

**APLIKASI PERENDAMAN EKSTRAK KASAR RUMPUT LAUT *Ulva lactuta*
TERHADAP AKTIVITAS PHENOLOKSIDASE (PO) DAN RESPIRATORY BURST
(RB) PADA UDANG VANNAME (*Litopenaeus vannamei*)**

Suleman

Program Studi Budidaya Perairan,
Fakultas Peternakan, Kelautan dan Perikanan Universitas Nusa Cendana
Jl Adisucipto, Penfui, Kupang, Nusa Tenggara Timur
Email Korespondensi : suleman@staf.undana.ac.id

Abstrak - Rumput laut *Ulva lactuta* memiliki metabolit sekunder yang berperan penting untuk menjaga sistem imun pada udang. Rumput laut hijau salah satunya jenis *Ulva lactuta* merupakan sumber senyawa bioaktif alami yang sering digunakan dalam bidang farmakologi dan dalam meningkatkan sistem imun pada udang yang mempunyai aktivitas sebagai antiinflamasi, antivirus, antineoplastik, antimikroba, antibakteri dan antihipertensi karena mengandung senyawa polisakarida sulfat, fenolat, terpenoid, laktone, sterol dan asam lemak. Salah satu parameter imun pada udang yang memiliki peran penting adalah aktivitas phenoloksidase (PO) dan respiratory burst (RB). Pemberian ekstrak kasar *Ulva lactuta* bertujuan untuk mengamati perubahan aktivitas PO dan RB pada udang vaname. Rancangan percobaan dilakukan pada 3 perlakuan (perendaman ekstrak kasar) (1 ppm, 1,5 ppm dan 2 ppm) dan 2 kontrol (negatif dan positif) serta 3 kali ulangan selama 6 hari pengamatan. Pengamatan hari ke-1 hingga ke-6 menunjukkan aktivitas PO pada perlakuan 2 ppm menunjukkan hasil yang paling tinggi sebesar $0,214 \pm 0,021$. Data yang diperoleh menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kasar *Ulva lactuta* sebesar 2 ppm dapat meningkatkan aktivitas PO pada udang vanname serta memberikan perbedaan signifikan terhadap semua perlakuan. Pengamatan perubahan RB pada sistem imun udang vaname menunjukkan bahwa pada dosis 2 ppm menunjukkan hasil yang paling tinggi sebesar 45,8% dengan nilai RB $0,323 \pm 0,02$. Parameter kualitas selama pengamatan menunjukkan hasil sesuai pada kisaran optimal dengan suhu ($^{\circ}\text{C}$) 24-26, pH dengan kisaran 7,5-7,8, DO (mg/L) dengan kisaran 4,55-5,63 dan salinitas pada 35 ppt.

Kata Kunci : *Ulva lactuta*, Phenoloksidase, Udang Vaname, Senyawa Aktif, Ekstrak Kasar, Respiratory Burst.

Abstract - *Ulva lactuta* has secondary metabolites that play an important role in maintaining the immune system in shrimp. Green seaweed, one of which is the type of *Ulva lactuta* is a source of natural bioactive compounds that are often used in pharmacology and in improving the immune system in shrimp which has activity as an antiinflammatory, antiviral, antineoplastic, antimicrobial, antibacterial and antihypertensive because it contains polysaccharide sulfate compounds, phenolics, terpenoids, lactones, sterols, and fatty acids. One of the immune parameters in shrimp that has an important role is phenoloxidase activity and respiratory burst. The appropriation of the *Ulva lactuta* crude aims to observe changes in phenoloxidase activity in vaname shrimp. The experimental design was carried out on 3 treatments (crude extract immersion) (1 ppm, 1.5 ppm and 2 ppm) and 2 controls (negative and positive) with 3 time repetitions for 6 days of observation. Day 1 to 6 observations showed PO activity at 2 ppm treatment showed the highest result of 0.214 ± 0.021 . The data obtained showed that giving a crude extract of *Ulva lactuta* of 2 ppm could increase PO activity in vanname shrimp and provide significant differences in all treatments. Observation of RB changes in the immune system of vaname shrimp showed that at a dose of 2 ppm showed the highest results of 45.8% with a RB value of 0.323 ± 0.02 . The quality parameters

during the observation showed corresponding results in the optimal range with a temperature (oC) of 24-26, pH with a range of 7.5-7.8, DO (mg/L) with a range of 4.55-5.63 and salinity at 35 ppt.

