat maka nilai RKP semakin besar. Udang vaname yang diberi obat dengan dosis yang tinggi diduga memerlukan adaptasi cukup lama dalam mencerna, sehingga pemanfaatan dan penyerapan nutrisi pakan akan semakin menurun.



Gambar 4. Tingkat kelangsungan hidup udang vaname hari ke-14 pascapengobatan dengan ekstrak kulit bawang merah. Huruf *superscript* yang berbeda di atas batang menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata ($P < 0,05$). K- = kontrol negatif; K+ = kontrol positif; KBM6,25 = pengobatan dengan ekstrak kulit bawang merah pada dosis 6,25%; KBM12,5 = dosis 12,5%; dan KBM25 = dosis 25%

Figure 4. Survival rate of Pacific white shrimp on the 14th day post-treatment with shallot peel extract. Different superscript letters above the bars indicate significantly different effects ($P < 0.05$). K- = negative control; K+ = positive control; KBM6.25 = treatment with shallot peel extract at a dose of 6.25%; KBM12.5 = dose of 12.5%; and KBM25 = dose of 25%



Gambar 5. Rasio konversi pakan udang vaname pada hari ke-14 pascapengobatan dengan ekstrak kulit bawang merah. Huruf *superscript* yang berbeda di atas batang menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata ($P < 0,05$). K- = kontrol negatif; K+ = kontrol positif; KBM6,25 = pengobatan dengan ekstrak kulit bawang merah pada dosis 6,25%; KBM12,5 = dosis 12,5%; dan KBM25 = dosis 25%

Figure 5. Feed conversion ratio of Pacific white shrimp on the 14th day post-treatment with shallot peel extract. Different superscript letters above the bars indicate significantly different effects ($P < 0.05$). K- = negative control; K+ = positive control; KBM6.25 = treatment with shallot peel extract at a dose of 6.25%; KBM12.5 = dose of 12.5%; and KBM25 = dose of 25%

KESIMPULAN

Pengobatan penyakit yang disebabkan oleh infeksi *V. parahaemolyticus* R⁺ dapat menggunakan ekstrak kulit bawang merah dosis 6,25%. Aplikasi ekstrak kulit bawang merah perlu diuji lebih lanjut menggunakan komoditas selain udang vaname dengan penelitian lanjut terkait dosis yang lebih efektif, pengobatan pada jenis patogen lain, penelitian lanjut aplikasi skala lapang, penelitian terkait metode pengobatan lainnya, dan penelitian terkait upaya pencegahan patogenitas *V. parahaemolyticus*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada SEAFast IPB yang telah memberikan izin menggunakan fasilitas untuk ekstraksi kulit bawang merah. Ucapan terima kasih kepada Laboratorium Manajemen Kesehatan Hewan Akuatik dan Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau Jepara yang telah memberikan izin menggunakan fasilitas laboratorium untuk pemeliharaan hewan uji dan pengujian ekstrak kulit bawang merah.

PEMBIAYAAN

Kami menyatakan bahwa penelitian ini dibiayai dengan dana pribadi.

KONTRIBUSI PENULIS

DW: konseptualisasi, metodologi, supervisi, validasi, analisis data, penulisan draf publikasi. RAP: konseptualisasi, metodologi, investigasi, analisis data, penulisan tinjauan, pengeditan. W: konseptualisasi, metodologi, supervisi, analisis data, validasi, penulisan draf publikasi. DER: konseptualisasi, metodologi, analisis data, penulisan draf publikasi.

PERNYATAAN KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan bahwa tidak terdapat konflik kepentingan yang bersifat finansial maupun pribadi pada pelaksanaan penelitian maupun penulisan artikel ini.

