

Uji Tantang Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) Dengan Bakteri *Vibrio harveyi* yang Dipelihara Bersama Rumput Laut (*Gracilaria verrucosa*)

Challenge Test of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) to *Vibrio harveyi* Maintained with Seaweed *Gracilaria verrucosa*

Yunarty, Anton, Ardana Kurniaji*

Program Studi Teknik Budidaya Perikanan, Politeknik Kelautan dan Perikanan Bone
*email: ardana.kji@gmail.com

ABSTRAK

Intensifikasi teknologi budidaya udang vaname memicu timbulnya berbagai jenis penyakit. Salah satu jenis penyakit yang sering ditemukan adalah vibriosis yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio harveyi*. Polikultur udang vaname dan rumput laut (*G. verrucosa*) diketahui memiliki potensi dalam meningkatkan kelangsungan hidup dan pertumbuhan udang vaname. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis hasil uji tantang udang vaname dengan bakteri *V. harveyi* yang dipelihara bersama rumput laut (*G. verrucosa*). Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan 3 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan penelitian yakni penggunaan rumput laut dengan jumlah berbeda 400 gram/100 l air (P4), 800 g/100 l air (P8) dan kontrol (K) atau tanpa pemberian rumput laut. Variabel yang diamati berupa laju kematian udang vaname selama 10 hari uji tantang dan *relative percent survival* (RPS). Injeksi bakteri dilakukan pada segmen ketiga abdomen udang dengan konsentrasi bakteri 10⁶CFU/mL. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kematian udang yang dipelihara tanpa rumput laut terjadi lebih awal dibandingkan dengan udang yang dipelihara dengan rumput laut yakni hari ke-4 dan hari ke-6 pasca infeksi. Kematian udang pada kontrol terus terjadi hingga hari ke-9, sedangkan kematian udang pada P8 hanya terjadi hingga hari ke-8 pasca infeksi. RPS pada semua perlakuan tidak berbeda signifikan yakni P4 adalah 33.3% dan P8 adalah 41.7%. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa polikultur rumput laut (*G. verrucosa*) dan udang vaname berpotensi dalam proteksi udang vaname terhadap infeksi bakteri *V. harveyi*.

KATA KUNCI: Potensi proteksi, rumput laut, udang vaname, *Vibrio harveyi*

ABSTRACT

The intensification of vaname shrimp farming technology has triggered various types of diseases. One type of disease that often found is vibriosis caused by *Vibrio harveyi* bacteria. Vaname shrimp and seaweed (*G. verrucosa*) polyculture is known has potential in increasing the survival and growth of vaname shrimp. This study aimed to analyze the results of challenge test vaname shrimp with *V. harveyi* bacteria that were kept in seaweed (*G. verrucosa*). This research was conducted with complete random design by 3 treatments and 3 repetitions. Treatments were using seaweed by different amounts of 400 gram/100 l water (P4), 800 grams/100 liter of water (P8) and control (K) or without the administration of seaweed. The observed variables were the mortality rate of vaname shrimp during 10 days challenge test and relative percent survival (RPS). Bacterial injection was done on the third segment of shrimp abdomen with concentration of 10⁶CFU/mL. Results of this study was showed that the mortality of shrimp kept without seaweed occurred earlier than shrimp kept in seaweed 4th day and the 6th day after infection. Shrimp deaths in control continued until 9th day, while shrimp deaths in P8 only occurred until 8th day after infection. RPS in all treatments were not significantly different. Treatment P4 was 33.3% and P8 was 41.7%. The results of this study was indicated that polyculture of seaweed (*G. verrucosa*) and vaname shrimp has potential to protect the shrimp to *V. harveyi* bacterial infection.

KEYWORDS: Protection potential, seaweed, vaname shrimp, *Vibrio harveyi*

PENDAHULUAN

Udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) merupakan komoditas perikanan yang bernilai ekonomis penting. Kebutuhan akan suplai udang vaname sampai saat ini masih tinggi diberbagai negara. Permintaan udang dunia pada tahun 2013 mencapai 4.18 juta ton namun baru tercukupi sampai dengan 3.08 juta ton (Katili et al., 2017). Selain itu permintaan pasar domestik juga meningkat 7.3% tahun 2013 (KKP, 2014). Hal ini menunjukkan bahwa kebutuhan akan pasar udang vaname masih