Keywords : *Ulva lactuta*, Phenoloksidase, Respiratory Burst, Shrimp, Organic Compound, Crude Extract

I. PENDAHULUAN

Salah satu komoditas perikanan yang memiliki nilai ekonomi tinggi adalah udang. Udang masih menjadi salah satu komoditas andalan ekspor hasil perikanan, namun masih mengalami fluktuatif. Budidaya udang di tambak menjadi salah satu pemenuhan kebutuhan ekspor. Udang mendominasi sekitar 40% lebih dari perolehan devisa dan ekspor, dimana negara dengan volume ekspor terbanyak yaitu Amerika Serikat dan Jepang (Simamora, 2014).

Data produksi perikanan pada udang sejak tahun 2010 terus mengalami peningkatan dan menunjukkan trend positif sebesar 15,28 pada tahun 2014. Namun pada tahun 2015 penurunan produksi sebesar 210.495 ton. Berdasarkan program pemerintah terkait target produksi perikanan pada tahun 2014 sekitar 22,54 juta ton, yang mana udang menyumbang sebanyak 16,89 juta ton dari hasil budidaya. Produksi udang vaname diproyeksikan dapat meningkat setiap tahun sebesar 16%. Disisi lain udang vaname memiliki kendala yang dapat menghambat produksi udang vaname. Kematian yang disebabkan oleh penyakit pada udang vaname merupakan salah satu kendala yang sering dihadapi oleh pembudidaya (KKP, 2015).

Rumput laut merupakan salah satu sumber yang bisa digunakan sebagai imunostimulan untuk dapat meningkatkan imunitas pada udang. Prospek pengembangan dibidang pengendalian penyakit masih memiliki potensi yang sangat besar dan terbuka (Rosario Castro et al., 2004). Kandungan polisakarida sulfat merupakan salah satu kandungan senyawa biokatif pada rumput laut *Ulva* sp (Abd El-Baky et al., 2008). Menurut Selvin et al., 2004 *Ulva*

fasciata dapat meningkatkan total hemosit yang merupakan salah satu aktifitas imunostimulan, hal ini disebabkan dengan adanya kandungan senyawa aktif dari rumput laut tersebut. Peningkatan jumlah hemosit untuk melawan bakteri vibrio yang diberikan pada udang windu juga ditunjukkan setelah diberikan ekstrak rumput laut *Ulva fasciata* (Selvin et al., 2011). R. Castro et al., 2006; Tabarsa et al., 2018 menambahkan melalui metode perendaman dari ekstrak *Ulva*, kandungan polisakarida mampu meningkatkan sel makrofag, sel fagositosis dan *respiratory burst* (RB). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah senyawa aktif rumput laut *Ulva lactuta* berpengaruh terhadap aktivitas phenoloksida (PO).

II. BAHAN DAN METODE

2.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Budidaya divisi penyakit dan Kesehatan ikan (Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya) dan Laboratorium Sains dan Ilmu Hayati, Universitas Brawijaya dari bulan juli sampai Agustus 2018.

2.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah ekstrak rumput laut *Ulva lactuta*. Bakteri untuk ujiantang yaitu *V.harveyi* yang diperoleh dari Laboratorium Budidaya divisi penyakit dan Kesehatan ikan (Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya). Bahan kimia untuk parameter

aktivitas *phenoloxydase* dan *respiratory burst* L-DOPA (sigma D9628), trypsin (sigma T4799), sodium cacodylate (sigma C0250). Serta Natrium sitrat (Sigma A731548627) sebagai antikoagulan.

