



MARLIN

Marine and Fisheries Science Technology Journal

Tersedia online di: <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/marlin>

e-mail: jurnal.marlin@gmail.com

Volume 6 Nomor 2 Agustus 2025

p-ISSN 2716-120X

e-ISSN 2715-9639

Pengaruh Terapi Bakteriofag terhadap Profil Hemosit Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang Terinfeksi Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease

Effect of Bacteriophage Therapy on the Hemocyte Profile of Whiteleg Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) Infected with Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease

Bagus Ansani Takwin¹⁾, Dinamella Wahjuningrum²⁾, Widanarni²⁾, dan Hasan Nasrullah²⁾

¹⁾Program Studi Budidaya Perairan, Universitas Nusa Cendana, Kupang

²⁾Program Studi Ilmu Akuakultur, Institut Pertanian Bogor, Bogor

Teregistrasi I tanggal: 23 Juli 2025; Diterima setelah perbaikan tanggal: 03 September 2025; Disetujui terbit tanggal: 11 September 2025

ABSTRAK

Penyakit Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND) yang disebabkan oleh *Vibrio V. parahaemolyticus* merupakan ancaman utama dalam budidaya udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*), dengan tingkat mortalitas tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas terapi bakteriofag terhadap respon imun non-spesifik udang melalui pengamatan *Differential Hemocyte Count* (DHC). Penelitian dilaksanakan selama enam bulan menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan tujuh perlakuan, termasuk kontrol positif (KP) dan negatif (KN), antibiotik (KA), serta tiga dosis bakteriofag yaitu 10^7 PFU/mL (FB7), 10^8 PFU/mL (FB8) dan 10^9 PFU/mL (FB9) yang di uji tantang *V. parahaemolyticus* (10^5 CFU/mL). DHC diamati pada hari ke-0, 1, 3, dan 7 pasca perlakuan. Hasil menunjukkan bahwa kelompok perlakuan bakteriofag, khususnya FB9 (10^9 PFU/mL), mampu mempertahankan proporsi sel hialin antara 50-57% hingga hari ke-7, menyerupai kondisi imun pada kontrol negatif. Sebaliknya, kontrol positif menunjukkan penurunan tajam sel hialin dan peningkatan sel granular sebagai respons terhadap infeksi. Aplikasi bakteriofag, terutama pada dosis tinggi (FB9), efektif dalam menstimulasi respon imun udang melalui peningkatan proporsi sel hialin, menjadikannya alternatif terapi yang menjanjikan untuk pengendalian AHPND secara ramah lingkungan.

KATA KUNCI: AHPND; antibiotik; bakteriofag; hemosit; udang vaname,

DOI: <http://dx.doi.org/10.15578/marlin.V6.I1.2025.115-130>

*Korespondensi penulis:
e-mail :

ABSTRACT

Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND), caused by *Vibrio parahaemolyticus*, poses a major threat to the cultivation of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) due to its high mortality rate. This study aimed to evaluate the effectiveness of bacteriophage therapy on the non-specific immune response of shrimp, assessed through Differential Hemocyte Count (DHC) analysis. The research was conducted over six months using a Completely Randomized Design with seven treatment groups, including positive control (KP), negative control (KN), antibiotic treatment (KA), and three bacteriophage dosages: 10^7 PFU/mL (FB7), 10^8 PFU/mL (FB8), and 10^9 PFU/mL (FB9), all challenged with *V. parahaemolyticus* at 10^5 CFU/mL. DHC observations were carried out on days 0, 1, 3, and 7 post-treatment. The results indicated that the bacteriophage-treated group, particularly FB9 (10^9 PFU/mL), maintained a hyaline cell proportion of 50–57% through day 7, similar to the immune profile of the negative control. In contrast, the positive control exhibited a marked decrease in hyaline cells and an increase in granular cells, indicating an immune response to infection. Bacteriophage application, especially at high dosage (FB9), effectively stimulated the shrimp's immune response by preserving hyaline cell levels, making it a promising eco-friendly alternative for AHPND control.

Keywords: AHPND; antibiotic; bacteriophage; hemocyte; Pacific white shrimp

PENDAHULUAN

Udang Vaname menjadi komoditas utama ekspor perikanan budidaya saat ini di Indonesia, berdasarkan data produksi udang di Indonesia pada tahun 2023 mencapai 941.646 ton (Badan Pusat Statistik, 2025). Industri akuakultur mengalami pertumbuhan melalui peningkatan intensitas produksi untuk mengatasi kekurangan pasokan makanan laut. Transformasi menuju sistem yang lebih intensif ini tercermin dari penggunaan teknologi mutakhir dan penerapan inovasi secara luas dalam kegiatan budidaya perikanan di berbagai belahan dunia (Rasul et al., 2025). Selain itu budidaya ikan sistem intensif ditandai dengan penggunaan kepadatan ikan yang tinggi serta pemberian pakan dari sumber eksternal (Nasution et al., 2014; Rayhan et al., 2018). Jika limbah dari

budidaya dengan kepadatan tinggi tidak dikelola dengan baik dan terus berlangsung dalam jangka panjang, maka dapat menimbulkan efek toksik bagi ikan (Alfia et al., 2013; Nasution et al., 2014; Hapsari et al., 2020). Sehingga menyebabkan kualitas air yang buruk, seperti tingginya kadar amonia akibat dari proses ekskresi ikan serta akumulasi pakan yang tidak dimakan. Akibatnya muncul bakteri, khususnya bakteri *Vibrio* sp yang merupakan bakteri alamiah sering ditemukan di perairan laut atau payau. Bakteri ini bersifat opportunistik yang berpotensi menjadi patogen apabila kondisi lingkungan buruk maupun fisiologis inang mengalami stres atau terganggu (Utami et al., 2016; Aris et al., 2024).

Pada budidaya udang vaname, bakteri *Vibrio* sp. merupakan patogen

dominan yang sering kali menjadi penyebab utama kegagalan produksi dan telah tersebar secara luas di berbagai wilayah dunia (Sarida & Harpeni, 2010). Infeksi akibat bakteri ini bersifat sangat virulen, sehingga dapat menurunkan tingkat kelulushidupan sintasan udang hingga mencapai 80% hanya dalam hitungan hariwaktu singkat, terutama pada fase pembenihan dan pembesaran (Rusadi et al., 2019).

Penyakit *acute hepatopancreatic necrosis disease* (AHPND), yang merupakan penyakit bakterial pada udang penaeid budidaya dan sebelumnya dikenal sebagai *early mortality syndrome* (EMS), telah menimbulkan kekacauan dalam industri budidaya udang (V. Kumar et al., 2021). AHPND disebabkan oleh strain toksik dari *Vibrio parahaemolyticus* yang telah memperoleh " "selfish plasmid " yang mengkode toksin mematikan berupa toksin ganda PirA^{VP}/PirB^{VP} (Li et al., 2017; Muthukrishnan et al., 2019; Yuhana & Afiff, 2023). Hasil penelitian Li et al., (2017) menunjukkan bahwa bakteri penyebab AHPND dengan non-AHPND, perbedaannya dapat dilihat pada toksin PirA/PirB. (Li et al., 2017).

Penyakit AHPND rentan terjadi pada awal penebaran 30 hari pasca udang udang Vaname ditebar ditambak. Penyakit ini ditandai oleh terjadinya atropfi hebat pada organ hepatopankreas, yang disertai dengan perubahan histopatologis khas pada fase akut perkembangan penyakit (Tran et al., 2013). Pada fase ini, Dalam kurun waktu sekitar 30 hari pertama setelah benur ditebar, seringkali teramati pelepasan masif sel-sel epitel pada hepatopankreas atau saluran pencernaan, meskipun tidak ditemukan keberadaan patogen lain

yang menyertainya (Kumar et al., 2019; Kumar et al., 2020). Secara etiologis, bakteri penyebab AHPND dilaporkan secara spesifik menyerang organ pencernaan utama, yakni hepatopankreas, dan mengakibatkan kerusakan pada sel-sel tipe R (resorptif), B (blister), F (fibrilar), dan E (embrionik). Kerusakan tersebut menimbulkan gangguan fungsi hepatopankreas yang berujung pada tingkat mortalitas yang tinggi pada udang, yaitu 80% (Han et al., 2015; Campa-Córdova et al., 2017; Dong et al., 2017). Udang yang mengalami infeksi AHPND umumnya menunjukkan tanda-tanda klinis berupa penurunan aktivitas (lethargy), hilangnya nafsu makan (anoreksia), pertumbuhan yang lambat, kondisi saluran pencernaan yang kosong, serta perubahan warna hepatopankreas menjadi pucat hingga keputihan (Kumar et al., 2021).