DAFTAR ACUAN

- Andayani, S., Suprastyani, H., Gumala, G. D. A., Oktafa, U., Fatikah, N. M., Wahyudi, M., Farida, A., & Pratama, R. (2017). Pengaruh pemberian bakteri *Lactobacillus plantarum* terhadap histopatologi dan hematologi ikan patin jambal (*Pangasius djambal*) yang diinfeksi bakteri *Edwardsiella tarda*. *Journal of Fisheries and Marine Science*, 1(4), 31–38. <https://dx.doi.org/10.21776/ub.jfmr.2017.001.01.6>
- Anderson, D. P., & Siwicki, A. K. (1995). Basic haematology and serology for fish health programs. In M. Shariff, J.R. Arthur, & J.P. Subasinghe (Eds.), *Disease in Asian aquaculture* (pp. 185–202). Fish Health Section, Asian Fisheries Society.
- Ahmed, J., Khan, M. H., & Unnikrishnan, S. (2021). Acute hepatopancreas necrosis disease (AHPND) as a challenging threat in shrimp. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 12(1), 978–991. <https://doi.org/10.33263/BRIAC121.978991>
- Annisa, N., Sarjito, & Prayitno, S. B. (2015). Pengaruh perendaman ekstrak daun sirih (*Piper betle*) dengan konsentrasi yang berbeda terhadap gejala klinis, kelulushidupan, histologi, dan pertumbuhan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang diinfeksi *Vibrio harveyi*. *Journal of Aquaculture Management and Technology*, 4(3), 54–60.
- Badan Standardisasi Nasional. (2014). *SNI 8008:2014. Produksi udang vaname (Litopenaeus vannamei Boone, 1931) intensif di tambak lining*. Badan Standardisasi Nasional.
- Badan Standardisasi Nasional. (2014). *SNI 8037.1:2014. Udang vaname (Litopenaeus vannamei Boone, 1931) bagian: Produksi induk model indoor*. Badan Standardisasi Nasional.
- Battistella, S. P., Bonivento, G. A., & Amirante. (2009). Hemocytes and immunological reactions in crustaceans. *Italian Journal of Zoology*, 11(3), 1748–5851. <http://dx.doi.org>