Wadah yang digunakan yaitu akuarium ukuran 30x30x60 cm³ dengan ketinggian air 30 cm serta dilengkapi dengan aerasi. Wadah yang digunakan terlebih dahulu disterilisasi menggunakan klorin cair sebanyak 50 ppm selama 24 jam, kemudian dibilas dengan air bersih dan dikeringkan. Alat yang digunakan untuk melakukan pemeriksaan aktivitas PO berupa syringe 1ml, tabung reaksi, mikropipet, microtube (ependorf 1,5 dan 2,5 ml), yellow tip, blue tip, sentrifus, microplate (96-wells) dan spektrofotometer (microplate reader spectrostar nano BMG Labtech dengan menggunakan optikal densitas 490 nm).

2.3 Materi Uji

Organisme uji yang digunakan pada penelitian ini adalah udang vaname (*Litopenaeus vanname*) dengan bobot awal $19 \pm 2,3$ g ekor⁻¹ sebanyak 90 ekor yang diperoleh dari tambak budidaya di Situbondo, Jawa Timur. Udang yang digunakan dalam penelitian ini adalah udang sehat. Sebelum dilakukan penelitian, udang terlebih dahulu diaklimatisasi selama 7 hari pada suhu ruangan. Selama aklimatisasi udang diberi pakan komersil (pellet) sebanyak 2 kali sehari dengan *feeding rate* 3% dari bobot biomassa. Pergantian air dilakukan setiap hari.

2.4 Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri atas faktor dosis ekstrak rumput laut *Ulva lactuca* 1 ppm, 1,5 ppm, 2 ppm, kontrol negatif (infeksi (tanpa pemberian ekstrak)) dan kontrol negatif (tanpa infeksi dan ekstrak) dan masing-masing diulang sebanyak 3 kali.

2.5 Parameter Uji

2.5.1 Aktivitas Phenoloksidase

Parameter uji meliputi aktivitas *phenoloksidase* pada setiap perlakuan. Untuk mengukur aktivitas *phenoloksidase* menggunakan spektrofotometer oleh pembentukan dopachrome yang dihasilkan dan L-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) (C. C. Li et al., 2008), hemolim yang telah diencerkan disentrifus pada 700 x g pada 4°C selama 20 menit, cairan supernatant dibuang, dan pellet dibilas, disuspensikan Kembali secara perlahan dalam cacodylate-citrate buffer (0,01 M sodium cacodylate 0,45 M, sodium chloride, 0,10 M trisodium sitrat, pH 7,0 dan disentrifus ulang. Pellet kemudian diresuspended dengan 200 µl cacodylate buffer (0,01 M sodium cacodylate, 0,45 M sodium chloride, 0,01 M calcium chloride, 0,26 M magnesium chloride, pH 7,0) dan 100 µl aliquot diinkubasi dengan 50 µl trypsin (1 mg ml⁻¹), sebagai aktifator, selama 10 menit pada 25-26°C; 50 µl L-DOPA ditambahkan, diikuti oleh 800 µl cacodylate buffer 5 menit kemudian. Optical density pada 490 nm diukur menggunakan spektrofotometer microplate reader (Liu, 2004) spectrostar nano BMG Labtech). Optical density aktifitas *phenoloksidase* udang untuk semua kondisi uji diekspresikan sebagai pembentukan dopachrome dalam 50 µl hemolim.

2.5.2 Respiratory Burst

Respiratory burst dari hemosit diukur berdasarkan reduksi NBT (*nitroblue tetazolium*) sebagai ukuran *superoxideanion* (O₂⁻) (Cheng, 2004). Sebanyak 50mL campuran hemolim-antikoagulan diinkubasi selama 30 menit dalam suhu ruang. Selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit dan supernatan dibuang. Ditambahkan 100 mL NBT dalam larutan HBSS (*hank's buffered salt solution*

dengan konsentrasi 0,3%) dan didiamkan selama 2 jam pada suhu ruang. Kemudian disentrifugasi 3000 rpm selama 10 menit, supernatan dibuang dan ditambahkan 100 mL metanol absolut untuk selanjutnya disentrifugasi 3000 rpm selama 10 menit (supernatan dibuang). Pellet yang terbentuk kemudian dibilas sebanyak 2 kali metanol 70%. Selanjutnya 120 mL KOH 2M dan 140 mL DMSO (*dimethylsulfoxide*) ditambahkan untuk melarutkan pellet. Pellet yang larut kemudian dimasukkan ke dalam *microplate* untuk diukur densitas optikal (OD) menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 630 nm. RB dinyatakan sebagai reduksi NBT per 10 mL hemolim.

