

## **Aplikasi Ekstrak Rumput Laut Sebagai Agen Immunostimulan Sistem Pertahanan Non Spesifik Pada Udang (*Litopennaeus vannamei*)**

**Ali Ridlo dan Rini Pramesti**

Jurusan Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan  
Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia  
Telp/Fax. 0247474698; 08156557114;  
email: aliridlo26@yahoo.co.id

### **Abstrak**

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis potensi ekstrak dari rumput laut *Dictyota* sp., *Gracilaria* sp., *Padina* sp., dan *Sargassum* sp. sebagai imunostimulan sistem pertahanan tubuh non spesifik udang *L. vannamei*. Rumput laut diekstraksi dengan cara direbus dalam air mendidih selama 2 jam. Suplementasi ekstrak pada pakan udang buatan diberikan dengan dosis 10 g/kg pakan. Hasil penelitian menunjukkan adanya peningkatan jumlah hemosit dan aktivitas fagositosis udang *L. vannamei* akibat pemberian ekstrak rumput laut dibandingkan kontrol. Peningkatan tersebut terlihat pada jumlah hemosit udang *L. vannamei* yang diberi ekstrak *Gracilaria* sp. pada hari ke-8, *Dictyota* sp. dan *Sargassum* sp pada hari ke 12, sedangkan peningkatan aktifitas fagositosis terjadi pada perlakuan dengan ekstrak *Dictyota* sp., *Gracilaria* sp. dan *Sargassum* sp. pada hari ke-8. Pemberian ekstrak *Sargassum* sp memberikan hasil terbaik yaitu untuk jumlah hemosit  $1,127 \pm 0,260$  pada hari ke-12 dan aktifitas fagositosis  $214,061 \pm 15,955$  pada hari ke-8.

**Kata kunci** : Immunostimulan, rumput laut, *L. vannamei*

### **Abstract**

Study on application of seaweed *Dictyota* sp., *Gracilaria* sp., *Padina* sp. and *Sargassum* sp. extract as immunostimulant agent for non-specific defense system of white shrimp (*L. vannamei*) was conducted. Air - dried seaweed was extracted by boiling in water for 2 hours then fortified into shrimp feed pellet with concentration of 10g/kg pellet. Haematological parameters of Total Haemocyte Count (THC) and Phagocytosis Activity (PA) was then tested at 4, 8, 12 days period after initial treatment. The result showed that fortification of seaweed extract was increased the number of haemocyte was clearly shown at day 8 of *Gracilaria* sp. extract treatment and day 12 of *Dictyota* sp. and *Sargassum* sp. treatment. Meanwhile phagocytosis activity was clearly increased at day 8 of *Dictyota* sp., *Gracilaria* sp. and *Sargassum* sp treatment. Extract of *Sargassum* sp. gave the most significant effect with total haemocyte of  $1,127 \pm 0,260$  at day 12th and phagocytosis activity of  $214,061 \pm 15,955$  at day 8th.

**Key words** : Immunostimulant, seaweed, *L. vannamei*

### **Pendahuluan**

Penyakit merupakan salah satu faktor pembatas dalam budidaya udang *vannamei* (*Litopennaeus vannamei*). Tingginya tingkat mortalitas udang budidaya diduga disebabkan oleh infeksi virus maupun bakteri patogen. Nitimulyo et al. (2005) menyatakan bahwa bakteri patogen yang umum menyerang dalam budidaya perikanan adalah *Vibrio alginolyticus*, *V. fluvialis*, *V. vulnificus*, dan *V. ordalii*. Epidemik yang banyak menyerang budidaya udang adalah *White Spot Syndrome Virus* (WSSV), *Taura Syndrome Virus* (TSV) dan *Yellow Head Virus* (YHV) (Smith et al., 2003),

Salah satu upaya dalam penanggulangan dan pencegahan penyakit udang adalah melalui peningkatan sistem pertahanan tubuh udang, yaitu dengan menggunakan imunostimulan, vitamin dan hormon (Johny et al., 2005). Udang mempunyai daya tahan alami yang bersifat non spesifik terhadap organisme patogen berupa pertahanan fisik (mekanik), kimia, seluler dan humoral. Daya tahan alami ini dipengaruhi oleh faktor genetik dan lingkungan, sehingga terdapat tingkatan yang berbeda-beda tergantung strain, lingkungan pemeliharaan, spesies maupun famili (Bellanti, 1989).