terbuka luas. Berbagai teknologi pada kegiatan budidaya udang vaname terus dikembangkan mulai dari ekstensif sampai dengan super intensif. Budidaya udang dengan super intensif menjadi pilihan teknologi dimasa mendatang dengan konsep *low volume high density*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa teknologi super intensif dengan kepadatan 1.000 ekor/m³ telah berhasil dilakukan dengan kelangsungan hidup hingga 80% (Suwoyo, 2018; Syah et al., 2017). Intensifikasi budidaya udang di tambak ditujukan untuk meningkatkan produktivitas

dalam memenuhi permintaan pasar. Hanya saja aktivitas budidaya intensif dengan kepadatan tinggi yang tidak dilakukan dengan tepat justru memicu timbulnya penyakit. Serangan penyakit bisa terjadi karena interaksi yang tidak seimbang antara inang, patogen dan lingkungan (Irianto, 2005).

Salah satu penyakit yang paling sering dijumpai oleh pembudidaya udang ialah penyakit vibriosis. Penyakit ini disebabkan oleh bakteri berpendar yang berasal dari genus *vibrio* (Austin & Austin 2007). Vibriosis diketahui sejak lama menyebabkan kerugian pada kegiatan budidaya udang windu dan vaname diseluruh dunia (Lightner dan Lewis, 1975; Adams, 1991; Chen *et al.*, 2000). Spesies bakteri yang umumnya dijumpai pada penyakit vibriosis adalah *Vibrio harveyi* (Austin & Zhang, 2006). Bakteri ini termasuk bakteri gram negatif berbentuk batang (Ramesh *et al.*, 2014) dan dapat berkembang dengan cepat dalam waktu 24 jam (Kurniaji *et al.*, 2019). Udang yang terinfeksi bakteri *V. harveyi* menunjukkan gejala berupa nafsu makan berkurang, berenang miring, bergerak mendekati gelembung udara, kemerahan pada kaki renang dan uropod serta terjadi nekrosis dan melanisasi pada segmen tubuh (Utami *et al.*, 2016). Berbagai upaya telah dilakukan untuk mencegah timbulnya penyakit vibriosis. Namun penggunaan antibiotic dan senyawa kimia telah dibatasi karena menyebabkan residu di perairan. Beberapa hasil penelitian dengan bahan herbal dapat mencegah pertumbuhan bakteri *V. harveyi* seperti ekstrak bawang (Munaeni *et al.*, 2017), mangrove (Kurniaji *et al.*, 2019) dan rumput laut (Rudi *et al.*, 2019).

Rumput laut (*Gracilaria verrucosa*) diketahui memiliki kandungan senyawa bioaktif yang bersifat antibakterial dan dapat menstimulus sistem imun udang (Bansemir *et al.*, 2006). Budidaya rumput laut telah lama dilakukan dengan berbagai metode diantaranya adalah metode apung, lepas dasar dan tebar/budidaya dasar (Aslan, 2003; Istiqomawati & Kusdarwati, 2010; Novyandi *et al.*, 2011). Beberapa pembudidaya juga telah memelihara rumput laut secara polikultur dengan udang vaname. Hasil budidaya polikultur udang vaname dan rumput laut (*G. verrucosa*) selain dapat meningkatkan produktivitas lahan dengan memanen dua komoditas berbeda, juga dapat meningkatkan pertumbuhan udang (Hendrajat *et al.*, 2010; Suwoyo, 2018). Faktor terpenting yang menyebabkan udang dapat tumbuh dengan baik pada polikultur rumput laut karena lingkungan yang mendukung (Putri & Susilowati, 2013). Rumput laut dapat berperan sebagai biofilter untuk menyerap senyawa amoniak di perairan dan sekaligus dapat menstimulus pertumbuhan

klekap sebagai pakan alami. Keberadaan rumput laut dalam tambak dapat mendegradasi bahan organik untuk pertumbuhan sehingga mengurangi resiko peningkatan bahan organik di perairan. Selain itu rumput laut juga dapat mencegah bertumbuhan bakteri dan berbagai pathogen lain yang menyerang udang (Rahmaningsih, 2012). Kombinasi dari kedua organisme ini belum banyak diterapkan pada kegiatan budidaya skala super intensif. Padahal potensi timbulnya penyakit cukup tinggi terjadi pada kegiatan budidaya yang semakin intensif. Berdasarkan hal tersebut maka tujuan dari penelitian ini untuk menganalisis hasil uji tantang udang vaname dengan bakteri *V. harveyi* yang dipelihara dengan rumput laut (*G. verrucosa*).