2.5.3 Parameter Kualitas Air

Pengamatan dan pengukuran kualitas air selama penelitian dilakukan setiap hari. Pengambilan data kualitas air dilakukan pada pagi hari (07.00 WIB) dan sore hari (15.00 WIB). Parameter kualitas air yang diambil adalah suhu dengan menggunakan thermometer raksa, DO (*Dissolved oxygen*) menggunakan DO meter, pH menggunakan pH meter dan salinitas menggunakan refraktometer.

2.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis ragam (ANOVA), yang akan dilanjutkan uji Duncan dengan taraf kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$) jika hasilnya menunjukkan pengaruh nyata terhadap perlakuan. Pengolahan dan analisis data menggunakan bantuan perangkat lunak SPSS versi 20.0 dan Microsoft Excel 365.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

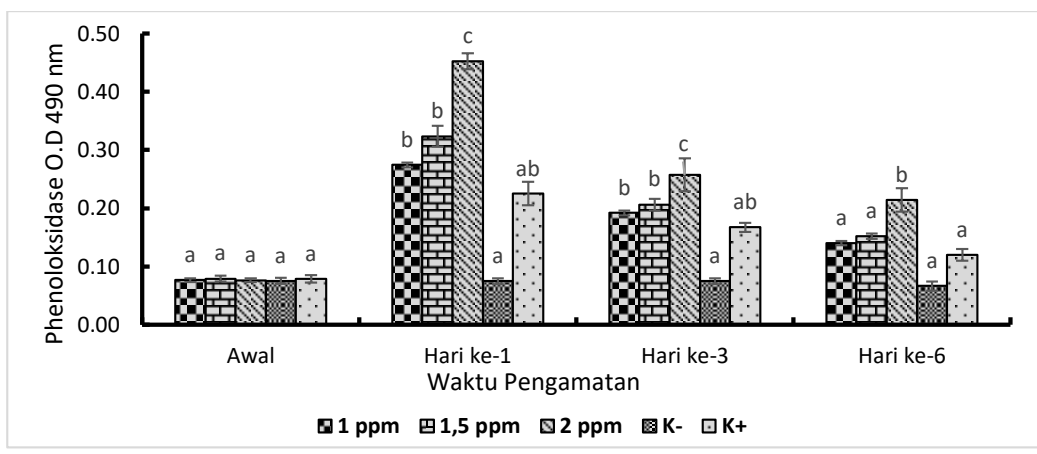
Aktivitas PO udang uji menunjukkan kenaikan pada hari pertama setelah pemberian ekstrak rumput laut *Ulva lactuta* dan infeksi.

Nilai PO tertinggi ditunjukkan pada perlakuan 2 ppm sebesar $0,452\pm 0,014$, perlakuan tersebut menunjukkan berbeda signifikan ($p<0,05$) terhadap semua perlakuan. Pada perlakuan 1 ppm dan 1,5 ppm menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan ($p>0,05$). Pada perlakuan 2 ppm mampu meningkatkan PO hingga 50%, sedangkan 1,5 ppm dengan nilai PO $0,324\pm 0,018$ mampu meningkatkan aktivitas PO sebesar 30,5% dan 1 ppm hanya mampu meningkatkan aktivitas PO sebesar 18 % dengan nilai PO $0,2747\pm 0,004$ terhadap perlakuan K+ (infeksi bakteri tanpa pemberian imunostimulan) dan menunjukkan hasil yang paling rendah.