Pengobatan penyakit dapat dilakukan melalui berbagai pendekatan, seperti penggunaan probiotik, prebiotik, antibiotik, dan fitofarmaka (Sam-on et al., 2025; Rasul et al., 2025). Namun, hingga saat ini, efektivitas metode-metode tersebut dalam meningkatkan ketahanan organisme terhadap patogen masih belum optimal. Sebagai alternatif yang menjanjikan, penggunaan bakteriofage mulai mendapat perhatian karena kemampuannya yang spesifik dalam menginfeksi dan melisiskan bakteri patogen tanpa mengganggu mikroflora normal.

Bakteriofage adalah virus yang melawan bakteri. Terapi bakteriofage menawarkan pendekatan yang lebih ramah lingkungan dan berpotensi mengatasi resistensi antibiotik yang semakin meningkat dalam sistem budidaya perikanan intensif, dimana jenis virus tertentu digunakan untuk menghambat atau membunuh bakteri berbahaya (Palma & Qi, 2024). Bakteriofage menunjukkan efek bakterisidal yang signifikan

dengan meningkatkan jumlah reproduksi dirinya sendiri, namun tidak mengganggu flora normal yang ada pada inangnya dan bersifat spesifik pada bakteri tertentu yang menjadi inangnya (Ling et al., 2022).

Pada penelitian ini, dilakukan pengamatan profil hemosit dengan mengamati *differential hemocyte count* (DHC) pada udang vaname Vaname untuk mengevaluasi respons imun non-spesifik terhadap terapi bakteriofag. DHC mencerminkan proporsi tiga tipe hemosit utama diantaranya hialin, semi-granular, dan granular yang berperan dalam pertahanan imun (Siptiani et al., 2018). Terapi bakteriofag yang menargetkan bakteri patogen penyebab AHPND, diharapkan menstimulasi sistem imun tanpa menyebabkan stres. Oleh karena itu, DHC menjadi indikator penting untuk menilai efektivitas dan dampak imunologis aplikasi bakteriofag dalam budidaya udang.

METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan selama enam bulan yaitu bulan Juni-Desember 2023 yang dilakukan di Laboratorium Kesehatan Organisme Akuatik, Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.

HewanMateri Uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang diperoleh dari PT. Suri Tani Pemuka pada stadia post larva (PL-10). Selanjutnya, udang tersebut dipelihara dalam kondisi terkontrol hingga mencapai ukuran rata-rata Hewan uji yang digunakan dalam penelitian adalah udang vaname Vaname diperoleh dari PT. Suri Tani Pemuka Post Larva (PL) 10 dan dipelihara sampai dengan ukuran $\pm 2 \pm 0.01$ g. Bakteri uji yang digunakan adalah *V. parahaemolyticus* yang diperoleh dari koleksi Laboratorium Kesehatan Organisme Akuatik Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor. Bakteriofage diperoleh dari air pemeliharaan, sedimen dan udang tambak budidaya udang.

Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan penelitian eksperimental dengan metode rancangan acak lengkap (RAL). Proses uji tantang dilakukan dengan menggunakan tujuh perlakuan yang masing-masing diulang sebanyak tiga kali (Tabel 1). metode perendaman menggunakan *Vibrio parahaemolyticus*. Satu jam setelah uji tantang, Udang diberi pakan sesuai dengan perlakuan masing-masing hingga kenyang, dengan frekuensi pemberian dua kali per hari. Pengamatan dilakukan pada hari ke 0,1,3 dan 7 dengan mengambil hemolim dari semua kelompok perlakuan.

Tabel 1. Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian

Perlakuan	Keterangan
KN (+)	Pakan + SM-buffer* tanpa diuji tantang <i>V. parahaemolyticus</i>
KP (+)	pakan + SM-buffer dan kemudian diuji tantang dengan <i>V. parahaemolyticus</i> pada konsentrasi 10 ⁵ CFU/mL.
KA	pakan + antibiotik klortetrasiklina (32 µg/mL), dan uji tantang <i>V. parahaemolyticus</i> (10 ⁵ CFU/mL)
KF	Pakan + fage (10 ⁹ PFU/gmL) tanpa diuji tantang <i>V. parahaemolyticus</i>
FB7	Pakan + fage (10 ⁷ PFU/gmL) dan diuji tantang <i>V. parahaemolyticus</i> (10 ⁵ CFU/mL)
FB8	Pakan + fage (10 ⁸ PFU/gmL) dan diuji tantang <i>V. parahaemolyticus</i> (10 ⁵ CFU/mL)
FB9	Pakan + fage (10 ⁹ PFU/gmL) dan diuji tantang <i>V. parahaemolyticus</i> (10 ⁵ CFU/mL)

Prosedur Kerja

Persiapan Wadah dan Hewan uji

Penelitian ini menggunakan akuarium ukuran 60×30×35 cm³ sebagai wadah pemeliharaan. Sebelum digunakan, akuarium dibersihkan secara menyeluruh dan dikeringkan. Setiap akuarium diisi dengan 10 liter air laut yang disterilisai dengan penambahan kaporit sebanyak 20 ppm. Hewan uji yang digunakan adalah udang Vaname yang telah dipastikan bebas dari infeksi vibriosis yang telah diuji menggunakan metode PCR (Takwin et al.,2024). Setiap akuarium kemudian ditebar sebanyak 20 ekor udang.

Sebanyak 420 ekor udang digunakan dalam penelitian ini, dengan kepadatan penebaran 2 ekor per liter, sehingga setiap akuarium berisi 20 ekor udang. Proses aklimatisasi dilakukan selama tujuh hari sebelum perlakuan dimulai, Pada masa ini, di mana udang diberi pakan komersial dua kali sehari. Selama periode ini, kualitas air dijaga sesuai standar,

dengan suhu berkisar antara 28–33 °C, pH antara 7–8,5, dan salinitas 30–34 ppt sesuai dengan pedoman SNI (2014).

Persiapan Bakteri Uji

Bakteri *V. harveyi* dan *V. parahaemolyticus* dari daerah yang berbeda yaitu Anyer, Banyuwangi dan Situbondo dikultur pada media selektif *thiosulfat citrate-bile salt sucrose* (TCBS) dan bakteri *A. hydrophila* dan *A. salmonicida* dikultur pada media tryptic soy agar (TSA), kemudian diinkubasi pada suhu 28 oC selama 24 jam. Isolat murni *V. parahaemolyticus* Situbondo dikonfirmasi menggunakan PCR konvensional dengan primer AP4 (PirAVp dan PirB^{VP}). Isolat yang diperoleh dikultur pada media *sea water complete* (SWC) broth dishaker selama 6 jam. Selanjutnya dilakukan perhitungan *total plate count* (TPC) dan menghasilkan kepadatan 108 CFU/mL.

Isolasi Bakteriofag

Isolasi bakteriofag dilakukan dengan mengacu pada metode Wang et al. (2017) yang telah dimodifikasi. Dimulai dari sampel air tambak diambil sebanyak 50 mL, sedimen tambak sebanyak 25 gram,

dan jaringan saluran pencernaan udang yang telah dihancurkan ditambahkan larutan PBS dengan perbandingan 1:1 (b:v). Campuran tersebut dimasukkan ke dalam tabung sentrifus 1 mL, lalu disentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit pada suhu 4 °C. Supernatan yang diperoleh disaring menggunakan *syringe filter* berukuran 0,45 µm.

Sebanyak 10 mL filtrat bakteriofag dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer yang telah berisi 40 mL media *SWC broth* dan 1 mL kultur cair *Vibrio parahaemolyticus*. Campuran ini diinkubasi menggunakan shaker dengan kecepatan 160 rpm selama 24 jam. Setelah inkubasi, campuran disentrifugasi kembali dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit pada suhu 4 °C, dan supernatan yang dihasilkan disaring kembali menggunakan *syringe filter* berpori 0,22 µm untuk memisahkan bakteriofag dari bakteri.

