

Prosiding Seminar Nasional dalam Rangka Dies Natalis Ke-35
Politeknik Pertanian Negeri Pangkajene Kepulauan.
“Smart Agriculture In Providing Food To Prevent Stunting”
Pangkep, 11 Oktober 2023

Mortalitas Dan Gejala Klinis Udang Windu (*Penaeus modonon*) Pra Dan Pasca Infeksi White Spot Syndrome Virus (WSSV) Yang Diberi Pakan Dengan Pelapisan Ekstrak Daun Miana (*Coleus scutellarioides*)

Mortality and clinical symptoms of tiger prawns (*Penaeus modonon*) pre and post infection with White Spot Syndrome Virus (WSSV) fed with a coating of miana leaf extract (*Coleus scutellarioides*)

Keky Febriani¹, Buana Basir^{2*}, Frida Alifia², Heriansah³

¹Mahasiswa Program Studi Budidaya Perairan, Institut Teknologi dan Bisnis Maritim Balik Diwa

² Program Studi Budidaya Perairan, Institut Teknologi dan Bisnis Maritim Balik Diwa

³ Program Studi Sumber Daya Akuatik, Institut Teknologi dan Bisnis Maritim Balik Diwa

*Korespondensi: dina.buana7475@gmail.com

Abstrak

Ekstrak daun miana (*Coleus scutelarioides*) telah digunakan sebagai antivirus, namun efek penggunaan untuk pencegahan virus *White Spot Syndrome Virus (WSSV)* belum diketahui. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui mortalitas dan gejala klinis udang windu (*Penaeus monodon*) yang diberi pakan dengan pelapisan ekstrak daun miana pra dan pasca infeksi *WSSV*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin pada bulan Juni sampai Agustus 2023. Selama masa pemeliharaan 25 hari (pra infeksi) dan 5 hari (pasca infeksi), udang windu diberi lima tipe pakan perlakuan konsentrasi pelapisan yang berbeda. Analisis ragam menunjukkan bahwa pelapisan ekstrak daun miana pada pakan tidak berpengaruh signifikan ($p>0,05$) terhadap mortalitas udang windu pra infeksi, namun pada pasca infeksi berpengaruh signifikan ($P<0,05$). Uji Tukey HSD untuk pasca infeksi mengindikasikan bahwa mortalitas terendah pada konsentrasi pelapisan $750 \mu\text{g}/\text{mg}$ (33,3%) secara signifikan lebih rendah dibandingkan konsentrasi $125 \mu\text{g}/\text{mg}$ (60,0%), $250 \mu\text{g}/\text{mg}$ (60,0%), dan tanpa pelapisan (93,3%), namun tidak berbeda signifikan dengan konsentrasi $500 \mu\text{g}/\text{mg}$ (46,7%). Pengamatan gejala klinis pasca infeksi menunjukkan infeksi tingkat berat pada perlakuan kontrol serta konsentrasi $125 \mu\text{g}/\text{mg}$ dan $250 \mu\text{g}/\text{mg}$, infeksi sedang pada konsentrasi $500 \mu\text{g}/\text{mg}$, dan infeksi ringan pada konsentrasi $750 \mu\text{g}/\text{mg}$. Secara umum, mortalitas yang lebih rendah dan gejala klinis yang lebih ringan diperoleh pada perlakuan yang diberi pakan dengan pelapisan ekstrak daun miana.

Kata Kunci: ekstrak daun miana, pelapisan pakan, udang windu, mortalitas, gejala klinis

Abstract

Miana leaf extract (*Coleus scutellarioides*) has been used as an anti-virus, but the effect of using it to prevent the *White Spot Syndrome Virus (WSSV)* virus is not yet known. This study aimed to determine the mortality and clinical symptoms of tiger prawns (*Penaeus monodon*) fed a coating of miana leaf extract before and after *WSSV* infection. This research was conducted at the Laboratory of the Faculty of Marine and Fisheries Sciences, Hasanuddin University, from June to August 2023. During the maintenance period of 25 days (pre-infection) and 5 days (post-infection), tiger prawns were fed five types of feed treated with different coating concentrations. Analysis of variance showed that coating feed with miana leaf extract had no significant effect ($p>0.05$) on tiger prawn mortality pre-infection, but post-infection had a significant effect ($P<0.05$). The Tukey HSD test for post-infection indicated that the lowest mortality at a coating concentration of $750 \mu\text{g}/\text{mg}$ (33.3%) was significantly lower than that at concentrations of $125 \mu\text{g}/\text{mg}$ (60.0%), $250 \mu\text{g}/\text{mg}$ (60.0%), and without coating (93.3%), but not significantly different from a concentration of $500 \mu\text{g}/\text{mg}$ (46.7%). Observation of post-infection clinical symptoms revealed severe infection in the control treatment at concentrations of 125 and $250 \mu\text{g}/\text{mg}$, moderate infection at a concentration of $500 \mu\text{g}/\text{mg}$, and mild infection at a concentration of $750 \mu\text{g}/\text{mg}$. In general, lower mortality and milder clinical symptoms were obtained in treatments fed with miana leaf extract coating.