Pada hari ke-3 dan ke-6 pasca pemberian ekstrak rumput laut *Ulva lactuta* aktivitas PO mengalami penurunan. Hasil yang ditunjukkan pada hari ke-3 dimana perlakuan pemberian ekstrak rumput laut 1 ppm menunjukkan nilai PO sebesar $0,192\pm 0,004$ dan pemberian ekstrak 1,5 ppm dengan nilai PO sebesar $0,206\pm 0,01$ tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p>0,05$). Sedangkan pada pemberian ekstrak 2 ppm menunjukkan nilai PO sebesar $0,257\pm 0,029$ hal ini menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap ($p<0,05$) semua perlakuan, meskipun mengalami penurunan aktivitas PO. Setelah 6 hari pasca pemberian ekstrak rumput laut *Ulva lactuta* dan infeksi bakteri, pada perlakuan 2 ppm menunjukkan hasil yang tertinggi dibandingkan dengan perlakuan 1 ppm dan 1,5 ppm. Berdasarkan hasil analisa statistik menunjukkan dengan pemberian ekstrak rumput laut 2 ppm menunjukkan hasil berbeda signifikan ($p<0,05$) dengan semua perlakuan, sedangkan pada perlakuan 1 ppm, 1,5 ppm serta semua kontrol (kontrol positif dan negatif) tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p>0,05$). Pada hari ke-6 pengamatan PO, perlakuan 2 ppm mampu meningkatkan aktivitas PO sebesar 44% dengan nilai PO $0,214\pm 0,021$, ternyata setelah hari ke-6 mengalami penurunan sebesar 6% setelah diberikan ekstrak rumput

laut. Pada perlakuan 1,5 ppm meningkatkan PO sebesar 21% dengan nilai $0,152 \pm 0,004$, tren yang sama ditunjukkan pada perlakuan 1,5 ppm, yaitu mengalami penurunan sebesar 9,5% dan perlakuan 1 ppm hanya mampu meningkatkan PO sebesar 14,5% dan mengalami penurunan sebesar 4% setelah diberikan ekstrak pada hari ke-1 dengan nilai PO $1,403 \pm 0,004$. Berdasarkan data diatas

menunjukkan bahwa hingga akhir pengamatan pada hari ke-6, perlakuan dengan pemberian ekstrak rumput laut 2 ppm mampu mempertahankan aktivitas phenoloksidase yang paling tinggi dibandingkan perlakuan yang lainnya. Hasil pengukuran phenoloksidase selama penelitian ditampilkan pada Gambar 1 berikut.



Gambar 1. Pengamatan Aktivitas Phenoloksidase (PO) Selama Penelitian

Pemberian ekstrak *Ulva lactuta* diasumsikan mampu meningkatkan kemampuan koordinasi dan komunikasi antar sel imun udang vaname sehingga dapat meningkatkan kelangsungan hidup dan sistem imunitas udang vaname yang telah diinfeksi bakteri. Dimana, selama infeksi bakteri pathogen (*V.harveyi*), bakteri ini dikenal kemudian hemosit semi granular dan granular melepaskan sistem proPO yang diaktifkan (Selvin et al., 2011). Selanjutnya dilepaskannya peroxinectin yang dapat menstimulasi peningkatan aktivitas fagositosis oleh sel hyaline atau enkapsulasi oleh sel semi granular. Selain itu juga dihasilkan sejumlah protein antimikroba (Sritunyalucksana & Soderhall, 2000). Yeh et al., (2006) menambahkan bahwa terjadi peningkatan aktivitas *phenoloksidase* pada udang vaname pasca pemberian imunostimulan. Peningkatan ini diduga

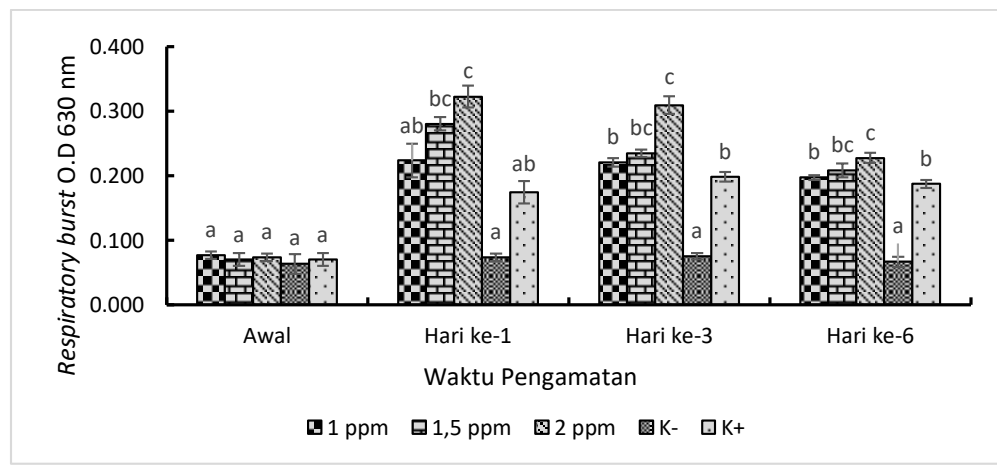
sebagai akibat meningkatnya aktivitas enzim protease yang merupakan activator pembentukan enzim *phenoloksidase* tersebut.