Sistem imun udang tergantung pada proses pertahanan non spesifik sebagai pertahanan terhadap infeksi (Lee et al., 2004). Pertahanan pertama terhadap penyakit pada udang dilakukan oleh haemosit melalui fagositosis, enkapsulasi dan *nodule formation*. Aktifitas fagositosis dapat ditingkatkan dengan mengaktifkan sistem prophenol oksidase (Pro-PO) yang berada dalam haemosit semigranular dan granular (Selvin et al., 2004).

Imunostimulasi biasa dilakukan dengan pemberian komponen mikrobial seperti  $\beta$ -glukan dan lipopolisakarida (LPS) atau sel bakteri yang telah dimatikan (Smith et al., 2003). Kelemahan dari imunostimulan ini adalah harganya relatif mahal, sehingga diperlukan usaha pencarian sumber alternatif imunostimulan yang murah dan mudah penanganannya, salah satunya adalah dari rumput laut.

Rumput laut merupakan alga multiselular yang mengandung substansi yang aktif secara imunologi. Pemanfaatan rumput laut selama ini masih terbatas pada produk karagenan dan agar. Potensi rumput laut di bidang pengendalian penyakit masih belum banyak di eksplorasi dan di eksploitasi. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa rumput laut mempunyai prospek yang masih terbuka bagi pengembangannya dalam bidang pengendalian penyakit. Ekstrak rumput laut telah diketahui mempunyai aktivitas sebagai antitumor, meningkatkan aktivitas kemotaksis *macrophage*, menstimulasi aktivitas sekresi radikal oksigen dan fagositosis pada *peritoneal and splenic murine macrophage* (Castro et al., 2004). Metabolit sekunder dari *Halimeda maculosa* memiliki senyawa bioaktif anti jamur (Widiastuti, 2003). Rumput laut *Ulva* sp., *Dendrilla* sp., *Spirulina* sp., *Enteromorpha* sp., *Dictyota* sp., dan *Porphira* sp. telah terbukti mampu meningkatkan aktifitas imunostimulan udang (Castro et al., 2004; Selvin et al., 2004).

Polisakarida dari alga merah (karageenan) dapat meningkatkan aktivitas *phagocytic makrophage* dan mampu melawan infeksi bakteri setelah disuntik secara intraperitoneal pada ikan *Cyprinus carpio* (Castro et al., 2004). Polisakarida diketahui merupakan komponen esensial bagi semua organisme dan mempunyai berbagai fungsi vital biologis diantaranya adalah sebagai antitumor, antiinflamasi, antikoagulan, antikomplementer, imunologi dan antivirus.

Uji efektivitas aplikasi rumput laut sebagai imunostimulan sistem pertahanan tubuh non

spesifik udang *L. vannamei* dapat dilakukan dengan pengamatan terhadap sistem kekebalan tubuh nonspesifik berdasarkan gambaran hematologinya, yaitu dengan menghitung jumlah hemosit dan aktivitas fagositosis.

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kemampuan ekstrak rumput laut sebagai agensia imunostimulan sistem pertahanan non spesifik pada udang komersial *vannamei* (*Litopennaeus vannamei*).

## Materi dan Metode

Penelitian dilakukan di Unit Pembenuhan-Balai Pengembangan Budidaya Air Payau (BPAP) Situbondo, Jawa Timur. Sampel rumput laut *Dictyota* sp., *Gracilaria* sp., *Padina* sp. dan *Sargassum* sp. diambil dari Perairan Jepara, Jawa Tengah. Sampel rumput laut dibersihkan kemudian dikeringkan dengan cara dianginkan dan tidak terkena sinar matahari secara langsung. Sebagai hewan uji adalah udang *L. vannamei* yang diperoleh dari hasil budidaya BPAP-Situbondo dengan berat  $\pm$  15 gram.

Rumput laut yang telah dikering-anginkan, dipotong kecil-kecil ( $\pm$  0,5 cm). Sebanyak 500 gram rumput laut direbus sampai mendidih dengan 2 liter akuades selama 2 jam, lalu di saring. Ampas direbus kembali, kemudian disaring dan filtratnya digabung dengan hasil ekstraksi pertama. Larutan hasil ekstraksi dievaporasi dengan menggunakan rotavapor sampai kering.