Keywords: clinical symptom, feed coating, miana leaf extract, mortality, tiger prawns

PENDAHULUAN

Penyakit bintik putih atau *White Spot Disease (WSD)* merupakan penyakit virus berbahaya yang disebabkan oleh *White Spot Syndrome Virus (WSSV)* dan menginfeksi banyak spesies krustasea, termasuk udang windu (*Penaeus monodon*) (Parenrengi et al., 2022). Patogen virus ini telah menyebar secara meluas yang menyebabkan kerugian finansial pada budidaya udang selama beberapa dekade terakhir (Megahed, 2019). Virus ini diperkirakan telah menyebar ke berbagai tambak udang di seluruh Indonesia sejak tahun 1994 (Lastritiani et al., 2017). Sejak pertama kali mewabah, WSSV telah menjadi penyebab utama kematian udang windu (Parenrengi et al., 2022). WSSV dapat menyebabkan kematian secara massal (100%) hanya dalam beberapa hari setelah timbulnya gejala klinis (Zhang et al., 2016).

Metode antibiotik, vaksinasi, dan imunostimulan telah dikembangkan sebagai upaya untuk mencegah infeksi WSSV. Namun, beberapa metode ini dalam perkembangannya mendapatkan tantangan dan permasalahan. Penggunaan bahan antibiotik selain mahal juga dapat menimbulkan resistensi patogen dan akumulasi residu (Thornber et al., 2020). Sementara itu, metode vaksinasi membutuhkan biaya yang sangat mahal dan aplikasinya ke setiap individu cukup sulit (Kumar et al., 2023). Oleh karena itu, imunostimulan dianggap pilihan yang tepat untuk menangani infeksi WSSV karena efektif meningkatkan sistem kekebalan bawaan (non-spesifik) (Barman et al., 2013) serta berbiaya murah dan tidak menghasilkan residu beracun (Kumar et al., 2023).

Senyawa dari daun miana (*Coleus scutellarioides*) sangat potensial sebagai imunostimulan (Gautam et al., 2023). Spesies tanaman herbal ini dengan nama lokal Jawer Kotok dan Iler (Mahata et al., 2022) dan disinonimkan dengan spesies *Plectranthus scutellarioides*, *Coleus blumei*, dan *Plectranthus blumei* (Astuti et al., 2019). Daun tanaman ini banyak digunakan untuk pengobatan tradisional (Hematian et al., 2023) sehingga termasuk dalam 66 komoditas tanaman obat berdasarkan Keputusan Menteri Pertanian Republik Indonesia Nomor 104 Tahun 2020. Senyawa fitokimia dan fungsional yang berbeda, seperti alkaloid, flavonoid, terpenoid, saponin, dan tanin telah ditemukan pada daun tanaman ini (Pakadang et al., 2022).

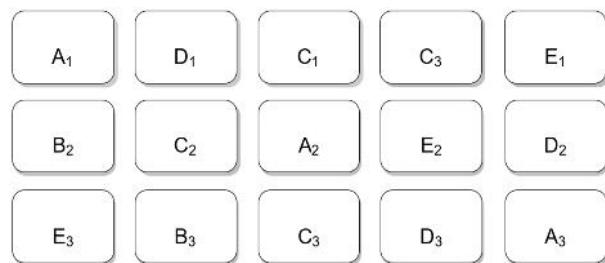
Tanaman miana secara historis telah diketahui bersifat antimikroba, antijamur, antibakteri, dan antioksidan (Bismelah et al., 2022; Hematian et al., 2023; Mahata et al., 2022). Ekstrak daun miana terbukti dapat menjadi alternatif pengobatan udang vaname yang terinfeksi *Vibrio* sp. melalui metode perendaman (Basir et al., 2023). Namun, saat ini belum ada informasi ilmiah pemanfaatan ekstrak daun miana untuk pencegahan WSSV pada udang windu bila diberikan melalui pakan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pelapisan ekstrak daun miana ke dalam pakan terhadap mortalitas udang windu pada pra dan pasca infeksi WSSV.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni sampai Agustus 2023 di Laboratorium Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin. Peralatan penelitian yang digunakan meliputi blender, ayakan, gelas ukur, spatula, evaporator, spray, sentrifus, filter holder, syringe, mikrotube, freezer, bak plastik, peralatan aerasi, sputit, dan water quality meter 5 in 1 AZ 86031. Sementara itu, bahan penelitian yang digunakan antara lain daun miana, etanol 96%, kertas saring, pakan komersil, pelarut dimetil sulfoksida (MDSO), isolat WSSV, air laut, dan air payau. Penelitian ini menggunakan 5 kelompok perlakuan dengan 3 ulangan. Perlakuan penelitian adalah dosis pelapisan (coating) ekstrak daun miana pada pakan (Tabel 1). Penelitian didesain melalui Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tata letak unit perlakuan disajikan pada Gambar 1.