Pembentukan plak (zona lisis) diamati dan dianalisis menggunakan metode *double layer* agar sesuai dengan prosedur (Vieira et al., 2012). Filtrat yang mengandung bakteriofag kemudian diencerkan secara bertingkat hingga pengenceran 10^4 menggunakan larutan saline magnesium buffer (SM-buffer). Dari setiap tingkat pengenceran, diambil sebanyak 100 µL, lalu dicampur dengan 200 µL kultur *V. parahaemolyticus* (10^8 CFU/mL), kemudian ditambahkan 3 mL Top Agar (*SWC broth* + 0,7% agar) dan dihomogenkan. Campuran ini dituangkan ke atas media *SWC* padat yang berfungsi sebagai *bottom* agar. Selanjutnya, cawan diinkubasi secara terbalik pada suhu 37 °C selama 24 jam. Kemudian diamati plak yang terbentuk ditandai dengan warna bening.

Purifikasi Bakteriofag

Purifikasi bakteriofag dilakukan berdasarkan metode Kropinski et

al. (2009) dengan modifikasi. Cawan petri yang mengandung bakteriofag ditambahkan 5 mL SM-buffer, kemudian digoyang menggunakan shaker selama 10 menit. Cairan SM-buffer hasil proses tersebut diambil dengan pipet tetes, dimasukkan ke dalam tabung berukuran 1 mL, lalu disentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh selanjutnya disaring menggunakan *syringe filter* berpori 0,22 µm. Filtrat bakteriofag hasil penyaringan diencerkan secara bertingkat hingga mencapai 10^7 . Dari setiap tingkat pengenceran, sebanyak 100 µL diambil dan dicampurkan dengan 500 µL kultur *Vibrio parahaemolyticus* (10^8 CFU/mL). Campuran tersebut diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37 °C, kemudian ditambahkan 3 mL *SWC* semi padat, dituang ke atas media *SWC* padat, dan diinkubasi kembali selama 24 jam pada suhu yang sama. Setelah inkubasi, terbentuk plak yang ditandai dengan zona bening pada permukaan media.

Kuantifikasi Bakteriofag

Bakteriofag litik tunggal diperbanyak dengan metode Bonilla et al. (2016) dengan modifikasi. Sebanyak 1% kultur *V. parahaemolyticus* dimasukkan ke dalam 100 mL media *SWC broth*, ditambahkan 500 µL lisat fage litik dan diinkubasi pada suhu 37 °C dengan kecepatan 150 rpm sampai lisat bersih. Setelah itu dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm pada suhu 4 °C selama 10 menit. Supernatan diambil dan disaring dengan filter 0,22 µm. kemudian setiap pengenceran dicampurkan dengan kultur bakteri *V. parahaemolyticus* dalam *soft* agar dan dituangkan di atas medium agar padat. Selanjutnya diinkubasi pada suhu optimal selama 18-24 jam, terbentuk zona bening (*plaque*) yang selanjutnya dihitung untuk menentukan nilai titer dalam satuan *plaque forming unit per milliliter* (PFU/mL). Hasil perbanyakan didapatkan kepadatan tertinggi 109 PFU/mL.

(Vieira et al., 2012).

Pengamatan DHC

Pengamatan DHC dengan membuat preparat ulasan antikoagulan (30 Mm trisodium citrate, 0,34 M sodium chloride, 10 Mm EDTA, 0,12 M glucose, pH 7.55) dan hemolim udang dengan perbandingan 2:1. Campuran tersebut ditetaskan pada kaca objek pertama dan kaca objek kedua digunakan untuk meratakan tetesan

tersebut dengan kemiringan 45 oC dan dikering anginkan, kemudian difiksasi dengan metanol selama 15 menit. Setelah itu dikeringkan lagi dan diwarnai dengan cara direndam larutan giemsa 10% selama 15 menit dan dicuci dengan akuades dan dikeringkan. Preparat diamati menggunakan perbesaran 1400 kali dan dibedakan menurut jenisnya yaitu sel hialin dan semigranular/granular (Ekawati et al. 2012). Persentase tiap sel hemosit dihitung dengan rumus.

Persentase jenis sel hemosit =
$$\frac{\text{Jumlah tiap sel hemosit}}{\text{Total hemosit}} \times 100 \%$$

Analisis Data

Data DHC dilakukan dengan analisa secara deskriptif.

didapatkan bahwa penelitian ini berhasil dilakukan isolasi yang bersumber dari air budidaya udang yang terserang penyakit AHPND di Situbondo Jawa Timur. Keberhasilan isolasi bakteriofag ditandai dengan adanya plak berwarna putih/ bening pada media double layer.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Isolasi Bakteriofag

Berdasarkan hasil isolasi bakteriofag yang dilakukan



Gambar 1. Isolasi bakteriofag Vp AHPND
Keterangan : Lingkaran biru :plak berwarna putih (bakteriofag)

Differential Hemocyte Count

Gambar 2Hasil pengamatan menunjukkan perubahan persentase Differential Haemocyte Count (DHC)

yang terdiri atas tiga jenis sel hemosit hialin, semigranular, dan granular pada udang Vaname (Litopenaeus vannamei) yang terinfeksi penyakit Acute Hepatopancreatic

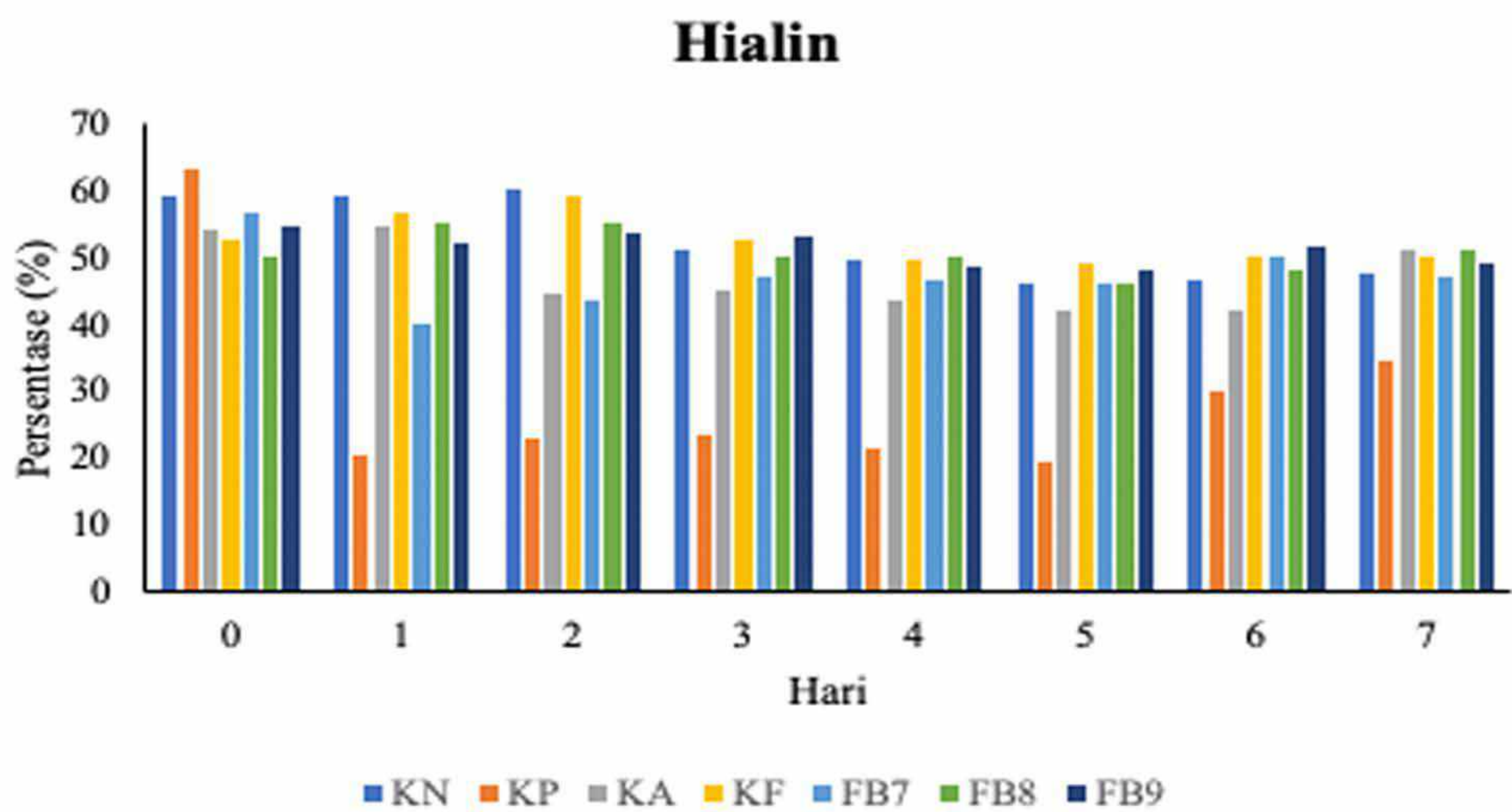
Necrosis Disease (AHPND) dan diberi perlakuan bakteriofag. Hasil pengamatan menunjukkan persentase sel hialin perlakuan KN memiliki rata-rata tertinggi sebesar $52,42 \pm 4,16$ diikuti oleh KF sebesar $52,62 \pm 3,27$, kemudian FB9 sebesar $51,37 \pm 4,23$, selanjutnya FB8 sebesar $47,21 \pm 5,32$ dan KA sebesar $47,20 \pm 6,99$ serta FB7 sebesar $50,75 \pm 4,02$, sedangkan KP menunjukkan nilai terendah dengan rata-rata hanya $29,46 \pm 5,49$. Hasil pengamatan sel hialin dapat dilihat padaselama periode pengamatan selama tujuh hari (Gambar 22). Data ditampilkan dalam bentuk diagram batang untuk tujuh kelompok perlakuan.