Ekstrak rumput laut yang diperoleh ditambahkan ke dalam pakan udang komersial (komposisi : protein kasar 40%, air 11% dan serat 3%). Mula-mula pellet dihancurkan dengan cara digiling, selanjutnya ditambahkan ekstrak rumput laut sebanyak 10 g/kg pakan, dicampur sampai homogen dan dilakukan pembuatan pelet yang digunakan untuk uji. Udang *L. vannamei* diaklimatisasi dalam bak yang dilengkapi dengan sistem aerasi dan sirkulasi air selama 15 hari serta pemberian pakan pelet komersial secara *ad libitum* (sampai kenyang), tiap akuarium berisi 15 ekor udang (Rodryguez et al., 2003)

Pemberian pakan selama perlakuan dilakukan 4 kali sehari, yaitu pagi (05.30), siang (11.30), sore (17.30), dan malam hari (23.00) sebanyak 5% dari berat badan udang (Esteban et al., 2001; Rodryguez et al., 2003; Haliman, 2005).

Pengambilan hemolimfe udang dilakukan pada bagian pangkal pleopod pada segmen abdominal dekat lubang genital dengan menggunakan syringe 1

mL yang telah dibasahi larutan antikoagulan (EDTA 10%). Hemolimfe diambil dengan interval waktu 4 hari selama 12 hari, selanjutnya ditempatkan dalam microtube steril dan disimpan dalam cool box. Penghitungan jumlah total hemosit (THC) dilakukan menggunakan haemocytometer dengan prosedur Campa-Cordova et al. (2002).

$$\text{Jml hemosit} = \frac{\text{Jml sel dihitung}}{\text{Vol. dihitung}} \times \text{pengenceran} \times 10^6$$

Perbandingan jumlah hemosit antara perlakuan dan kontrol dianggap sebagai nilai efek perlakuan.

Aktivitas fagositosis ditentukan menurut prosedur Isnansetyo et al. (2007). Sel bakteri *V. alginoliticus* dicampur dengan larutan formalin sampai semua endapan suspensi terendam selama 24 jam, kemudian disentrifugasi pada 1000 rpm selama 3 menit dan filtratnya dipisahkan. Sejumlah 250 µL hemosit dicampur dengan 500 µL suspensi bakteri yang telah dimatikan, kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 60 menit. Aktivitas fagositosis diamati dengan menggunakan mikroskop perbesaran 1000 kali.

$$\text{Aktivitas Fagositosis (\%)} = \frac{\text{Jml sel fagosit aktif}}{\text{Jml sel fagosit diamati}} \times 100\%$$

### Hasil dan Pembahasan

Sistem pertahanan tubuh non spesifik udang *L. vannamei* terhadap aplikasi imunostimulan dari rumput laut ditunjukkan oleh gambaran hematositnya yaitu jumlah total hemosit dan aktivitas fagositosis. Hemosit merupakan salah satu bentuk pertahanan tubuh secara selular. Hemosit mampu mematikan agen penyebab infeksi melalui sintesis

dan eksositosis molekul bioaktif protein mikrobisidal (Smith et al., 2003). Faktor-faktor immunoreaktif seperti peroxinextin, peptida antibakteri dan clotting components disimpan dalam hemosit, sehingga peningkatan jumlah hemosit merupakan ukuran kemampuan suatu zat untuk menstimulasi sistem pertahanan tubuh udang.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah hemosit dan aktivitas fagositosis bervariasi, tergantung pada jenis rumput laut yang digunakan. Pemberian ekstrak rumput laut cenderung meningkatkan jumlah total hemosit, terutama pada hari ke-8 dan hari ke-12. Jumlah total hemosit tertinggi dicapai oleh *Sargassum* sp. pada hari ke-12 ( $1,127 \times 10^7$  sel/L  $\pm$  0,260) (Tabel 1). Pada hari ke-8 pemberian ekstrak *Gracilaria* sp. menunjukkan nilai tertinggi dibandingkan rumput laut jenis lain, sedangkan pada hari ke-12, pemberian ekstrak *Dictyota* sp., *Padina* sp. dan *Sargassum* sp. memberikan hasil yang lebih tinggi dibanding kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak rumput laut mampu menstimulasi peningkatan jumlah total hemosit udang *L. vannamei*. Menurut Johansson et al. (2000), hematosit udang memegang peranan penting dalam respon imun diantaranya melalui recognition, phagocytosis, melanization, cytotoxicity dan komunikasi antar sel.