Tabel 1. Perlakuan penelitian

Perlakuan	Dosis pelapisan ekstrak daun miana
A	0 µg/mg (kontrol)
B	125 µg/mg
C	250 µg/mg
D	500 µg/mg
E	750 µg/mg



Gambar 1. Ilustrasi tata letak unit perlakuan

Penelitian dilaksanakan melalui beberapa tahapan, antara lain tahap ekstraksi daun miana, pembuatan pakan perlakuan, pemeliharaan pra infeksi, isolat, penyediaan inokulum, injeksi, dan pemeliharaan pasca infeksi WSSV. Prosedur masing-masing tahapan sebagai berikut :

1. Ekstraksi daun miana

Daun miana *Coleus scutellarioides* dicuci dan dikering-anginkan selama 1 minggu, kemudian diblender dan ditapis (100 mesh) menjadi tepung. Ekstraksi metode maserasi mengikuti prosedur Basir et al. (2023). Tepung daun miana dilarutkan dengan etanol 96% (1:5) dan diaduk 10 menit. Larutan selanjutnya disimpan 24 jam menggunakan aluminium foil. Setelah itu, filtrat dan endapan dipisahkan menggunakan kertas saring dan disimpan di labu erlenmeyer sebagai filtrat pertama. Endapan filtrasi pertama dilarutkan kembali dengan etanol untuk mendapatkan filtrat kedua, selanjutnya dengan prosuder yang sama dilakukan untuk mendapatkan filtrat ketiga. Filtrat pertama, kedua, dan ketiga selanjutnya dicampur dan diuapkan di rotary evaporator (suhu 40°C) untuk mendapatkan ekstrak pekat dan selanjutnya disimpan pada suhu 15°C.

2. Pembuatan pakan perlakuan

Pakan udang yang digunakan adalah pakan pellet komersil (protein 40%, lemak 5%, serat kasar 3%, abu 15%, dan kadar air 10%). Pellet terlebih dahulu dibuat dalam bentuk remahan secara manual. Ekstrak daun miana sebelum ditambahkan ke pakan, terlebih dahulu diencerkan dengan pelarut MDSO (dosis 10%). Selanjutnya, ekstrak tersebut disemprotkan sesuai dosis perlakuan dan direkatkan dengan booster progorl. Pakan yang telah ditambahkan ekstrak daun miana kemudian dikering-anginkan dan disimpan dalam freezer.

3. Pemeliharaan pra infeksi

Boks plastik volume 35 L disiapkan 15 buah untuk pemeliharaan pra infeksi. Juvenile udang windu (bobot awal $4,1 \pm 0,1$ g) diperoleh dari unit pertambangan tradisional di Kabupaten Maros. Adaptasi dilakukan 3 hari dengan pemberian pakan komersil (pakan kontrol) 3 kali sehari. Selanjutnya wadah diisi air laut steril 25 L (salinitas 25 ppt) dan ditebari udang 15 ekor per wadah. Selama 25 hari pemeliharaan, pakan perlakuan diberikan 3 kali sehari (pukul 07.00, 13.00, dan 19.00 WITA) dengan *feeding rate* 8%. Sisa pakan dan feses disipon setiap hari pada setiap wadah dan aerasi dijalankan secara terus menerus selama pemeliharaan. Selama pemeliharaan pra infeksi dilakukan pengamatan dan pencatatan jumlah udang yang mati.

4. Isolat, penyediaan inokulum, dan injeksi WSSV

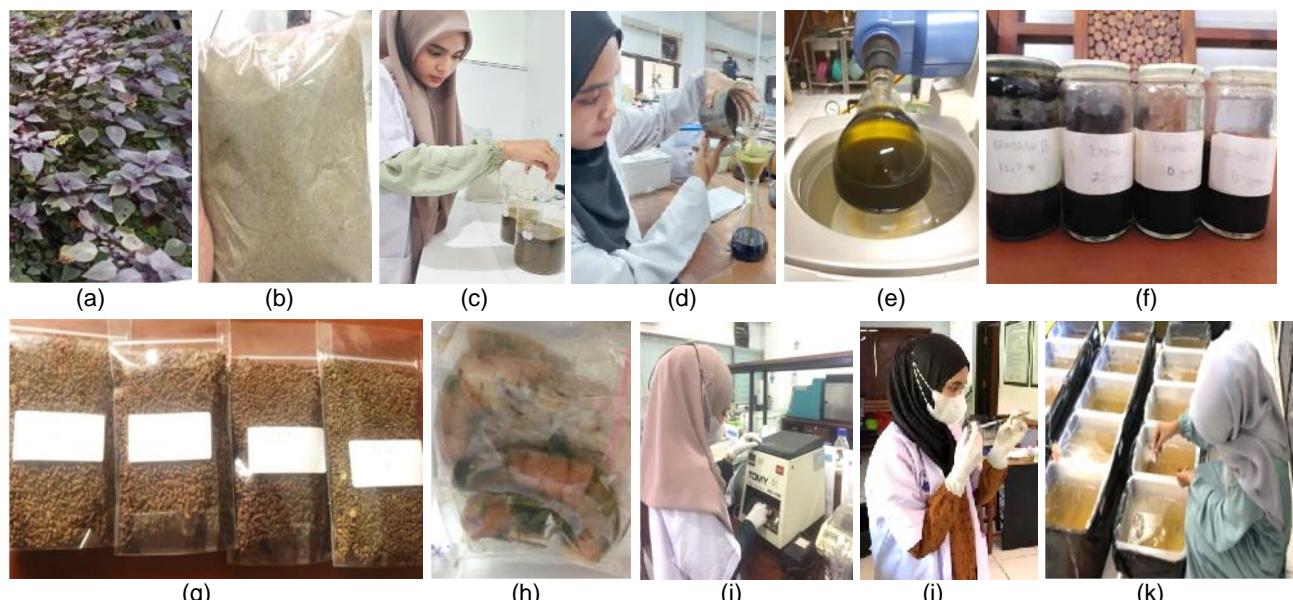
Isolat dan penyediaan inokulum WSSV dilakukan berdasarkan petunjuk Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara sebagai berikut :