org/10.15578/jkn.v9i2.6207

org/10.21107/jk.v11i2.3980

- Blaxhall, P. C., & Daisley, K. W. (1973). Routine haematological methods for use with fish blood. *Journal of Fish Biology*, 5(1), 577–581. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1095-8649.1973.tb04510.x>
- Braak, C. B. T. V. D., Taverne, N., Botterblom, Knaap, W. P. W. V. D., & Rombout, J. H. W. M. (2000). Characterisation of different morphological features of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) haemocytes using monoclonal antibodies. *Fish & Shellfish Immunology*, 10(6), 515–530. <https://doi.org/10.1006/fsim.2000.0269>
- Darwantin, K., Sidik, R., & Mahasari, G. (2016). Efisiensi penggunaan imunostimulan dalam pakan terhadap laju pertumbuhan, respon imun, dan kelulushidupan udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*). *Journal Biosains*, 18(2), 1–18. <https://dx.doi.org/10.20473/jbp.v18i2.2016.123-139>
- Defoirdt, T., Boon, N., Bossier, P., & Verstraete, W. (2004). Disruption of bacterial quorum sensing: An unexplored strategy to fight infections in aquaculture. *Aquaculture*, 240, 69–88. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.06.031>
- Grashorn, M. A. (2010). Use of phytobiotics in broiler nutrition: An alternative to in-feed antibiotics. *Journal of Animal and Feed Science*, 19, 338–347. <https://doi.org/10.22358/jafs/66297/2010>
- Huisman, E. A. (1987). *Principle of fish production*. Wageningen Agriculture University.
- Iskandar, R., & Elrifadah. (2015). Pertumbuhan dan efisiensi pakan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diberi pakan buatan berbasis kiambang. *Jurnal Zira'ah*, 40(1), 18–24. <http://dx.doi.org/10.31602/zmip.v40i1.93>
- Jannah, M., Junaidi, M., Setyowati, D. N., & Azhar, F. (2018). Pengaruh pemberian *Lactobacillus* sp. dengan dosis yang berbeda terhadap sistem imun udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang diinfeksi bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal Kelautan*, 11(2), 140–150. <http://doi.org/10.21107/jk.v11i2.3980>
- Johansson, M. W., Keyser, P., Sritunyalucksana, K., & Söderhäll, K. (2000). Crustacean haemosytes and haematopoiesis. *Aquaculture*, 19(1), 45–92. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(00\)00418-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00418-X)
- Jory, D. (2024). *Annual farmed shrimp production survey: A slight decrease in production reduction in 2023 with hopes for renewed growth in 2024*. Global Seafood Alliance. <https://www.globalseafood.org/>
- Junaidi, M., Azhar, F., Setyono, B. D. H., & Waspodo, S. (2020). Pengaruh pemberian ekstrak daun mangrove *Rhizophora apiculata* terhadap performa pertumbuhan udang vaname. *Buletin Veteriner Udayana*, 12(2), 198–204. <https://10.24843/bulvet.2020.v12.i02.p15>
- Khasani, I., Wahjuningrum, D., & Evan, Y. (2010). Uji ketahanan larva udang galah dari beberapa sumber populasi terhadap bakteri *Vibrio harveyi*. *Jurnal Riset Akuakultur*, 5(3), 411–424. <http://dx.doi.org/10.15578/jra.5.3.2010.411-424>
- Kumar, R., Ng, T. H., & Wang, H. C. (2020). Acute hepatopancreatic necrosis disease in penaeid shrimp. *Reviews in Aquaculture*, 12(3), 1867–1880. <https://doi.org/10.1111/raq.12414>
- Kurniawan, A. P., Suminto, & Haditomo, A. H. C. (2019). Pengaruh penambahan bakteri kandidat probiotik *Bacillus methylotrophicus* pada pakan buatan terhadap profil darah dan performa pertumbuhan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diuji tantang dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Sains Akuakultur Tropis*, 3(1), 82–92. <https://doi.org/10.14710/sat.v3i1.3956>
- Kurniawan, M. H., Berta, P., & Elisdiana, Y. (2018). Efektivitas pemberian bakteri *Bacillus polymyxa* melalui pakan terhadap imunitas non-spesifik udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*, 7(1), 739–749. <http://dx.doi.org/10.23960/jrtbp.v7i1.p739-750>
- Lightner, D. V., & Redman, R. (1977). Histochemical demonstration of melanin