Pada hari ke-0, seluruh kelompok memiliki distribusi yang relatif serupa dengan dominasi sel hialin berkisar antara 54% hingga 63%, semigranular 26%-30%, dan granular sekitar 14%-18%. Seiring berjalannya waktu, terjadi penurunan persentase sel hialin terjadi pada kelompok kontrol positif (KP) yang terinfeksi AHPND tanpa pengobatan, dari 63% pada hari ke-0 menjadi 43% pada hari ke-7. Sebaliknya, persentase sel granular pada KP meningkat dari 16% menjadi 27%, yang mengindikasikan aktivasi respons

imun terhadap infeksi.

Kelompok yang diberi perlakuan antibiotik (KA) dan Kontrol fage tanpa uji tantang bakteri (KF) menunjukkan pola perubahan DHC yang lebih moderat. Persentase sel hialin cenderung menurun secara bertahap dari 56%-57% pada hari ke-0 menjadi sekitar 45%-49% pada hari ke-7, dengan peningkatan proporsi granular hingga sekitar 22%-25%. Perlakuan bakteriofag (FB7, FB8, FB9) menunjukkan hasil yang lebih stabil dan mendekati profil kelompok kontrol negatif (KN).

Sel hialin pada kelompok fageterapi dipertahankan pada kisaran 50%-57%, sementara sel granular tetap pada level rendah yaitu sekitar 18%-20% selama periode pengamatan. Kelompok FB9 menunjukkan kestabilan paling tinggi, dengan persentase sel hialin mencapai 52% pada hari ke-7 dan granular tetap pada 20%, menandakan respons imun yang terkendali dan pemulihan seluler. Secara keseluruhan, kelompok perlakuan bakteriofag menunjukkan kestabilan DHC yang lebih baik dibandingkan kontrol positif. Perbedaan sel hialin, granular dan semi granular dapat dilihat pada Gambar 3.

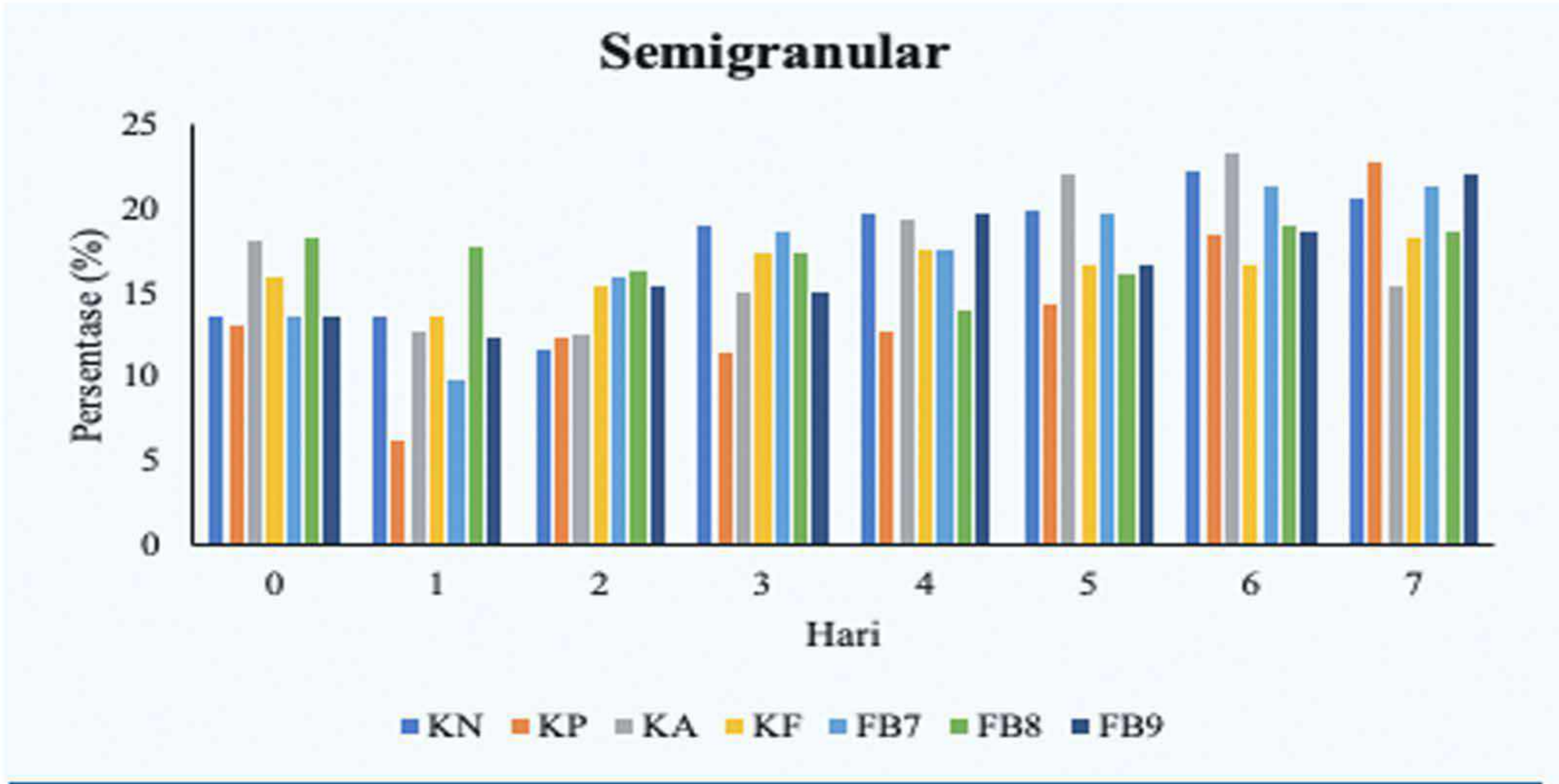


Gambar 2. Persentase sel hialin pada udang Vaname

Pengamatan sel semigranular memiliki rata-rata sebesar $17,56 \pm 2,45$, menunjukkan bahwa KN memiliki sedangkan KA sebesar $17,27 \pm 4,00$ dan FB7

sebesar 17,25±3,26. Perlakuan FB8 memiliki rata-rata 17,18±2,51, diikuti FB9 sebesar 16,68±2,70 dan KF sebesar 16,43±2,80. KP