BAHAN DAN METODE

Rancangan Penelitian

Desain penelitian menggunakan rancangan acak lengkap 3 perlakuan dan 3 ulangan. Perbedaan perlakuan terletak pada jumlah rumput laut yang digunakan yakni 800 g (P8), 400 g (P4) dan tanpa rumput laut atau kontrol (K). Rumput laut dipelihara selama 5 hari dalam akuarium 70x50x50 cm steril berisi air laut. Selanjutnya udang dimasukkan 10 ekor/akuarium dan dipelihara selama 5 hari. Penentuan 10 ekor/akuarium didasarkan pada kepadatan budidaya udang yang umum dilakukan pembudidaya yakni 100 ekor/m³ (Suwoyo 2018). Setelah 5 hari pemeliharaan udang dan rumput laut, kemudian dilakukan uji tantang selama 10 hari.

Persiapan Organisme Uji

Udang vaname (*L. vannamei*) dengan berat 8.87±0.55 g diperoleh dari tambak Politeknik Kelautan dan Perikanan Bone yang benihnya berasal dari Central Proteina Prima. Adapun rumput laut (*G. verrucosa*) diperoleh dari pembudidaya lokal dan telah dibersihkan dari lumpur serta organisme yang menempel. Adapun bakteri *V. harveyi* diperoleh dari Laboratorium Uji Kesehatan Ikan dan Lingkungan, Balai Perikanan Budidaya Air Payau Takalar, Sulawesi Selatan.

Kultur Bakteri *Vibrio harveyi*

Metode kultur bakteri mengacu pada metode Kurniaji *et al.* (2019) dengan modifikasi metode yakni mengambil sebanyak 100 µL bakteri stok dikultur pada media TCBS (*Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose*) selama 24 jam dengan suhu 30°C. Bakteri kemudian ditransfer ke media TSB (*Triptic Soy Broth*) yang telah ditambahkan 0.9% NaCl dan dikultur selama 24 jam. Perhitungan jumlah sel bakteri dilakukan dibawah mikroskop dengan bantuan *Counting Chamber*.

Konsentrasi bakteri diatur dengan melakukan pengenceran menggunakan 0.9% NaCl pada erlenmeyer sehingga diperoleh 10^6 CFU/mL. Larutan bakteri ini digunakan untuk uji tantang.

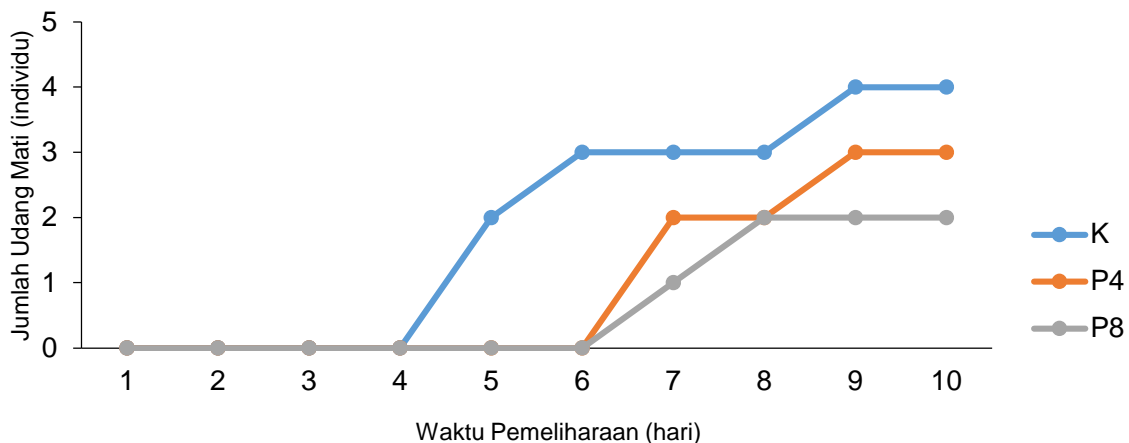
Uji Tantang

Metode uji tantang megacu pada Rudi *et al.* (2019) pada udang yang telah dipelihara dengan rumput laut selama 5 hari. Sebanyak 0.2 mL larutan bakteri *V. harveyi* konsentrasi 10^6 CFU/mL diinjeksikan menggunakan *syringe* pada segmen ketiga abdomen udang. Udang yang telah diinjeksi bakteri selanjutnya dipelihara dengan rumput laut sesuai perlakuan selama 10 hari. Udang diberikan pakan