- in cellular inflammatory processes of penaeid shrimp. *Journal of Invertebrate Pathology*, 30(1), 298–302. [https://doi.org/10.1016/0022-2011\(77\)90137-9](https://doi.org/10.1016/0022-2011(77)90137-9)
- Marentek, G. A., & Manoppo, H. (2013). Evaluation of the use of garlic (*Allium sativum*) in enhancing non-specific immune response and growth of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Budidaya Perairan*, 1, 1–7. <https://doi.org/10.35800/bdp.1.1.2013.719>
- Octaviani, M., Fadhli, H., & Yuneistya, E. (2019). Uji aktivitas antimikroba ekstrak etanol dari kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) dengan metode difusi cakram. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 6(1), 62–68. <https://doi.org/10.7454/psr.v6i1.4333>
- Oktaviani, E., Harpeni, E., & Wardiyanto. (2019). Fitofarmaka daun sambung nyawa (*Gynura procumbens*) untuk meningkatkan imunitas ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus* Forsskal 1775) terhadap serangan bakteri *Vibrio alginolyticus*. *Jurnal Kelautan*, 12(1), 52–64. <http://doi.org/10.21107/jk.v12i1.4997>
- Owens, L., & O'Neill, A. (1997). Use of clinical cell flow cytometry for differential counts of prawn (*Penaeus monodon*) haemocytes. *Diseases of Aquatic Organisms*, 31(3), 147–153.
- Palawi, I. M. H., Satyantini, W. H., & Sudarno. (2019). Uji patogenitas bakteri *Pseudomonas* sp. pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) sebagai kandidat probiotik. *Journal of Aquaculture and Fish Health*, 8(2), 92–98. <http://dx.doi.org/10.20473/jafh.v8i2.13380>
- Ramadhani, D. E., Widanarni, & Sukenda. (2019). Microencapsulation of probiotics and its applications with prebiotic in Pacific white shrimp larvae through *Artemia* sp. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 18(2), 130–140. <https://10.19027/jai.18.2.130-140>
- Reed, L. J., & Muench, H. A. (1938). A simple method of estimating fifty percent endpoints. *American Journal of Epidemiology*, 27(1), 493–497. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a118408>
- Ridlo, A., & Pramesti, R. (2009). Aplikasi ekstrak rumput laut sebagai agen imunostimulan sistem pertahanan non-spesifik pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Ilmu Kelautan*, 14(3), 133–137. <https://doi.org/10.14710/ik.ijms.14.3.133-137>
- Rohmin, M. F. T., Mahasri, G., & Rantam, F. A. (2017). Response analysis of urban vaname (*Litopenaeus vannamei*) which is exposed to crude protein *Zoothonium penaei* oral and maintained in ponds. *Jurnal Biosains Pascasarjana*, 19(2), 143–157. <https://dx.doi.org/10.20473/jbp.v19i2.2017.143-157>
- Rosidah, & Afizia, W. M. (2012). Potensi ekstrak daun jambu biji sebagai antibakteria untuk menanggulangi serangan bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan gurame (*Osphronemus gouramy* Lacepède). *Jurnal Akuatika*, 3(1), 19–27.
- Sahoo, P. K., Das, A., Mohanty, B. K., Pillai, B. R., & Mohanty, J. (2008). Dietary β -1,3 glucan improves the immunity and disease resistance of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* challenged with *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture Research*, 39, 1574–1578. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.02024.x>
- Salinas, I., Fernandez-Montero, A., Ding, Y., & Sunyer, J. O. (2021). Mucosal immunoglobulins of teleost fish: A decade of advances. *Developmental & Comparative Immunology*, 121, 104079. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2021.104079>
- Sambodo, D. W., Marsel, F., Sambodo, H. P., & Arlesia, N. (2022). Pengaruh perbedaan metode ekstraksi daun jati (*Tectona grandis* L.f) terhadap aktivitas antibakteri pada *Escherichia coli*. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 4(2), 4135–4159.
- Saputra, Y. A., Mangisah, I., & Sukamto, B. (2015). Pengaruh penambahan tepung kulit bawang terhadap pencernaan protein kasar pakan, pertambahan bobot badan, dan persentase karkas itik Mojosari. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 26(1), 29–36. <https://dx.doi.org/10.21776/ub.jiip.2016.026.01.5>
- Sarjito, Ningrum, N. E. W., Radjasa, O. K.,