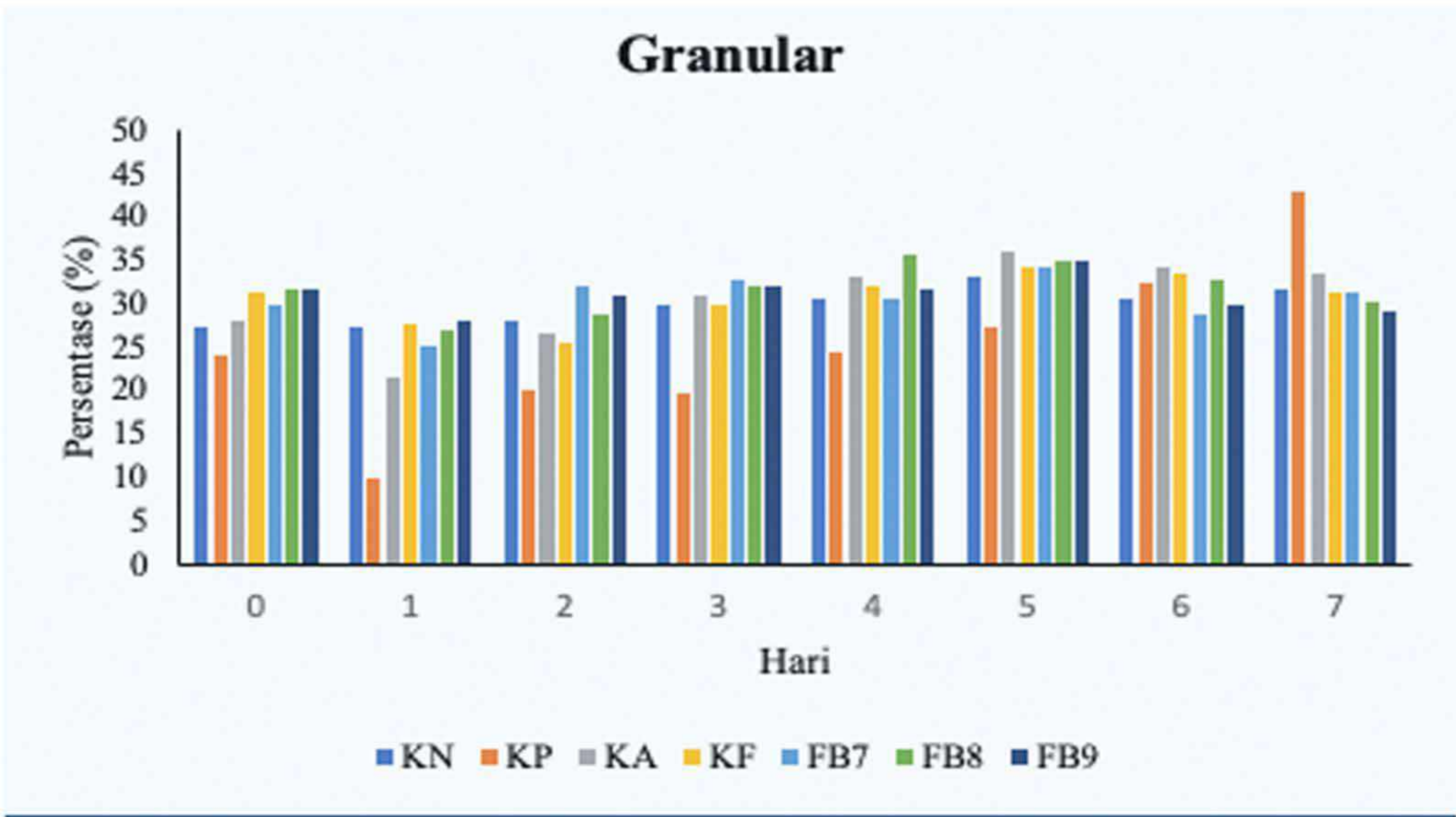
menunjukkan rata-rata terendah yaitu 13,87±3,12. Hasil persentase sel semigranular dapat dilihat pada Gambar 3.

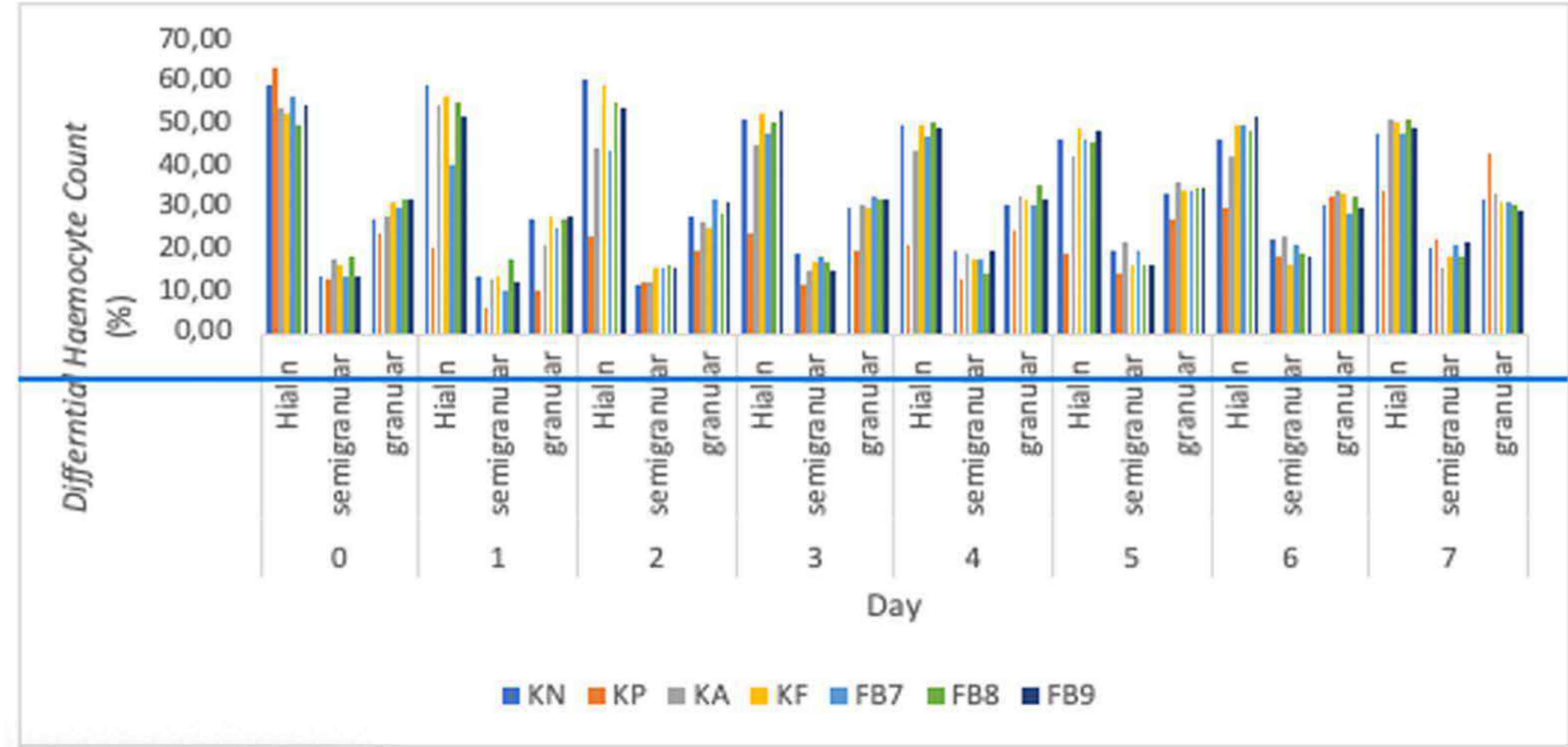


Gambar 3. Persentase sel semigranular pada udang Vaname

Pengamatan sel granular menunjukkan bahwa KN memiliki rata-rata sebesar 29,85±3,41, sedangkan KP mencapai 25,09±4.86. KA, KF, dan FB7 masing-masing memiliki rata-rata 30,41±2.95,

30,62±4,10, dan 30,52±2,90. Selanjutnya, FB8 memiliki rata-rata tertinggi sebesar 31,58±3,14, diikuti FB9 dengan rata-rata 30,99±3,35. Hasil persentase sel granular dapat dilihat pada gambar 4.