HASIL DAN PEMBAHASAN

Laju Kematian

Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan laju kematian udang vaname yang dipelihara dengan rumput laut dan tanpa rumput laut selama uji tantang bakteri *V. harveyi*. Kematian udang yang dipelihara dengan rumput laut (*G. verrucosa*) terjadi lebih lambat jika dibandingkan dengan udang yang dipelihara tanpa rumput laut (*G. verrucosa*). Kematian udang pada kontrol terjadi pada hari ke-4 setelah infeksi bakteri *V. harveyi* sedangkan pada P4 dan P8 kematian terjadi hari ke-6. Menurut Rudi *et al.* (2019) bahwa kematian



Gambar 1. Laju kematian udang vaname selama uji tantang

komersial dengan protein 30% secara satiasi 3 kali sehari. Kualitas air dipertahankan agar tetap sesuai dengan batas toleransi udang.

Variabel yang Diamati

Selama uji tantang dilakukan pengamatan laju kematian dan perhitungan *relative percent survival* (RPS) dengan rumus (Ellis, 1992):

$$R (\%) = 1 - \frac{\% \text{ Mortalitas Perlakuan}}{\% \text{ Mortalitas Kontrol}} \times 100$$

Analisis Data

Data dianalisis menggunakan metode analisis ragam ANOVA (*analysis of variance*) pada selang kepercayaan 95% melalui aplikasi *Statistical Program Software System* (SPSS Versi 16.0). Analisis digunakan pada parameter *relative percent survival* (RPS), apabila terdapat perbedaan signifikan antara perlakuan maka dilanjutkan dengan uji Duncan. Adapun parameter laju kematian dianalisis secara deskriptif.

udang vaname pasca uji tantang dengan bakteri *V. harveyi* mulai teramati pada hari ke-1 dan terus mengalami peningkatan sampai dengan hari ke-14. Kelangsungan hidup udang yang terinfeksi bakteri *V. harveyi* dapat mencapai 46.7% (Jasmanindar *et al.*, 2018). Bakteri *V. harveyi* diketahui sebagai patogen pada organisme payau dan laut termasuk diantaranya adalah udang vaname (Austin & Austin, 2007). Virulensi bakteri *V. harveyi* dibentuk dari *extraceluler product* yang mengandung caseinase, gelatinase, phospholipase, lipase dan hemolisin (Zhang & Austin, 2000).

Perbedaan awal terjadinya kematian pada udang yang dipelihara dengan rumput laut dan tanpa rumput laut diduga berkorelasi dengan keberadaan rumput laut pada media pemeliharaan baik secara langsung maupun tidak langsung. Adanya rumput laut (*G. verrucosa*) dapat menjadi biofilter untuk menyerap senyawa toksik dan mencegah timbulnya stress pada udang. Rahmaningsih (2012) menyatakan bahwa timbulnya penyakit dalam sistem budidaya merupakan akibat dari interaksi kompleks antara inang, patogen dan lingkungan. Kepadatan tinggi pada budidaya

udang secara intensif seringkali menyebabkan kualitas air menurun dan memicu timbulnya stress sehingga inang mudah terserang penyakit. Pemanfaatan rumput laut dalam budidaya udang vaname secara intensif dapat memperbaiki kualitas air dan mencegah timbulnya penyakit karena rumput laut berperan sebagai biofilter.