- & Prayitno, S. B. (2012). Application of repetitive sequence-based PCR on the richness of *Vibrio* on the tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fab.). *Journal of Coastal Development*, 15(3), 303–309.
- Setiani, L. A., Sari, B. L., Indriani, L., & Jupersio. (2017). Penentuan kadar flavonoid ekstrak etanol 70% kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) dengan metode maserasi dan MAE (Microwave-Assisted Extraction). *Jurnal Fitofarmaka*, 7(2), 15–22. <https://doi.org/10.33751/jf.v7i2.772>
- Sofihidayati, T., Sulistiyono, F. D., & Sari, B. L. (2018). Penetapan kadar flavonoid dan aktivitas antimikroba ekstrak etanol kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Fitofarmaka Jurnal Ilmiah Farmasi*, 8(2), 1–6. <https://doi.org/10.33751/jf.v8i2.1573>
- Tiwari, P., Kumar, B., Mandeep, K., Kaur, G., & Kaur, H. (2011). Phytochemical screening and extraction: A review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1(1), 98–106.
- Tran, L., Nunan, L., Redman, R. M., Mohny, L., Pantoja, C. R., Fitzsimmons, K., & Lightner, D. V. (2013). Determination of the infectious nature of the agent of acute hepatopancreatic necrosis syndrome affecting penaeid shrimp. *Diseases of Aquatic Organisms*, 105, 45–55. <http://dx.doi.org/10.3354/dao02621>
- Tyas, D. E., Widyorini, N., & Solichin, A. (2018). Perbedaan jumlah bakteri dalam sedimen pada kawasan bermangrove dan tidak bermangrove di perairan Desa Bedono, Demak. *Journal of Maquares*, 7(2), 189–196.
- Vinoj, G., Vaseeharan, B., Thomas, S., Spiers, A. J., & Shanthi, S. (2014). Quorum-quenching activity of the AHL-lactonase from *Bacillus licheniformis* DAHB1 inhibits *Vibrio* biofilm formation *in vitro* and reduces shrimp intestinal colonization and mortality. *Marine Biotechnology*, 16(6), 707–715. <https://doi.org/10.1007/s10126-014-9585-9>
- Wang, S., Zhang, Z., Malakar, P. K., Pan, Y., & Zhao, Y. (2019). The fate of bacteria in human digestive fluids: A new perspective into the pathogenesis of *Vibrio parahaemolyticus*. *Original Research*, 1(10), 1–10. <https://doi.org/10.14710/marj.v7i2.22541>
- Widanarni, Sukenda, & Setiawati, M. (2008). Bakteri probiotik dalam budidaya udang: Seleksi, mekanisme aksi, karakterisasi, dan aplikasinya sebagai agen biokontrol. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 13(2), 80–89.
- Widyastuti, E., Rusmana, I., & Yuhana, M. (2021). Skrining dan identifikasi bakteri anti-quorum sensing asal tambak udang vaname penghambat virulensi *Vibrio parahaemolyticus*. *Jurnal Riset Akuakultur*, 16(1), 61–69. <http://dx.doi.org/10.15578/jra.16.1.2021.61-69>
- Windisch, W., Schedle, K., Plitzner, C., & Kroismayr, A. (2008). Use of phytochemical products as feed additives for swine and poultry. *Journal of Animal Science*, 86(14), 140–148. <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0459>
- Wu, L., Li, L., Gao, A., Ye, J., & Li, J. (2024). Antimicrobial roles of phagocytosis in teleost fish: Phagocytic B cells vs. professional phagocytes. *Aquaculture and Fisheries*, 9(2), 105–114. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2021.12.008>
- Yani, E. D., Ridhwan, M., Husna, M., Masyudi, & Rafsanjani. (2022). Potensi daun bawang merah (*Allium cepa* L.) sebagai larvasida alami untuk membunuh jentik nyamuk *Aedes aegypti*. *Serambi Journal of Agricultural Technology (SJAT)*, 4(2), 84–90. <https://doi.org/10.32672/sjat.v4i2.5168>
- Yunarty, Anton, & Kurniaji, A. (2020). Uji tantang udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) dengan bakteri *Vibrio harveyi* yang dipelihara bersama rumput laut (*Gracilaria verrucosa*). *Jurnal Salamata*, 2(1), 36–41. <https://doi.org/10.15578/SALAMATA.V2I1.11254>
- Zhang, X. H., He, X., & Austin, B. (2020). *Vibrio harveyi*: A serious pathogen of fish and invertebrates in mariculture. *Marine Life Science & Technology*, 2(2), 231–245. <https://doi.org/10.1007/s42995-020-00037-z>
- Zonneveld, N., Huissman, E. A., & Boon, J. H. (1991). *Prinsip-prinsip budidaya ikan*. Gramedia Pustaka Umum.