Dalam sistem imun udang, protease dikenal sebagai enzim aktivasi prophenoloksidase (PPA) yang berperan dalam aktivasi prophenoloksidase menjadi enzim phenoloksidase (Johansson et al., 2000). Enzim phenoloksidase dihasilkan melalui sistem ProPO yang dapat diaktifkan oleh adanya imonustimulan dan enzim ini berperan dalam proses melanisasi. Melanin merupakan senyawa antimikroba yang akan membunuh pathogen yang masuk kedalam tubuh udang (Söderhäll & Cerenius, 1992). Pemberian ekstrak *Ulva lactuta* mampu meningkatkan aktivitas PO menunjukkan bahwa ekstrak dapat menstimulasi hemosit udang hingga aktivitas PO terbentuk. Dengan meningkatnya aktivitas phenoloksidase maka kemampuan udang vaname mengenali partikel

asing yang masuk kedalam tubuh semakin baik dan untuk selanjutnya lebih meningkatkan proses fagositosis. Proses ini akan mengurangi partikel asing dalam tubuh sehingga daya tahan tubuh udang dapat meningkat. Aktivasi proPO merangsang proses penting lainnya pada respon imun seperti fagositosis, Glukan, LPS, bakteri dan *non-self agents* lainnya diketahui dapat merangsang aktivitas prophenoloksidase (proPO) dan reaksi melanisasi. Aktifnya proPO akan merangsang aktifnya phenoloksidase untuk memanfaatkan senyawa *phenolic* sehingga terbentuknya *quinones* yang pada akhirnya terbentuknya melanin (Smith et al., 2003). Selain itu pula dengan aktifnya phenoloksidase maka menyebabkan pula aktivitas dana gen *immunoactive* lainnya,

misalnya *peroxinectin* dan *reactive oxygen species* (Söderhäll & Cerenius, 1992).

Dosis pemberian ekstrak yang berbeda ternyata memberikan pengaruh terhadap respiratory burst. Pada perlakuan 2 ppm memberikan hasil yang paling tinggi terhadap perlakuan yang lainnya. Pada hari ke-1 pasca pemberian ekstrak dan infeksi menunjukkan hasil yang berbeda signifikan ($p < 0,05$) terhadap perlakuan lainnya. Hal ini juga terjadi pada hari ke-3 dan ke-6, perlakuan 2 ppm perbedaan signifikan ($p < 0,05$) terhadap perlakuan 1,5 ppm dan 1 ppm. Hasil pengamatan RB sebelum pemberian ekstrak dan infeksi selama pengamatan dan setelah pemberian ekstrak dan infeksi dapat dilihat pada gambar 2 berikut.



Gambar 2. Hasil Pengamatan Respiratory Burst (RB) Selama Penelitian

Berdasarkan gambar 2 menunjukkan bahwa pada hari ke-1 setelah pemberian ekstrak menunjukkan perlakuan 2 ppm mampu meningkatkan RB yang paing tinggi sekitar 45,8%.

IV. KESIMPULAN

Pemberian ekstrak rumput laut *Ulva lactuta* pada udang vaname yang diinfeksi bakteri *V.harveyi* pada perlakuan 2 ppm mampu meningkatkan sistem imunitas pada

udang yang ditunjukkan dengan meningkatnya aktivitas phenoloksidase yang merupakan salah satu parameter sistem imunitas pada krustasea khususnya udang vaname.