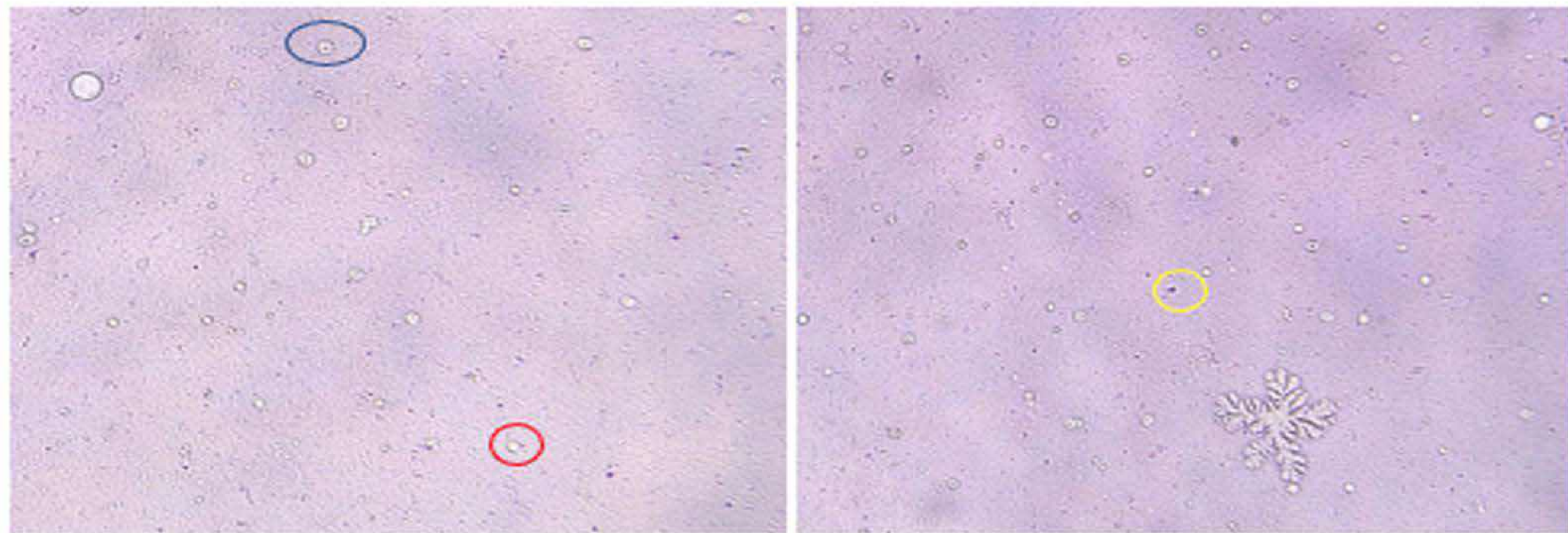




Gambar 4. Persentase sel granular pada udang Vaname

Pada hasil pengamatan mikroskopis, ditemukan beberapa tipe sel hemosit yang dapat dibedakan berdasarkan bentuk dan strukturnya. Gambar 5

memperlihatkan keberagaman sel hemosit, yaitu sel hialin, sel granular, dan sel semigranular dengan perbesaran 100x.



Gambar 5. Sel hialin, sel granular dan sel semi granular, Perbesaran 100x

Keterangan : Lingkaran merah : Sel hialin, lingkaran biru : sel granular dan lingkaran kuning : sel semi granular

Pembahasan

Bakteriofag, merupakan salah satu alternatif potensial pengganti agen antimikroba dalam pengendalian infeksi bakteri karena memiliki kemampuan menyerang inang secara spesifik. Spesifisitas ini menjadikan bakteriofag fag sangat selektif dalam menargetkan bakteri tanpa menimbulkan efek samping fisiologis yang merugikan bagi organisme inang, berbeda dengan antibiotik yang berpotensi menimbulkan resistensi bakteri serta gangguan fisiologis (Golkar et al., 2014; Ghosh et al., 2019). Selain bersifat ramah

lingkungan, bakteriofag juga menghasilkan enzim litik yang mampu menghancurkan dinding sel bakteri secara langsung. Keunggulan lain dari bakteriofag adalah persebarannya yang sangat luas di berbagai habitat perairan, baik tawar maupun laut, yang menjadikannya sebagai sumber virion dan enzim litik yang melimpah. Di ekosistem laut, keberadaan bakteriofag dalam jumlah dan jenis yang sangat beragam memiliki peran penting dalam menentukan struktur komunitas mikroba, yang pada gilirannya turut memengaruhi dinamika siklus biogeokimia secara global (Wigington et al., 2016; Zhang

Zhang et al., 2020).

Hemosit memiliki peran krusial dalam sistem imun krustasea, terutama dalam menyingkirkan partikel asing melalui mekanisme fagositosis, enkapsulasi, serta pembentukan nodul (Rodriguez & Le Moullac, 2000). Untuk mengevaluasi sistem pertahanan imun pada udang, digunakan berbagai parameter penanda, termasuk kekebalan humoral dan seluler. Indikator tersebut antara lain jumlah total hemosit (Le Moullac et al., 1998), keberadaan enzim prophenoloksidase (proPO), serta tingkat aktivitas enzim phenoloksidase (PO) (Ni'mah et al., 2021; Prastiti et al., 2023).

Pada penelitian ini dilakukan pengamatan DHC pada udang. *Differential hemocyte* dibagi menjadi tiga pada krustasea dekapoda, yaitu sel hialin (HC), sel semigranular (SGC), dan sel granular (GC) (Mahasri et al., 2018). Setiap sel memiliki fungsi dan peran yang berbeda dalam respons imun krustasea (Johansson et al., 2000; Xian et al., 2017).. Berdasarkan hasil penelitian pada hari ke-0 hingga hari ke-7, kelompok kontrol negatif (KN) mempertahankan proporsi hemosit hialin tertinggi, berkisar antara 50-60%, menunjukkan kondisi imun udang yang stabil karena tanpa dilakukan uji tantang. Granular berkisar sekitar 20% - 35% sedangkan semigranular sekitar 12% - 25%. Sebaliknya, kelompok kontrol positif (KP), yang mewakili udang terinfeksi tanpa pengobatan, menunjukkan penurunan jumlah hemosit hialin yang signifikan dan peningkatan proporsi hemosit granular dan semigranular, mencerminkan respons imun terhadap infeksi AHPND.

Perlakuan antibiotik (KA) dan kontrol fag (KF) menunjukkan pemulihan parsial dengan fluktuasi proporsi hemosit selama waktu pengamatan, meskipun tidak seefektif perlakuan bakteriofag. Tiga kelompok perlakuan terapi bakteriofag (FB7, FB8, FB9) menunjukkan peningkatan konsisten pada hemosit hialin dan penurunan proporsi granular dibandingkan KP, terutama pada hari ke-3 hingga hari ke-7, yang mengindikasikan pemulihan status imun udang. Kelompok FB9 menunjukkan performa terbaik, dengan pola DHC yang mendekati KN, menandakan efektivitas bakteriofag dalam menekan infeksi AHPND dan mengembalikan profil hemosit ke kondisi normal. Bakteriofag bekerja melalui siklus litik, diawali ketika bakteriofag menempel pada sel bakteri dan menyisipkan materi genetiknya ke dalam tubuh inang. Pada proses ini, terdapat dua kemungkinan jalur, yaitu masuk ke fase lisogenik atau langsung memasuki fase litik. Pada jalur litik, bakteriofag memperbanyak diri di dalam sel inang hingga akhirnya melisisnya. Sel bakteri yang hancur kemudian melepaskan bakteriofag baru yang siap menginfeksi bakteri lain di sekitarnya, sehingga proses infeksi dapat berlangsung berulang dan meluas (Kusumawati dan Wardani, 2023).

Tingginya persentase presentasi hialin dibandingkan granular dan semigranular karena hialin berperan sebagai garis pertahanan pertama dalam sistem imun non-spesifik udang. Sel ini memiliki kemampuan fagositosis yang tinggi dan diproduksi lebih cepat saat terjadi infeksi. Selain itu, secara alami komposisi hemosit udang memang didominasi oleh hialin, yang biasanya mencapai 60-80% dari total hemosit. Jumlah yang tinggi ini memungkinkan udang merespons infeksi secara efisien tanpa harus langsung mengaktifkan mekanisme imun yang lebih kompleks seperti yang dilakukan oleh sel granular (Lee et al., 2021).