Hasil penelitian diatas sesuai dengan penelitian Selvin et al. (2004) yang menyatakan bahwa ekstrak *Ulva* sp. dan *Dendrilla* sp. dapat meningkatkan jumlah total hemosit udang masing-masing sampai  $0,672 \times 10^7$  sel/L dan  $0,620 \times 10^7$  sel/L. Penelitian sejenis yang telah dilakukan menunjukkan bahwa respon imun udang dapat ditingkatkan dengan aplikasi glukon (Chang et al., 2000) dan peptidoglikan (Takahashi et al., 2000). Hasil penelitian ini sesuai dengan Subagiyo (2009), yang menyatakan bahwa rumput laut *Halimeda* sp. mampu meningkatkan nilai THC sebesar 96,242% pada hari ke-12.

**Tabel 1.** Pengaruh Pemberian Ekstrak Rumput Laut Terhadap Jumlah Total Hemosit (THC) Udang *L. vannamei*

Rumput Laut	Jumlah Total Hemosit ( x 10 <sup>7</sup> sel/L)		
	Hari ke-4	Hari ke-8	Hari ke-12
Kontrol			
<i>Dictyota</i> sp.	0,756 ± 0,203 <sup>a</sup>	0,323 ± 0,068 <sup>a</sup>	0,541 ± 0,160 <sup>a</sup>
<i>Gracilaria</i> sp.	0,547 ± 0,063 <sup>a</sup>	0,462 ± 0,151 <sup>a</sup>	1,091 ± 0,533 <sup>c</sup>
<i>Padina</i> sp.	0,675 ± 0,102 <sup>a</sup>	0,858 ± 0,321 <sup>b</sup>	0,561 ± 0,055 <sup>a</sup>
<i>Sargassum</i> sp.	0,658 ± 0,253 <sup>a</sup>	0,410 ± 0,098 <sup>a</sup>	0,818 ± 0,168 <sup>b</sup>
	0,621 ± 0,241 <sup>a</sup>	0,398 ± 0,100 <sup>a</sup>	1,127 ± 0,260 <sup>c</sup>

Keterangan: Nilai yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada tingkat kepercayaan 95% ( $p > 5\%$ )

**Tabel 2.** Pengaruh Pemberian Ekstrak Rumput Laut Terhadap Aktivitas Fagositosis Udang *L. vannamei*

Rumput Laut	Aktivitas Fagositosis (%)		
	Hari ke-4	Hari ke-8	Hari ke-12
Kontrol	78,601 ± 2,108 <sup>a</sup>	63,474 ± 20,147 <sup>a</sup>	87,008 ± 3,298 <sup>b</sup>
<i>Dictyota</i> sp.	86,015 ± 8,032 <sup>b</sup>	101,447 ± 46,666 <sup>d</sup>	86,654 ± 3,305 <sup>b</sup>
<i>Gracilaria</i> sp.	85,057 ± 5,508 <sup>b</sup> 52,876	101,308 ± 60,385 <sup>d</sup>	81,911 ± 9,336 <sup>a</sup>
<i>Padina</i> sp.	± 14,785 <sup>c</sup>	89,256 ± 129 <sup>b</sup>	47,603 ± 0,381 <sup>c</sup>
<i>Sargassum</i> sp.	53,258 ± 1,890 <sup>c</sup>	214,061 ± 15,955 <sup>e</sup>	85,862 ± 3,649 <sup>b</sup>

Keterangan: Nilai yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada tingkat kepercayaan 95% ( $p > 5\%$ )

Beberapa faktor yang mempengaruhi kemampuan suatu bahan untuk dapat meningkatkan sistem pertahanan tubuh udang antara lain adalah senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak memang tidak mempunyai aktifitas

menstimulasi sistem pertahanan tubuh, senyawa aktif berada dalam bentuk tidak dapat diabsorpsi dari sistem pencernaan. Senyawa aktif akan menunjukkan aktifitasnya jika dapat mencapai di lokasi targetnya yang berarti harus dapat diserap oleh darah dari saluran pencernaan untuk selanjutnya dibawa/ditransfer ke tempat dimana zat itu akan memberikan efek aktifitasnya atau jumlah senyawa aktif lebih kecil dari jumlah minimal yang diperlukan untuk memunculkan efek imunostimulan atau bahkan sebaliknya dosisnya terlalu tinggi sehingga tidak memberikan efek atau berperilaku sebagai inhibitor. Sakai (1999) menyatakan bahwa kemampuan imunostimulan untuk meningkatkan respon imun dan mengembangkan proteksi terhadap infeksi patogen dipengaruhi oleh dosis aplikasi. Pemberian imunostimulan pada konsentrasi dibawah nilai minimal untuk terjadinya respon imun tidak akan memberikan pengaruh terhadap peningkatan jumlah hemosit.