DAFTAR PUSTAKA

Abd El-Baky, H. H., El Baz, F. K., & El-Baroty, G. S. (2008). Evaluation of marine alga *Ulva Lactuca L.* as a source of natural preservative ingredient.

- Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 7(11), 3353–3367.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.01926.x>
- Castro, R., Piazzon, M. C., Zarra, I., Leiro, J., Noya, M., & Lamas, J. (2006). Stimulation of turbot phagocytes by *Ulva rigida* C. Agardh polysaccharides. *Aquaculture*, 254(1–4), 9–20. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.10.012>
- Castro, Rosario, Zarra, I., & Lamas, J. (2004). Water-soluble seaweed extracts modulate the respiratory burst activity of turbot phagocytes. *Aquaculture*, 229(1–4), 67–78. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00401-0](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00401-0)
- Cheng, W. (2004). The immune stimulatory effect of sodium alginate on the white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its resistance against *Vibrio alginolyticus*. *Fish & Shellfish Immunology*, 17(1), 41–51. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2003.11.004>
- Johansson, M. W., Keyser, P., Sritunyalucksana, K., & Söderhäll, K. (2000). Crustacean haemocytes and haematopoiesis. *Aquaculture*, 191(1–3), 45–52. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(00\)00418-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00418-X)
- KKP. (2015). *Kelautan dan Perikanan dalam Angka 2015*.
- Li, C. C., Yeh, S. T., & Chen, J. C. (2008). The immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* following *Vibrio alginolyticus* injection. *Fish and Shellfish Immunology*, 25(6), 853–860. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2008.09.014>
- Li, F., & Xiang, J. (2013). Signaling pathways regulating innate immune responses in shrimp. *Fish and Shellfish Immunology*, 34(4), 973–980. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2012.08.023>
- Liu, C. (2004). Effect of ammonia on the immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus*. *Fish & Shellfish Immunology*, 16(3), 321–334. [https://doi.org/10.1016/S1050-4648\(03\)00113-X](https://doi.org/10.1016/S1050-4648(03)00113-X)
- Selvin, J., Huxley, A. J., & Lipton, A. P. (2004). Immunomodulatory potential of marine secondary metabolites against bacterial diseases of shrimp. *Aquaculture*, 230(1–4), 241–248. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00427-7](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00427-7)
- Selvin, J., Manilal, A., Sujith, S., Seghal Kiran, G., & Premnath Lipton, A. (2011). Efficacy of marine green alga *Ulva fasciata* extract on the management of shrimp bacterial diseases. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 39(2), 197–204. <https://doi.org/10.3856/vol39-issue2-fulltext-1>
- Simamora, S. D. (2014). Market Brief Langkah dan Strategi Ekspor ke Uni Eropa: Produk Udang, Advancing's Civil Society in Trade and Investment Climate. *APINDO*.
- Smith, V. J., Brown, J. H., & Hauton, C. (2003). Immunostimulation in crustaceans: Does it really protect against infection? *Fish and Shellfish Immunology*, 15(1), 71–90. [https://doi.org/10.1016/S1050-4648\(02\)00140-7](https://doi.org/10.1016/S1050-4648(02)00140-7)
- Söderhäll, K., & Cerenius, L. (1992). Crustacean immunity. *Annual Review of Fish Diseases*. [https://doi.org/10.1016/0959-8030\(92\)90053-Z](https://doi.org/10.1016/0959-8030(92)90053-Z)
- Sritunyalucksana, K., & Soderhall, K. (2000). The proPO and clotting system in crustaceans. *Aquaculture*, 191(1–3), 53–69. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(00\)00411-7](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00411-7)
- Tabarsa, M., You, S. G., Dabaghian, E. H., & Surayot, U. (2018). Water-soluble polysaccharides from *Ulva intestinalis*: Molecular properties, structural

elucidation and immunomodulatory activities. *Journal of Food and Drug Analysis*, 26(2), 599–608. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2017.07.016>

Yeh, S. T., Lee, C. S., & Chen, J. C. (2006). Administration of hot-water extract of brown seaweed *Sargassum duplicatum* via immersion and injection enhances the immune resistance of white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish and Shellfish Immunology*, 20(3), 332–345. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2005.05.008>