- 1 g insang dan kaki renang udang yang terinfeksi WSSV digerus sampai halus dan dilarutkan ke dalam 9 mL air laut steril (salinitas 30 ppt)

- b. Larutan kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 5 menit
- c. Supernatan yang diperoleh dipindahkan ke dalam mikrotube dan disentrifugasi kembali dengan kecepatan dan waktu yang sama dengan sentrifugasi sebelumnya
- d. Supernatan berikut disaring dengan *miliphore* 0,45 µm menggunakan *filter holder* dan *syringe*
- e. Supernatan hasil saringan (inokulum WSSV) kemudian simpan ke mikrotube
- f. Inokulum WSSV sebanyak 0,1 mL diinfeksikan ke udang melalui proses injeksi pada jalur intramuskular di ruas kedua abdomen (Parenrengi et al., 2022).
- g. Injeksi dilakukan di hari ke-25 pemeliharaan pra injeksi secara hati-hati pada 5 ekor sampel udang (berat rata-rata $6,5 \pm 0,1$ g) untuk setiap unit perlakuan.

5. Pemeliharaan pasca infeksi

Persiapan untuk pemeliharaan pasca infeksi sama dengan persiapan pada pemeliharaan pra infeksi. Udang windu yang telah diinjeksi dipelihara selama 7 hari (kepadatan 5 ekor per wadah) dengan metode pemeliharaan yang sama dengan pemeliharaan pra infeksi. Selama pemeliharaan pasca infeksi juga dilakukan pengamatan dan pencatatan jumlah udang yang mati.



Gambar 2. Dokumentasi penelitian: (a) tanaman miana *C. scutellarioides*, (b) tepung daun miana, (c) pelarutan tepung, (d) penyaringan larutan, (e) penguapan filtrat, (f) penyimpanan hasil ekstrak, (g) pakan perlakuan, (h) isolat WSSV, (i) sentrifugasi, (j) injeksi WSSV, dan (k) pemberian pakan perlakuan

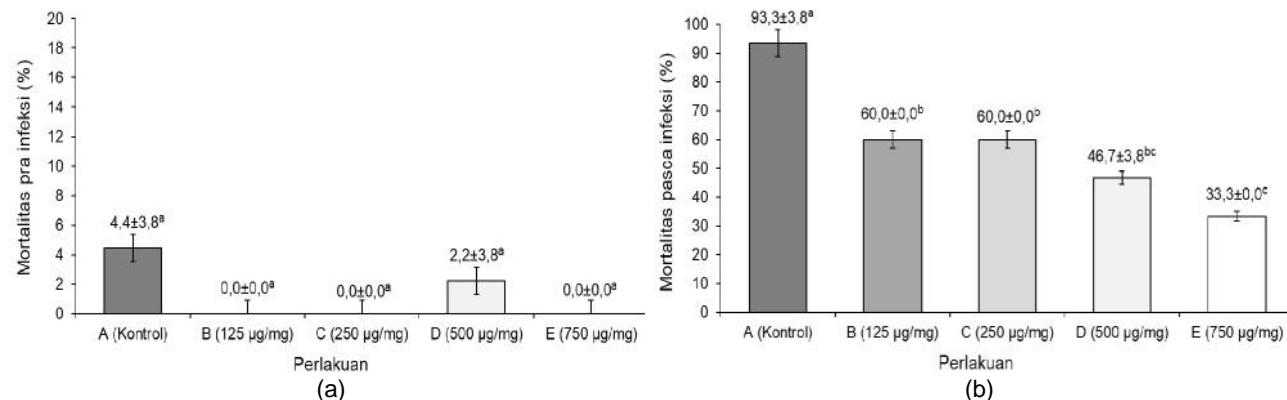
Setiap udang windu yang ditemukan mati dicatat secara harian, baik pada pra maupun pasca infeksi sebagai data untuk menentukan mortalitas. Mortalitas dihitung dengan mengikuti formula yang digunakan (Nursal et al., 2016) sebagai berikut :

$$\text{Mortalitas (\%)} = \frac{\text{Jumlah udang yang mati}}{\text{Jumlah udang awal pemeliharaan}} \times 100\%$$

Pengamatan gejala klinis dilakukan dengan mengamati morfologi udang windu pasca infeksi. Sampel yang ditetapkan untuk pengamatan gejala klinis adalah udang yang teramati pertama kali terinfeksi WSSV. Data mortalitas dianalisis secara statistik menggunakan analisis ragam (IBM SPSS Statistics V-25) untuk mengetahui pengaruh dosis ekstrak daun miana terhadap mortalitas udang, sedangkan data gejala klinis dianalisis secara dekriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Mortalitas udang windu yang diamati pada penelitian ini dibagi menjadi dua fase pemeliharaan, yaitu fase pra infeksi WSSV selama 25 hari pemeliharaan dan fase pasca infeksi selama 7 hari pemeliharaan sebagaimana tersaji pada Gambar 3.