Parameter sistem pertahanan tubuh udang juga dapat diketahui dari aktivitas fagositosis yaitu kemampuan sel respon imun non spesifik untuk memfagositosis agen penyakit yang masuk ke dalam tubuh.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak rumput laut *Sargassum* sp., *Dictyota* sp. dan *Padina* sp., mampu meningkatkan aktivitas fagositosis udang *L. vannamei* terutama pada hari ke-8 (Lihat Tabel 2). Hal ini disebabkan dalam ketiga jenis rumput laut tersebut mengandung senyawa polisakarida alginat. Menurut Cheng et al. (2005), sodium alginat dapat meningkatkan aktifitas fagositosis udang. Disamping itu, Subagiyo (2009) menyatakan bahwa ekstrak

rumput laut jenis *Halimeda* sp. dapat meningkatkan aktifitas fagositosis pada hari ke-12 sebesar 76,78%.

Aktifitas fagositosis merupakan salah satu cara yang sangat penting dalam mengendalikan dan menghancurkan partikel asing. Proses pertahanan melalui fagositosis ini dibagi menjadi beberapa proses yaitu : kemotaksis, *recognition*, dan *internalization* (Bachere, 1995). Menurut Smith et al. (2003), hemosit melakukan *inflammatory-type reaction* seperti fagositosis, *haemocyte clumping*, produksi metabolit yang reaktif terhadap oksigen dan pelepasan mikrobisidal protein.

Berdasarkan hasil penelitian ini, pemberian pakan dengan suplementasi ekstrak rumput laut guna meningkatkan jumlah hemosit udang *L. vannamei* dapat diberikan sampai dengan hari ke-12, sedangkan untuk meningkatkan aktivitas fagositosis diberikan sampai dengan hari ke-8. Hasil terbaik jumlah hemosit dan aktivitas fagositosis dicapai oleh *Sargassum* sp. masing-masing pada hari ke 12 dan pada hari 8.

### Kesimpulan

Suplementasi ekstrak rumput laut *Dictyota* sp., *Gracilaria* sp., *Padina* sp. dan *Sargassum* sp. pada dosis 10 g/ kg pakan mampu meningkatkan jumlah total hemosit dan aktivitas fagositosis udang *L. vannamei*.

### Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada DIKTI yang telah memberikan dana penelitian melalui program Hibah Bersaing tahun anggaran 2008, No. Kontrak 321/SPH/PP/DP2M/III/2008

### Daftar Pustaka

Bachere, E., E. Mialhe, D. Noel, V. Boulo, A. Morvan, & J. Rodriquez, 1995, Knowledge and Research in Marine Mollusk and Crustacean Immunology.