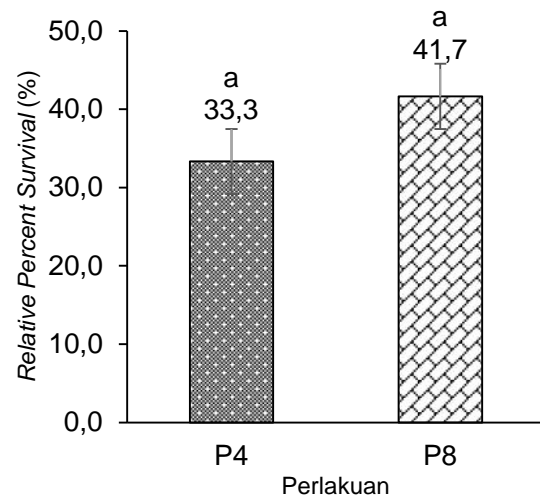
Selain itu, rumput laut juga memiliki kandungan senyawa antibakterial yang dapat berperan sebagai bakterisidal (Maftuch *et al.*, 2016). Berdasarkan hasil pengujian fitokimia pada ekstrak rumput laut (*G. verrucosa*) diketahui adanya kandungan senyawa bioaktif antibakterial berupa senyawa alkaloid, flavonoid dan steroid yang dapat mencegah infeksi bakteri *V. harveyi* dan WSSV pada udang vaname (Rudi *et al.*, 2019; Jasmanindar *et al.*, 2018; Zahra *et al.*, 2017; Sirirustananum *et al.*, 2011). Kematian udang pada kontrol terus terjadi hingga hari ke-9 uji tantang sama halnya dengan udang pada P4, sedangkan kematian udang pada P8 hanya terjadi hingga hari ke-8 uji tantang. Hal ini diduga karena kinerja imunitas udang mulai meningkat untuk mengeliminasi patogen. Lin *et al.* (2013) menjelaskan bahwa imunitas alami pada udang berupa sel hialin berperan dalam mengeliminasi mikroorganisme dan benda asing yang masuk ke dalam tubuh udang. Peningkatan sel hialin terjadi setelah 14-21 hari pasca infeksi bakteri (Kitikiew *et al.*, 2013).

Relative Percent Survival (RPS)

Hasil pengamatan *relative percent survival* (RPS) menunjukkan bahwa perlakuan P4 dan P8 tidak berbeda signifikan ($P > 0.05$). RPS pada perlakuan P4 (400 g rumput laut) adalah 33.3% dan perlakuan P8 (800 g rumput laut) adalah 41.7%. Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan antara udang yang dipelihara pada rumput laut 400 g (P4) dan udang yang dipelihara dengan rumput laut 800 g (P8) dalam mempertahankan kelangsungan hidup relatif selama uji tantang dengan bakteri *V. harveyi* (Gambar 2).

Mortalitas udang yang terjadi pada udang yang dipelihara dengan rumput laut lebih sedikit dibandingkan dengan udang yang dipelihara tanpa rumput laut. Meskipun RPS yang dihasilkan belum memenuhi nilai kisaran efektif untuk proteksi yakni dibawah 50% (Triyanto *et al.*, 1997), namun penggunaan rumput laut pada budidaya udang vaname memiliki potensi untuk mempertahankan kelangsungan hidup relatif pada udang pasca infeksi *V. harveyi* selama. Menurut Sommerset *et al.* (2005) bahwa RPS merupakan metode yang dapat digunakan dalam menilai potensi proteksi dari suatu bahan terhadap mortalitas ikan utamanya pada

kegiatan vaksinasi. Hasil penelitian dari penggunaan ekstrak *G. verrucosa* pada pakan dapat mempertahankan RPS udang vaname 66.7% – 76.7% (Jasmanindar *et al.*, 2018).



Gambar 2. *Relative percent survival* udang vaname pasca uji tantang

Selain memiliki kandungan senyawa bioaktif antibakterial dan antiviral, *G. verrucosa* juga dapat berperan sebagai biofilter memperbaiki kualitas air sehingga memungkinkan udang vaname bertahan dalam serangan patogen (Andayani *et al.*, 2016). Selain itu keberadaan rumput laut juga diduga mampu mencegah pertumbuhan bakteri di perairan. Janarthanam *et al.* (2012) menjelaskan bahwa virulensi *V. harveyi* dapat dicegah dengan menekan jumlah populasinya agar tidak mencapai kondisi *quorum sensing*. Penelitian lanjutan mengenai potensi rumput laut (*G. verrucosa*) dalam mencegah infeksi bakteri *V. harveyi* masih perlu dikembangkan. Informasi terkait peranan rumput laut menekan populasi bakteri di perairan baik secara langsung maupun tidak masih diperlukan.

KESIMPULAN

Penggunaan rumput laut (*G. verrucosa*) menunjukkan adanya potensi proteksi terhadap udang vaname (*L. vanname*) dari infeksi bakteri *V. harveyi*. Hal ini ditunjukkan dari kematian udang yang terjadi lebih awal pada kontrol (tanpa rumput laut) dan puncak kematian lebih lama dibandingkan dengan udang perlakuan (800 g rumput laut). Selain itu RPS yang dihasilkan yakni 33.3% pada P4 dan 41.7% pada P8.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada Pusat Pendidikan KP, BRSDM KP, Kementerian

Kelautan dan Perikanan atas dukungannya dalam pelaksanaan penelitian, Balai Perikanan Budidaya Air Payau Takalar dan Laboratorium Biokimia, Departemen Kimia, Universitas Hasanuddin, Sulawesi Selatan atas kesediannya membantu pelaksanaan penelitian.