Keterangan: Angka yang diikuti huruf superskrip yang sama mengindikasikan perbedaan yang tidak signifikan dan huruf superskrip yang berbeda mengindikasikan perbedaan yang signifikan berdasarkan hasil uji Anova ($\alpha = 0,05$)

Gambar 3. Mortalitas udang windu: (a) pra infeksi WSSV, (b) pasca infeksi WSSV

Gambar 3a menunjukkan jumlah udang windu yang mati selama fase pra infeksi WSSV relatif tinggi dan tidak menunjukkan variasi yang lebar antar perlakuan. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa dosis pelapisan ekstrak daun miana pada pakan tidak berpengaruh signifikan ($P>0,05$) terhadap tingkat mortalitas udang windu pada fase pra infeksi. Mortalitas yang berbeda diperoleh pada fase pasca infeksi, jumlah udang yang mati sangat tinggi dan terdapat variasi yang lebar antara perlakuan, terutama antara perlakuan yang diberi pakan yang dilapisi ekstrak dengan perlakuan tanpa pelapisan ekstrak daun miana (Gambar 3b). Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa penambahan ekstrak daun miana pada pakan berpengaruh signifikan ($p<0,05$) terhadap mortalitas udang windu pasca infeksi WSSV. Uji lanjut Tukey HSD mengindikasikan bahwa pelapisan ekstrak daun miana pada pakan (dosis 125, 250, 500, dan 750 µg/mg) menghasilkan mortalitas yang lebih rendah secara signifikan ($P<0,05$) dibandingkan tanpa pelapisan (kontrol). Sementara itu, untuk perlakuan yang diberi ekstrak daun miana, mortalitas yang diperoleh pada dosis 750 µg/mg secara signifikan lebih rendah dibandingkan dosis 125 dan 250 µg/mg, namun tidak berbeda signifikan dengan dosis 500 µg/mg.

Beberapa peneliti sebelumnya mengidentifikasi bahwa ekstrak daun miana dengan larutan etanol positif mengandung alkaloid, flavonoid, terpenoid, saponin, dan tanin (Kubinova et al., 2019; Pakadang et al., 2022). Senyawa aktif alkaloid, saponin, dan tanin pada tanaman miana dilaporkan bersifat antinutrisi pada dosis tertentu (Mahata et al., 2022). Sementara itu, Jayanegara et al. (2019) menyebutkan bahwa zat anti nutrisi dapat bersifat toksik dan mematikan pada dosis tinggi, namun bersifat antioksidan, antibakteri, antivirus, dan antikanker pada dosis rendah. Studi Basir et al. (2020) melaporkan dosis ekstrak daun miana dibawah 1.250 µg/mL dinilai aman untuk udang vanamei yang terpapar *Vibrio* sp. Pada jenis tanaman lain, Nursal et al. (2016) menguji toksitas ekstrak kulit batang rengas (*Gluta renghas*) yang mengandung flavonoid, terpenoid dan alkaloid, hasilnya menunjukkan bahwa konsentrasi dibawah 1.000 ppm menghasilkan mortalitas larva udang dibawah 50%.

Berdasarkan referensi dapat disebutkan bahwa efek positif atau efek negatif dari zat antinutrisi sangat tergantung pada dosisnya. Pada penelitian ini, mortalitas udang windu pada fase pra infeksi dibawah 10%, baik perlakuan tanpa pelapisan maupun dengan pelapisan ekstrak daun miana pada pakan. Jika dikaitkan dengan mortalitas udang windu fase pra infeksi, dapat dinyatakan bahwa pelapisan ekstrak daun miana pada pakan sampai pada dosis 750 µg/mg nampaknya tidak memicu kematian udang windu. Temuan penelitian ini semakin menguatkan bahwa penggunaan bahan alami yang mengandung zat antinutrisi, seperti alkaloid,

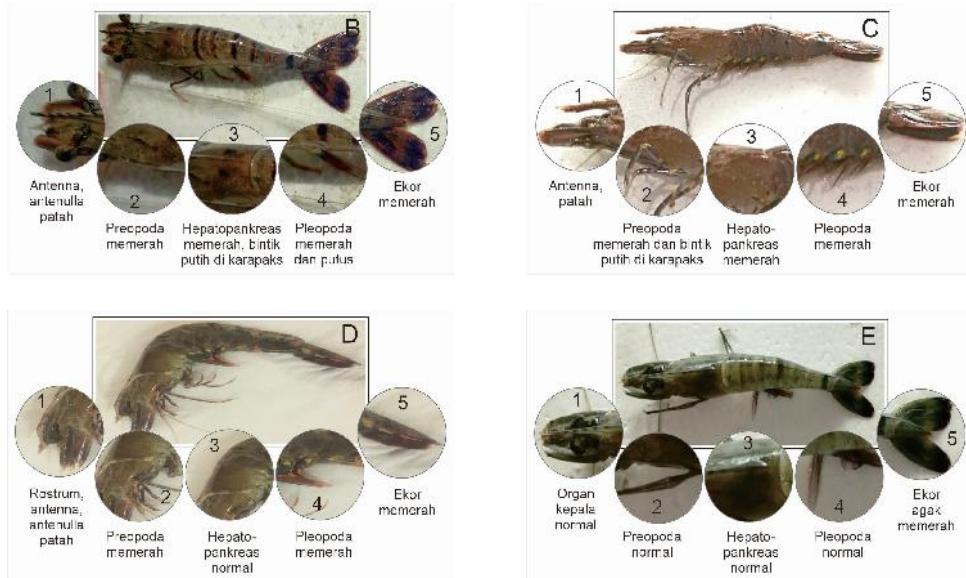
flavonoid, terpenoid, saponin, dan tanin pada konsentrasi rendah tidak memicu kematian organisme akuatik, termasuk udang windu. Kematian udang windu pada penelitian ini, diamati terjadi pada udang yang sedang ganti kulit (*moultling*) dengan ditemukan cangkang hasil ganti kulit dan bekas pemangsaan pada bagian tubuh udang windu (bagian perut) yang mati.