Berdasarkan hal tersebut bahwa, sel hialin, granular dan semi granular, memainkan perannya masing-masing ketika terinfeksi. Pada udang penaeid, SGC dan GC memiliki granula yang sangat refraktif yang mengandung komponen sistem prophenoloksidase (proPO) (Lee et al., 2021)(Johansson et al., 2000), dan keduanya juga dilaporkan aktif dalam proses fagositosis (Lee et al., 2021)(Gargioni & Barracco, 1998). Persentase keberadaan kedua jenis sel tersebut menunjukkan bahwa sel granular memiliki peran dominan dalam respons imun. Namun demikian, ketika organisme mengalami paparan terhadap material asing atau kondisi lingkungan yang kurang mendukung, jumlah kedua jenis sel ini cenderung menurun. Temuan ini sejalan dengan laporan Supamattaya et al. (2000) dalam (Wangi et al., 2019) yang menyatakan bahwa sel granular berperan penting dalam menghasilkan enzim phenoloksidase, yang merupakan komponen utama dalam sistem pertahanan tubuh terhadap serangan patogen. Ketika terjadi infeksi, sel granular dan semi-granular akan mengalami degranulasi dan menjalankan fungsi sitotoksik serta melisiskan agen asing yang masuk ke dalam tubuh, sehingga jumlah sel granular yang bersirkulasi dalam hemolim akan berkurang. Lebih lanjut dijelaskan bahwa granula pada sel granular mengandung *prophenoloksidase* (proPO), dan aktivasi sistem ini menyebabkan pelepasan enzim dari sel granular. Aktivasi tersebut juga dapat dipicu oleh keberadaan komponen mikroba seperti β -glukan.

KESIMPULAN

Penggunaan bBakteriofag mampu meningkatkan DHC pada respon imun udang Vaname yang terinfeksi AHPND selama penelitian dibandingkan dengan control. Perlakuan terbaik terdapat pada FB9 dan hampir sama dengan

perlakuan Antibiotik (KA) dengan presentasi tertinggi terdapat pada sel hemosit hialin berkisar antara 50-60% dibandingkan dengan granular dan semigranular.

DAFTAR PUSTAKA

- Alfia, A. R., Endang, A., & Tita, E. (2013). Pengaruh kepadatan yang berbeda terhadap kelulusanhidupan dan pertumbuhan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) pada sistem resirkulasi dengan filter bioball. *Journal of Aquaculture Management and Technology*, 2(3), 86-93. <http://ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/jfpik>.
- Aris, M., Samadan, G. M., Ode, M., Program, A., Perairan, S. B., Perikanan, F., Kelautan, I., & Khairun, U. (2024). Perbandingan kepadatan bakteri *Vibrio* spp. pada budidaya udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) di lokasi berbeda. *Juvenil*, 5(3), 214-222. <http://doi.org/10.21107/juvenil.v5i3.22327>.
- Badan Pusat Statistik. (2025). *Produksi perikanan budidaya menurut komoditas utama*. Badan Pusat Statistik Indonesia. <https://www.bps.go.id/id/statistics-table/2/MTUxMyMy/produksi-perikanan-budidaya-menurut-komoditas-utama.html>.
- Bonilla N, Rojas MI, Cruz GNF, Hung SH, Rohwer F, Barr JJ. 2016. Phage on tap-a quick and efficient protocol for the preparation of bacteriophage laboratory stocks. *PeerJ*. 2016(7). doi:10.7717/peerj.2261.
- Campa-Córdova, A. I., León-Gallo, A. F., Romero-Maldonado, A., Ibarra-Serrano, A. C., Rosales-Mendoza, S., Hirono, I., & Angulo, C. (2017). Recombinant PirA-like toxin protects shrimp

- against challenge with *Vibrio parahaemolyticus*, the aetiological agent of acute hepatopancreatic necrosis disease. *Journal of Fish Diseases*, 40(11), 1725-1729. <https://doi.org/10.1111/jfd.12625>.
- Dong, X., Bi, D., Wang, H., Zou, P., Xie, G., Wan, X., Yang, Q., Zhu, Y., Chen, M., Guo, C., Liu, Z., Wang, W., & Huang, J. (2017). pirABvp-Bearing *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio campbellii* pathogens isolated from the Same AHPND-affected pond possess highly similar pathogenic plasmids. *Frontiers in Microbiology*, 8(OCT), 1-9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01859>.
- Ekawati, A. W., Nursyam, H., Widjayanto, E., & Marsoedi, M. (2012). Diatomae *Chaetoceros ceratosporum* dalam formula pakan meningkatkan respon imun seluler udang windu (*Penaeus monodon* Fab.). *The Journal of Experimental Life Sciences*, 2(1), 20-28. <https://doi.org/10.21776/ub.jels.2012.002.01.04>
- Gargioni, R., & Barracco, M. A. (1998). Hemocytes of the palaemonids *Macrobrachium rosenbergii* and *M. acanthurus*, and of the penaeid *Penaeus paulensis*. *Journal of Morphology*, 236(3), 209-221. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4687\(199806\)236:3<209::AID-JMOR4>3.0.CO;2-Y](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4687(199806)236:3<209::AID-JMOR4>3.0.CO;2-Y).
- Ghosh, C., Sarkar, P., Issa, R., & Haldar, J. (2019). Alternatives to Conventional Antibiotics in the Era of Antimicrobial Resistance. *Trends in Microbiology*, 27(4), 323-338. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2018.12.010>.
- Golkar, Z., Bagasra, O., & Gene Pace, D. (2014). Bacteriophage therapy: A potential solution for the antibiotic resistance crisis. *Journal of Infection in Developing Countries*, 8(2), 129-136. <https://doi.org/10.3855/jidc.3573>.
- Han, J. E., Tang, K. F. J., Tran, L. H., & Lightner, D. V. (2015). Phototransducing insect-related (Pir) toxin-like genes in a plasmid of *Vibrio parahaemolyticus*, the causative agent of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) of shrimp. *Diseases of Aquatic Organisms*, 113(1), 33-40. <https://doi.org/10.3354/dao02830>.
- Hapsari, A. W., Hutabarat, J., & Harwanto, D. (2020). Aplikasi komposisi filter yang berbeda terhadap kualitas air, pertumbuhan dan kelulushidupan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) pada sistem resirkulasi. *Sains Akuakultur Tropis*, 4(1), 39-50. <https://doi.org/10.14710/sat.v4i1.6437>.
- Hernández-López, J., Gollas-Galván, T., & Vargas-Albores, F. (1996). Activation of the prophenoloxidase system of the brown shrimp (*Penaeus californiensis* Holmes). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 113(1), 61-66. [https://doi.org/10.1016/0742-8413\(95\)02033-0](https://doi.org/10.1016/0742-8413(95)02033-0).
- Jannah, M. W., Hertika, A. M. S., Risjani, Y., & Inayati, W. (2025). Immune activity of vannamei shrimp (*Litopenaeus vannamei*) under ozonated and non-ozonated treatments. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, 11(2), 441-449. <https://doi.org/10.29303/jppipa.v11i2.9851>.
- 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>.