REFERENSI

- Adams, A. (1991). Response of penaeid shrimp to exposure to *Vibrio* species. *Fish Shellfish Immunol*, 1, 59–70.
- Aslan, L.M. (2003). *Budidaya Rumput Laut*. Kanisius: Yogyakarta. 114 hal.
- Austin, B. & Austin, D.A. (2007). *Bacterial Fish Pathogens. Disease in Farmed and Wild Fish*. Fourth Edition. Chichester: Ellis Horwood limited.
- Austin, B. & Zhang, X.H. (2006). Under the microscope. *Vibrio harveyi*: a significant pathogen of marine vertebrates and invertebrates. *Letters in Applied Microbiology*, 43 (2), 119-124.
- Bansemir, A.M., Blume, S., Schroder & Lindequist, U. (2006). Screening of cultivated seaweed for antibacterial activity against fish pathogenic bacteria. *Aquaculture*, 252, 79-84.
- Chen, F.R., Liu, P.C. & Lee, K.K. (2000). Lethal attribute of serine protease secreted by *Vibrio alginolyticus* strains in Kurama Prawn *Penaeus japonicus*. *Zool Naturforsch*, 55, 94–99.
- Ellis, A.E. (1988). *Fish Vaccination*. London (US): Academic Press.
- Hendrajat, E.A., Pantjara, B. & Mangampa, M. (2010). Polikultur udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) dan rumput laut (*Gracilaria verrucosa*). *Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur*.
- Irianto, A. (2005). *Patologi Ikan Telestoi*. Gajah Mada University Press: Yogyakarta.
- Istiqomawati & Kusdarwati, R. (2010). Teknik budidaya rumput laut (*Gracilaria verrucosa*) dengan metode rawai di balai budidaya air payau situbondo jawa timur. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 2 (1).
- Janarthanam, K., George, M.R., John, K.R. & Jayaseelan, M.J.P. (2011). In vitro and in vivo biocontrol of *Vibrio harveyi* using indigenous bacterium, *Bacillus* spp. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*, 41 (1), 83-89.
- Jasmanindar, Y., Sukenda, Zairi, n M.J., Alimuddin & Utomo, N.B.P. (2018). Dietary administration of *Gracilaria verrucosa* on *Litopenaeus vannamei* immune response, growth, and resistance to *Vibrio harveyi*. *AAFL. Biofluc*, 11 (4), 1069-1080.
- Katili, V.R.A., Adianto, L., & Yonvitner. (2017). Evaluasi emeryg pengembangan sistem budidaya udang supra intensif di kawasan pesisir mamboro, Kota Palu, Provinsi Sulawesi tengah. *Jurnal Pengolahan Sumberdaya Alam dan Lingkungan*, 7(2), 138-147.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. (2014). *Statistik Perikanan Kelautan dalam angka (2014)*. Diakses pada <http://statistik.kkp.go.id>.
- Kitikiew, S., Chen, J.C., Putra, D.F., Lin, Y.C., Yeh, S.T., & Liou, C.H. (2013) Fucoidan effectively provokes the innate immunity of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its resistance against experimental *Vibrio alginolyticus* infection. *Fish & Shellfish Immunology*, 34, 280-290.
- Kurniaji, A., Idris, M., & Muliani. (2019) Uji daya hambat ekstrak daun mangrove (*Sonneratia alba*) pada bakteri *Vibrio harveyi* secara *in vitro*. *Jurnal Sains Teknologi Auakultur*, 3 (1), 1-9.
- Lightner, D.V. & Lewis, D.H. 1975. A septicemic bacterial disease syndrome of penaeid shrimp. *Mar. Fish. Rev*, 37 (5-6), 25-28.
- Lin, Y.C., Chen, J.C., Morni, W.Z.W., Putra, D.F., Huang, C.L., Li, C.C. & Hsieh, J.F. (2013) Vaccination enhances early immune responses in white shrimp *Litopenaeus vannamei* after secondary exposure to *Vibrio alginolyticus*. *PLoS ONE*, 8(7),1-7.
- Maftuch, Kurniawati, I., Adam, A. & Zamzami, I. (2016). Antibacterial effect of *Gracilaria verrucosa* bioactive on fish pathogenic bakteri. *Egyptian Journal of Aquatic Research*.
- Munaeni, W., Pariakan, A., Yuhana, M., Setiawati, M. & Abidin, L.B. (2017). In vitro phytochemical and inhibitory potential test of buton forest onion extract (*Elutherine palmifolia*) on *Vibrio harveyi*. *Microbiology Indoensia*, 11(3), 75-80.
- Novyandi, R., Aryawati, R. & Isnaini. (2011). Laju pertumbuhan rumput laut (*Gracilaria* sp.) dengan metode rak bertingkat di perairan kalianda, lampung selatan. *Maspari Journal*, 03, 58-62.
- Putri, Y.S. & Susilowati. (2013). Pengaruh padat penebaran terhadap kelulushidupan dan pertumbuhan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) serta produksi biomassa rumput laut (*Gracilaria* sp) pada Budidaya Polikultur. *Jurnal of Aquaculture Management and Technology*, 2(3), 12-19.
- Ramesh, K.M., Natarajan, H., Sridhar & Umamaheswari, S. (2014). virulence determination among *Vibrio harveyi* hatchery isolates through haemolysis and growth