Udang penaeid, termasuk udang windu umumnya sangat rentan terhadap WSSV (Kim et al., 2023) dan diketahui hanya memiliki respon imun bawaan non-spesifik (Balasubramanian et al., 2008). Mortalitas udang dapat mencapai 90% dalam waktu 3-10 hari setelah terinfeksi WSSV (Muliani & Susianingsih, 2018; Zheng et al., 2019), bahkan dapat memicu kematian massal (Debnath et al., 2014; Zhang et al., 2016). Oleh karena itu, beberapa peneliti telah mengeksplorasi berbagai bahan ekstrak tanaman sebagai imunostimulan udang windu. Ekstrak tanaman herbal yang dicampur pada pakan dapat menurunkan mortalitas sampai 36% (Citarasu et al., 2006). Injeksi ekstrak daun mangrove menghasilkan mortalitas 40–60% (Muliani & Susianingsih, 2018). Hasil pada penelitian ini, mortalitas udang windu yang diinfeksi WSSV dan diberikan pakan yang dilapisi ekstrak daun miana menghasilkan mortalitas 33,3–60,0%, namun mortalitas mencapai 93,3% diamati terjadi pada udang windu yang tidak diberikan pakan ekstrak daun miana. Secara umum, pada fase pasca infeksi WSSV terdapat kecenderungan semakin tinggi dosis pelapisan ekstrak daun miana pada pakan, semakin rendah mortalitas udang windu.

Seperti telah disebutkan sebelumnya bahwa senyawa metabolit flavonoid dideteksi pada daun miana. Aktivitas antivirus senyawa ini diketahui dapat menghambat enzim phospholipase sehingga proses replikasi virus terhambat, bahkan virus menjadi lemah (non-virulen) (Wahjuningrum et al., 2006). Selain itu, Pakadang et al. (2022) melaporkan ekstrak daun miana *C. cutellarioides* dapat meningkatkan proliferasi limfosit yang dapat menghasilkan antibodi (Barman et al., 2013). Berdasarkan referensi ini, diduga bahwa WSSV menjadi lemah dan tidak berkembang biak pada udang yang diberi pakan ekstrak daun miana. Udang windu yang mengkonsumsi pakan dengan tambahan ekstrak daun miana juga diduga meningkatkan limfosit sehingga meningkatkan respon imun terhadap serangan WSSV. Namun, bagaimana mekanisme pertahanan dan proteksi udang windu serta mekanisme senyawa metabolit bekerja perlu diteliti lebih mendalam untuk memahami sifat stimulasi imun dari ekstrak daun miana terhadap WSSV.

Udang yang mati pasca infeksi diamati sesuai dengan gejala klinis yang umum terlihat pada udang yang terserang WSSV, seperti muncul bercak-bercak putih pada karapaks serta pleopoda, perubahan warna hepatopankreas, dan telson memerah (Megahed, 2019; Wahjuningrum et al., 2006). Sementara itu, udang yang masih hidup diamati tetap terinfeksi WSSV dengan gejala klinis yang ringan. Gambar 4 menunjukkan perbedaan yang kontras pada gejala klinis antara udang windu normal dengan udang windu yang terinfeksi WSSV pada lima bagian tubuh yang diamati, antara lain bagian kepala, preopoda, hepatopankreas, pleopoda, dan bagian ekor. Selain itu, perbedaan kontras gejala klinis pada lima bagian tubuh tersebut juga terlihat antara udang yang tidak diberi pakan pelapisan ekstrak daun miana dengan udang yang diberi pakan pelapisan ekstrak daun miana.





Gambar 4. Kondisi udang windu yang normal dan gejala klinis udang windu pasca infeksi WSSV setiap perlakuan

Gejala klinis WSSV diamati terjadi lebih awal pada udang yang tidak diberi pakan mengandung ekstrak daun miana. Lima bagian tubuh yang diamati, yaitu bagian kepala, preopoda, hepatopankreas, pleopoda, dan bagian ekor mengalami perubahan warna menjadi kemerahan dan ditemukan bintik putih menyebar di karapaks. Selain itu, gejala klinis WSSV masih ditemukan pada udang yang diberi pakan ekstrak daun miana. Namun, semakin tinggi dosis ekstrak daun miana, semakin sedikit gejala klinis yang ditemukan pada udang. Waktu kemunculan gejala klinis juga berbeda, semakin tinggi dosis pelapisan ekstrak daun miana, semakin lambat memunculkan gejala klinis. Mengacu pada Amrillah *et al.* (2015), gejala klinis yang terjadi pada udang yang tidak diberi pakan ekstrak daun miana tergolong infeksi berat, sementara itu udang yang tidak diberi pakan ekstrak daun miana tergolong infeksi sedang dan ringan.