- Kumar, V., Bels, L. De, Couck, L., Baruah, K., & Bossier, P. (2019). Digestive tract and produce pathognomonic AHPND lesions in germ-free brine shrimp. *Toxins*, 11, 717. www.mdpi.com/journal/toxins.
- Kumar, V., Roy, S., Behera, B., & Das, B. K. (2021). Acute hepatopancreatic necrosis disease (Ahpnd): Virulence, pathogenesis and mitigation strategies in Shrimp aquaculture. *Toxins*, 13(8), 1-28. <https://doi.org/10.3390/toxins13080524>
- Kusumawati, N., & Wardani, A. K. (2023). Bacteriophages for biocontrol of biofilms in food system. *Tropical Microbiome*, 1(1), 47-72.
- Kropinski AM, Mazzocco A, Waddell TE, Lingohr E, Johnson RP. 2009. Enumeration of bacteriophages by double agar overlay plaque assay. *Methods Mol Biol*. 501:69-76. doi:10.1007/978-1-60327-164-6-7.
- Lee, B. H., Hsu, W. H., Chen, Y. Z., Hsu, K. T., & Pan, T. M. (2021). *Limosilactobacillus fermentum* swp-affs02 improves the growth and survival rate of white shrimp via regulating immunity and intestinal microbiota. *Fermentation*, 7(3). <https://doi.org/10.3390/fermentation7030179>.
- Li, P., Kinch, L. N., Ray, A., Dalia, A. B., Cong, Q., Nunan, L. M., Camilli, A., Grishin, N. V., Salomon, D., & Orth, K. (2017). Acute hepatopancreatic necrosis disease-causing *Vibrio parahaemolyticus* strains maintain an antibacterial type VI secretion system with versatile effector repertoires. *Applied and Environmental Microbiology*, 83(13), 1-17. <https://doi.org/10.1128/AEM.00737-17>.
- Ling, H., Lou, X., Luo, Q., He, Z., Sun, M., & Sun, J. (2022). Recent advances in bacteriophage-based therapeutics: Insight into the post-antibiotic era. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 12(12), 4348-4364. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2022.05.007>.
- Mahasri, G., Sari, P. D. W., & Prayogo. (2018). Immune response and parasitic infestation on Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in immuno-probio circulation system (SI-PBR) in ponds. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 137(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/137/1/012024>.
- Martin, G., & Graves, B. (1985). Structure and classification of shrimp haemocytes. *J Morfology. Journal of Morphology*, 185, 339-348.
- Muthukrishnan, S., Defoirdt, T., Ina-Salwany, M. Y., Yusoff, F. M., Shariff, M., Ismail, S. I., & Natrah, I. (2019). *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio harveyi* causing Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND) in *Penaeus vannamei* (Boone, 1931) isolated from Malaysian shrimp ponds. *Aquaculture*, 511(November 2018), 734227. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734227>.
- Nasution, A. S. I., Basuki, F., & Hastuti, S. (2014). Analisis kelulushidupan dan pertumbuhan benih ikan nila saline strain pandu (*Oreochromis niloticus*) yang di pelihara di Tambak Tugu, Semarang dengan kepadatan berbeda. *Journal of Aquaculture Management and Technology*, 3(2), 25-32. <http://ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/jfpik>
- Ni'mah, U., Pringgenies, D., & Santosa, G. W. (2021). Pengaruh Pemberian Ekstrak *Stichopus hermanni* Semper, 1868 (Stichopodidae, Holothuroidea) terhadap Jumlah Total Hemosit *Litopenaeus vannamei* Boone, 1931

- (Penaeidae, Crustacea). *Journal of Marine Research*, 10(3), 387-394. <https://doi.org/10.14710/jmr.v10i3.31112>.
- Palma, M., & Qi, B. (2024). Advancing Phage Therapy: A Comprehensive Review of the Safety, Efficacy, and Future Prospects for the Targeted Treatment of Bacterial Infections. *Infectious Disease Reports*, 16(6), 1127-1181. <https://doi.org/10.3390/idr16060092>
- Prastiti, L. A., Verdian, A. H., Oktavian, A., Nurul Fatimah, Kurnia Fathurohman, Qorie Astria, & Arif Faisal Siburian. (2023). Peningkatan respon imun udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) melalui kombinasi vitamin D3, mineral Ca Dan Mg pada pakan. *Jurnal Ilmu-Ilmu Perikanan Dan Budidaya Perairan*, 18(1), 14-24. <https://doi.org/10.31851/jipbp.v18i1.11326>.
- Rasul, M. N., Hossain, T., Sifat-un-nuri, Haider, M. N., Hossain, M. T., & Reza, M. S. (2025). Disease prevalence, usage of aquaculture medicinal products and their sustainable alternatives in freshwater aquaculture of North-Central Bangladesh. *Veterinary Medicine and Science*, 11(2). <https://doi.org/10.1002/vms3.70276>.
- Rayhan, M. Z., Rahman, M. A., Hossain, M. A., Akter, T., & Akter, T. (2018). Effect of stocking density on growth performance of monosex tilapia (*Oreochromis niloticus*) with Indian spinach (*Basella alba*) in a recirculating aquaponic system. *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology*, 3(2), 343-349. <https://doi.org/10.22161/ijeab/3.2.5>.
- Rodriguez, J., & Le Moullac, G. (2000). State of the art of immunological tools and health control of penaeid shrimp. *Aquaculture*, 191, 109-119.
- Rusadi, D., Wardiyanto, & Diantari, R. (2019). Treatment of vibriosis disease (*Vibrio harveyi*) in vaname shrimp (*Litopenaeus vannamei*, Boone 1931) using *Avicennia alba* leaves extract. *E-Jurnal Rekayasa Dan Teknologi Budidaya Perairan*, 8(1).
- Sam-on, M. F. S., Mustafa, S., Mohd Hashim, A., Wan Mustapha, W. A., Yusof, M. T., Mohd Zaini, N. A., & Mohamed Nazir, M. Y. (2025). Bibliometric mapping on the probiotic trends in managing aquaculture pathogens. *Food Bioscience*, 68(March), 106372. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2025.106372>.
- Sarida, M., & Harpeni, E. (2010). Screening of Potential Probiotic *Vibrio* sp. Against Vibriosis in the *Litopenaeus vannamei*. *Biosfera*, 27(2), 88-94.
- Siptiani, N. K. A., Lumbessy, S. Y., & Lestari, D. P. (2018). Pengaruh jenis probiotik komersial terhadap hemosit udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang dibudidayakan pada kolam bundar. *Samakia: Jurnal Ilmu Perikanan*, 9(1), 1-11.
- Tran, L., Nunan, L., Redman, R. M., Mohny, L. 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(1), 45-55. <https://doi.org/10.3354/dao02621>.
- Utami, W., Sarjito, & Desrina. (2016). Pengaruh salinitas terhadap efek infeksi *Vibrio harveyi* pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*).

- Journal of Aquaculture Management and Technology*, 5(1), 82-90. <https://ejournal3.undip.ac.id/index.php/jamt/article/view/10691p>.
- Verner-Jeffreys, D. W., Algoet, M., Pond, M. J., Virdee, H. K., Bagwell, N. J., & Roberts, E. G. (2007). Furunculosis in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) is not readily controllable by bacteriophage therapy. *Aquaculture*, 270(1-4), 475-484. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.05.023>.
- Vieira, A., Silva, Y. J., Cunha, Â., Gomes, N. C. M., Ackermann, H. W., & Almeida, A. (2012). Phage therapy to control multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* skin infections: In vitro and ex vivo experiments. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 31(11), 3241-3249. <https://doi.org/10.1007/s10096-012-1691-x>.
- Wang, Y., Barton, M., Elliott, L., Li, X., Abraham, S., O'Dea, M., & Munro, J. (2017). Bacteriophage therapy for the control of *Vibrio harveyi* in greenlip abalone (*Haliotis laevis*). *Aquaculture*, 473, 251-258. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.01.003>.
- Wangi, S. A. S., Nur, I., & Idris, M. (2019). Uji diferensial hemosit pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang dibudidayakan di sekitar area tambang. *Jurnal Media Akuatika*, 4(2), 77-81.
- Wigington, C. H., Sonderegger, D., Brussaard, C. P. D., Buchan, A., Finke, J. F., Fuhrman, J. A., Lennon, J. T., Middelboe, M., Suttle, C. A., Stock, C., Wilson, W. H., Wommack, K. E., Wilhelm, S. W., & Weitz, J. S. (2016). Re-examination of the relationship between marine virus and microbial cell abundances. *Nature Microbiology*, 1(3), 4-11. <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2015.24>.
- Xian, J. A., Zhang, X. X., Wang, D. M., Li, J. T., Zheng, P. H., & Lu, Y. P. (2017). Various cellular responses of different shrimp haemocyte subpopulations to lipopolysaccharide stimulation. *Fish and Shellfish Immunology*, 69, 195-199. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.08.025>.
- Yuhana, M., & Afiff, U. (2023). Mini-review: Utilization of *Vibrio parahaemolyticus* virulence coding genes for early detection of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND). *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 22(1), 87-96. <https://doi.org/10.19027/jai.22.1.87-96>.
- Zhang, R., Li, Y., Yan, W., Wang, Y., Cai, L., Luo, T., Li, H., Weinbauer, M. G., & Jiao, N. (2020). Viral control of biomass and diversity of bacterioplankton in the deep sea. *Communications Biology*, 3(1), 1-10. <https://doi.org/10.1038/s42003-020-0974-5>.