- constraint. *Global Journal of Bio-Science and Biotechnology*, 3(1), 109-114.
- Rivera, D.A., Davo, A.P., Fuentes, G.R., Herera, K.S.E. & Gaxiola, G. (2019). A vibriosis outbreak in the pacific white hrimp, *Litopenaeus vannamei* reared in biofloc and clear seawater. *Journal of Invertebrate Pathology*, 167, 107246.
- Romano, N., Koh, C. & Ng, W. (2015). Dietary microencapsulated organic acids blend enhances growth, phosphorus utilization, immune response, hepatopancreatic integrity and resistance against *Vibrio harveyi* in white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 435, 228-236.
- Rudi, M., Sukenda, Wahjuningrum, D., Pasaribu, W. & Hidayatullah, H. (2019). Seaweed extract *Gracillaria verrucosa* as an antibacterial and treatment against *Vibrio harveyi* infection of *Litopenaeus vannamei*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 18 (2), 120-129.
- Sirirustananun, N., Chen, J.C., Lin, Y.C., Yeh, S.T., Liou, C.H., Chen, L.L., Sim, S.S. & Chiew, S.L. (2011). Dietary administration of a *Gracilaria tenuistipitata* extract enhances the immune response and resistance against *Vibrio alginolyticus* and white spot syndrome virus in the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology*. 31, 848-855.
- Sommerset, I., Krossoy, B., Biering, E. & Frost, P. (2005). Vaccines for Fish in Aquaculture. *Expert Rev. Vaccine*, 4(1), 89-101.
- Suwoyo, H.S. (2018). Perkembangan teknologi budidaya udang vaname *Litopenaeus vannamei*. Disampaikan pada acara diseminasi teknologi budidaya udang vaname Ekstensif Plus. Maros 2-7 September 2020. Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau dan Penyuluhan Perikanan Maros. Pusat Riset Perikanan – BRSDMKP. Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- Syah, R., Makmur & Fathur, M. (2017). Budidaya udang vaname dengan padat penebaran tinggi. *Media Akuakultur*, 12 (1), 19-26.
- Triyanto, Kamiso, H.N., Isnansetyo, A. & Murwantoko. (1997). Pembuatan antigen murni untuk memproduksi polivalen antibody dan vaksin *Aeromonas hydrophilla*. Yogyakarta (ID): Universitas Gajah Mada.
- Utami, W., Sartijo & Desrina. (2016). Pengaruh salinitas terhadap efek infeksi *Vibrio harveyi* pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal of Aquaculture Management and Technology*, 5(1), 82-90.
- Zahra, A., Sukenda & Wahjuningrum, D. (2017). Ekstrak rumput laut *Gracilaria verrucosa* sebagai imunostimulan untuk pengendalian penyakit *white spot* pada udang vaname *Litopenaeus vannamei*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 16(2), 174-183.
- Zhang, X.H. & Austin, B. (2000). Pathogenicity of *Vibrio harveyi* to salmonids. *Journal of Fish Diseases*, 23(2), 93-102.