Gejala klinis yang diamati pada penelitian esuai dengan ciri gejala klinis serangan WSSV yang dilaporkan oleh beberapa studi sebelumnya (Megahed, 2019; Wahjuningrum *et al.*, 2006; Widanarni *et al.*, 2019; Wiradana *et al.*, 2019). Organ target WSSV adalah jaringan yang berasal dari epidermis dan mesodermal, seperti insang, limfoid dan epithelium kutikular (Wahjuningrum *et al.*, 2006). Widanarni *et al.* (2019) menjelaskan bahwa terjadinya perubahan warna WSSV disebabkan oleh rusaknya jaringan kutikular kromatofora dan adanya bintik putih disebabkan oleh abnormalitas deposit garam kalsium pada epitel kutikular. Udang windu yang diberi pakan dengan tambahan ekstrak daun miana pada penelitian ini nampaknya mampu memberikan mekanisme pertahanan dan proteksi yang lebih baik terhadap infeksi WSSV.

KESIMPULAN

Dosis pelapisan ekstrak daun miana (*C. scutellarioides*) pada pakan tidak berpengaruh signifikan terhadap mortalitas udang windu (*P. monodon*) pada pra infeksi WSSV. Namun, pada pasca infeksi WSSV, dosis pelapisan berpengaruh signifikan terhadap mortalitas. Pakan yang dilapisi ekstrak daun miana menghasilkan mortalitas yang secara signifikan lebih rendah dibandingkan tanpa pelapisan. Gejala klinis udang yang diinfeksi WSSV cenderung lebih ringan seiring dengan penambahan dosis pelapisan ekstrak daun miana. Perlu memperkuat hasil pada penelitian ini untuk memahami sifat stimulasi imun dari ekstrak daun miana terhadap WSSV.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada pimpinan dan laboran Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan serta Laboratorium Pemberian Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan (FIKP) Universitas Hasanuddin yang telah menfasilitasi tempat penelitian. Penulis juga mengapresiasi seluruh pihak yang telah berkontribusi dalam penyusunan dan publikasi artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Astuti, A. D., Yasir, B., Subehan, & Alam, G. (2019). Comparison of two varieties of *Plectranthus scutellarioides* based on extraction method, phytochemical compound, and cytotoxicity. *J. of Physics: Conference Series*, 1341(7). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1341/7/072012>.
- Amrillah A. M., Widayati, S., & Kilawati Y. (2015). Dampak stres salinitas terhadap prevalensi White Spot Syndrome Virus (WSSV) dan survival rate udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) pada kondisi terkontrol. *Research Journal of Life Science*, 2 (1).
- Balasubramanian, G., Sarathi, M., Venkatesan, C., Thomas, J., & Hameed, A. S. S. (2008). Oral administration of antiviral plant extract of *Cynodon dactylon* on a large scale production against White Spot Syndrome Virus (WSSV) in *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, 279, 2–5. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.03.052>.
- Barman, D., Nen, P., Mandal, S. C., & Kumar, V. (2013). Immunostimulants for aquaculture health management. *Journal of Marine Science: Research & Development*, 3(3), 1–11.
- Basir, B., Halimah, H., & Kariyanti, K. (2023). Patogenitas dan pengendalian infeksi vibrio sp pada udang vaname menggunakan ekstrak daun miana (*Coleus scutellarioides* (L) Benth). *Musamus Fisheries and Marine Journal*, 5(2), 9–16. <https://doi.org/10.35724/mfmj.v5i2.5458>.
- Basir, B., Isnansetyo, A., Istiqomah, I., Bin, F., & Jabbar, A. (2020). Toksisitas daun miana (*Coleus scutellarioides* (L) Benth) sebagai antibakteri pada udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*). *SIGANUS: Journal of Fisheries and Marine Science*, 2(1).
- Bismelah, N. A., Ahmad, R., Mohamed Kassim, Z. H., Ismail, N. H., & Rasol, N. E. (2022). The antibacterial effect of *Plectranthus scutellarioides* (L.) R.Br. leaves extract against bacteria associated with peri-implantitis. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 12(6), 556–566. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2022.07.002>.
- Citarasu, T., Sivaram, V., Immanuel, G., Rout, N., & Murugan, V. (2006). Influence of selected Indian immunostimulant herbs against White Spot Syndrome Virus (WSSV) infection in black tiger shrimp, *Penaeus monodon* with reference to haematological, biochemical and immunological changes. *Fish and Shellfish Immunology*, 21(4), 372–384. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2006.01.002>.
- Debnath, P., Karim, M., & Belton, B. (2014). Comparative study of the reproductive performance and White Spot Syndrome Virus (WSSV) status of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) collected from the Bay of Bengal. *Aquaculture*, 424–425, 71–77. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.12.036>.
- Gautam, S., Qureshi, K. A., Jameel Pasha, S. B., Dhanasekaran, S., Aspatwar, A., Parkkila, S., Alanazi, S., Atiya, A., Khan, M. M. U., & Venugopal, D. (2023). Medicinal plants as therapeutic alternatives to combat *Mycobacterium tuberculosis*: A comprehensive review. *Antibiotics*, 12(541), 1–18. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12030541>.
- Hematian, F., Baghaei, H., Mohammadi Nafchi, A., & Bolandi, M. (2023). Preparation and characterization of an intelligent film based on fish gelatin and *Coleus scutellarioides*