- Aquaculture* 132: 17-32.
- Bellanti, J. A. 1989. Immunology III, Gadjah Mada University Press. Yogyakarta
- Campa-Courdova, A.I., N.Y. Hernandez-Saavedra, R. De Phillipis, & F. Ascentio, 2002, Generation of Superoxide Anion and SOD Activity in Haemocytes and Muscle of American White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) as a Response to beta -glucan and Respiratory Burst Activity of Turbot Phagocytes, *Aquaculture* 229: 67–78
- Castro, R. I. Zarrab, & J. Lamas. 2004, Water-soluble Seaweed Extracts Modulate the *Pantoea agglomerans* lipopolysaccharide (LPS). *Fish Shellfish Immunol*, 10: 555–558.
- Chang C-F, H-Y Chen, M-S Su, & I-C Liao. 2000, Immunomodulation by Dietary beta 1,3 glucan in the Brooders of the Black Tiger Shrimp, *Penaeus monodon*. *Fish Shellfish Immunol*, 10:505–14.
- Cheng W., CH Liu, CH Tsai, & JC Chen, 2005, Molecular Cloning and Characterisation of a Pattern Recognition Molecule, lipopolysaccharide- and b-1,3-glucan binding protein (LGBP) from the White Shrimp *Litopenaeus vannamei*, *Fish & Shellfish Immunology*, 18 :297- 310
- Esteban MA, Cuesta A, Ortuno J, & Meseguer J. 2001. Immunomodulatory Effects of Dietary Intake of Chitin in Gilthead Seabream (*Sparus aurata* L.) Innate Immune Response. *Fish & Shellfish Immunology*, 11:303–15.
- Haliman, R. W. 2005. Udang Vannamei, Penebar Swadaya. Jakarta
- Isnansetyo, A, 2007, Petunjuk Praktikum Hematologi Ikan (Evaluasi Pertahanan Non Spesifik Ikan), Pelatihan Hematologi Ikan, Laboratorium Hama dan Penyakit Ikan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Johny, F. Roza, D. K. Mahardika. Zafran & A. Prijono. 2005. Penggunaan Immunostimulan Untuk Meningkatkan Kekebalan Nonspesifik Benih Ikan kerapu Lumpur, *Epinephelus coiodes* Terhadap infeksi Virus irido. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*, XI(5): 75-83
- Johansson M W, P. Keyser, K. Sritunyalucksana, & K Soderhall, 2000. Crustacean Haemocytes and Haematoposis, *Aquaculture* 191 : 45-52
- Lee, M. H. and S. Y Shiau,. 2002. Dietary Vitamin C and Its Derivatives Effect Immune Responses in Grass Shrimp requirements of Juvenile Grass Shrimp, *P. monodon* . *Fish & Shellfish Immunology*. 12:119 - 129
- Lee, M. H. & S. Y Shiau 2004. Vitamin E Requirements of Juvenile Grass Shrimp, *P. monodon* and Effects on Nonspecific Immune Responses, *Fish & Shellfish Immunology*. 16:475 – 485
- Nitimulyo, K. H., Isnansetyo, A. Triyanto, I. Istiqomah, & M. Murdjani. 2005. Isolasi, Identifikasi, dan Karakterisasi *Vibrio spp.* Patogen Penyebab Vibriosis pada Kerapu, Balai Budidaya Air Payau, Situbondo. *Jurnal Perikanan* VII (2):80 – 94
- Rachmaniar. 1993. Antimicrobial Activity of Crude Extract and its Fractions of Seaweed. ODI. 26 : 1 - 11
- Sakai, M. 1999. Current Research Status of Fish Immunostimulants. *Aquaculture* 172 : 63 - 92
- Selvin J., A.J. Huxleya, & A.P. Lipton, 2004, Immunomodulatory Potential of Marine Secondary Metabolites Against Bacterial Diseases of Shrimp, *Aquaculture* 230: 241–248
- Smith V J., J H. Brown, & C. Hauton , 2003, Immunostimulation in Crustaceans: Does it Really Protect Against Infection. *Fish & Shellfish Immunology* 15 : 71–90
- Subagiyo. 2009. Uji Pemanfaatan Rumput Laut *Halimeda* sp. Sebagai Sumber Makanan Fungsional Untuk Memodulasi Sistem pertahanan Non Spesifik Pada Udang Putih ( *Litopenaeus vannamei*). *Ilmu Kelautan* 14 (3) : 195–199.
- Rodryguez, A. Cuesta, A. Esteban, M. A. & Meseguer, J. 2003. The Effect of Dietary Administration of The Fungus *Mucor circnneoides* on Nonspecific Immune Responses of Gilthead Seabream, *Fish & Shellfish Immunology*. (16):241 - 249
- Takahashi Y, M Kondo, T Itami, T Honda, H Inagawa, & T Nishizawa, 2000, Enhancement of Disease Resistance Against Penaeid Acute Viraemia and Induction of Virus-Inactivating in Haemolymph of Kuruma Shrimp, *Penaeus japonicus*, by Administration of Sulphated Polysaccharide, *Fish & Shellfish Immunology* 12: 353–366.
- Widiastuti, H.N. 2003. Uji aktivitas metabolit sekunder dari rumput laut *Halimeda macroloba* sebagai senyawa bioaktif antijamur *Candida albicans* dan *Torula histolutica*. *Ilmu Kelautan*, 8(2): 114-118.