- anthocyanin to monitor the freshness of rainbow trout fish fillet. *Food Science and Nutrition*, 11(1), 379–389. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3068>.
- Jayanegara, A., Ridla, M., Laconi, E. B., & Nahrowi. (2019). *Antinutrisi pada pakan*. IPB Press Bogor.
- Kim, M. J., Kim, J. O., Jang, G. Il, Kwon, M. G., & Kim, K. Il. (2023). Evaluation of the horizontal transmission of White Spot Syndrome Virus for whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) based on the disease severity grade and viral shedding rate. *Animals*, 13(10), 1–20. <https://doi.org/10.3390/ani13101676>.
- Kubínová, R., Gazdová, M., Hanáková, Z., Jurkaninová, S., Dall'Acqua, S., Cva ka, J., & Humpa, O. (2019). New diterpenoid glucoside and flavonoids from *Plectranthus scutellarioides* (L.) R. Br. *South African Journal of Botany*, 120, 286–290. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.08.023>.
- Kumar, S., Verma, A. K., Singh, S. P., & Awasthi, A. (2023). Immunostimulants for shrimp aquaculture: paving pathway towards shrimp sustainability. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(10), 25325–25343. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-18433-y>.
- Lastritiani, R., Desrina, & Sarjito. (2017). Keberadaan White Spot Syndrome Virus (WSSV) pada udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) di Pertambakan Kota Pekalongan. *Journal of Aquaculture Management and Technology*, 6(3), 276–283.
- Mahata, M. E., Weni, M., Gusnanda, Y., Ohnuma, T., & Rizal, Y. (2022). The Effects of dietary inclusion of Miana plant flour (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R. Br. on serum lipid profile and organ weights of broiler chickens. *World's Veterinary Journal*, 12(1), 43–50. <https://doi.org/10.54203/scil.2022.wvj6>.
- Megahed, M. E. (2019). A comparison of the severity of white spot disease in cultured shrimp (*Fenneropenaeus indicus*) at a farm level in Egypt I-Molecular, histopathological and field observations. *Egyptian Journal of Aquatic Biology & Fisheries*, 23(2), 613–637.
- Muliani, M., & Susianingsih, E. (2018). The effectiveness of methanol extract and fractinations from leaves of mangrove *Sonneratia alba* and *Bruguiera gymnorhiza* for the prevention of White Spot Syndrome Virus (WSSV) infection in black tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 17(1), 43. <https://doi.org/10.19027/jai.17.1.43-52>.
- Nursal, Wulandari, S., & Rio, S. (2016). Uji toksisitas ekstrak kulit batang rengas (*Gluta renghas*) terhadap larva udang Artemia salina. *Jurnal Biogenesis*, 13(1), 11–18.
- Pakadang, S. R., Ratnah, S., Salasa, A. M., Jumain, & Hatta, M. (2022). Toll Like Receptor 4 expression profile in mice infected mycobacterium tuberculosis given with miana leaves extract (*Coleus scutellarioides* (L.) Benth) (Tuberculosis preventive and curative mechanisms). *Pharmacognosy Journal*, 14(3), 497–505. <https://doi.org/10.5530/pj.2022.14.63>
- Parenrengi, A., Tenriulo, A., Suryati, E., Rosmiati, R., Lante, S., Azis, A. A., & Alimuddin, A. (2022). Application of dsRNA VP15-WSSV by oral vaccination to increase survival rate and response immunes of tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Indian Journal of Animal Research*, 56(7), 893–898. <https://doi.org/10.18805/IJAR.BF-1460>.
- Thornber, K., Verner-Jeffreys, D., Hinchliffe, S., Rahman, M. M., Bass, D., & Tyler, C. R. (2020). Evaluating antimicrobial resistance in the global shrimp industry. *Reviews in Aquaculture*, 12(2), 966–986. <https://doi.org/10.1111/raq.12367>.
- Wahjuningrum, D., Sholeh, S. H., & Nuryati, S. (2006). Prevention of White Spot Syndrome Virus Infection on *Penaeus monodon* by Immersion in CEPM Extract of *Avicennia* sp. and *Sonneratia* sp. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 5(1), 65. <https://doi.org/10.19027/jai.5.65-75>.

- Widanarni, Muhammad, G. S. (2019). Pemanfaatan madu untuk meningkatkan respon imun dan resistensi udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) terhadap infeksi White Spot Syndrome Virus. *Jurnal Riset Akuakultur*, 14(1), 59–69.
- Wiradana, P. A., Mahasri, G., Sari, R. E. R., Marwiyah, U. C., & Prihadhana, R. (2019). Identification of white spot syndrome virus (WSSV) in pacific white shrimps (*Litopenaeus vannamei*) from ponds postexposure to immunogenic membrane proteins (*Zoothamnium penaei*). *The 1st International Conference on Fisheries and Marine Science*, 012085. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/236/1/012085>.
- Zhang, J. S., Li, Z. J., Wen, G. L., Wang, Y. L., Luo, L., Zhang, H. J., & Dong, H. B. (2016). Relationship between White Spot Syndrome Virus (WSSV) loads and characterizations of water quality in *Litopenaeus vannamei* culture ponds during the tropical storm. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 17(3), 210–214.
- Zheng, S. cheng, Xu, J. yang, & Liu, H. peng. (2019). Cellular entry of white spot syndrome virus and antiviral immunity mediated by cellular receptors in crustaceans. *Fish and Shellfish Immunology*, 93(August), 580–588. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.08.011>.