

Pertumbuhan dan respons imun *Litopenaeus vannamei* yang diberi β -(1,3) glukukan dan poli- β -hidroksibutirat

Growth and immune response of *Litopenaeus vannamei* fed on β -(1, 3) glucan and poly- β hydroxybutyrate

Sarmin, Muhammad Agus Suprayudi*, Dedi Jusadi, Julie Ekasari

Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor
Kampus IPB Dramaga Bogor, Jawa Barat 16680

*Surel: agus.suprayudi1965@yahoo.com

ABSTRACT

This research was aimed to examine the growth performance and non-specific immune response of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed on the diet supplemented with β -(1,3) glucan (BG) and poly- β -hydroxybutyrate (PHB) as feed additives. Shrimp juvenile at an initial body weight of 2.06 ± 0.03 g was randomly distributed into 12 units of aquaria at a density of 20 shrimps/tank and reared for 42 days. The treatments applied in this study were control (without feed additives), 1.5 g/kg BG, 10 g/kg PHB and 1.5 g/kg BG+10 g/kg PHB. Results showed that shrimp fed on 1.5 /kg BG-supplemented feed had significantly higher growth performance and non-specific immune response.

Keywords: growth, shrimp, non-specific immune response, *Litopenaeus vannamei*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menguji kinerja pertumbuhan dan respons imun nonspesifik udang vaname *Litopenaeus vannamei* yang diberi pakan dengan penambahan *feed additive* berupa β -(1,3) glukukan (BG) dan poli- β -hidroksibutirat (PHB). Juvenil udang $2,06 \pm 0,03$ g dipelihara pada 12 unit akuarium dengan empat perlakuan dan tiga ulangan, serta padat tebar 20 ekor/tank selama 42 hari pemeliharaan. Perlakuan yang diberikan dalam penelitian ini yaitu penambahan BG (1,5 g/kg), PHB (10 g/kg), dan BG (1,5 g/kg)+PHB (10 g/kg), serta kontrol (tanpa penambahan *feed additive*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa udang yang diberi 1,5 g/kg BG memiliki kinerja pertumbuhan dan respons imun nonspesifik yang terbaik.

Kata kunci: pertumbuhan, udang, respons imun nonspesifik, *Litopenaeus vannamei*

PENDAHULUAN

Budidaya udang vaname *Litopenaeus vannamei* dihadapkan pada masalah terjadinya penyakit terutama yang disebabkan oleh virus. *white spot syndrome virus* (WSSV) dan *taura syndrome virus* (TSV) merupakan penyakit yang paling banyak mengakibatkan kerugian pada industri budidaya udang vaname di Amerika maupun Asia, termasuk di Indonesia (Lightner, 2003). Masalah yang sama juga terjadi di Thailand, Filipina, dan Indonesia yang disebabkan oleh penyakit *yellow head virus* (YHV). Sementara ketiga virus ini belum teratasi, kini muncul *infectious myonecrosis virus* (IMNV) sebagai penyakit baru. IMNV telah menginfeksi budidaya udang vaname di Jawa Timur, Bali, Nusa Tenggara dan Sumatera. IMNV menyerang udang terutama

pada juvenil dan udang muda dengan *host* utama adalah udang vaname.

Beberapa cara pencegahan penyakit akibat bakteri dan virus telah dilakukan, seperti vaksinasi dan biosekuriti, tetapi kedua cara ini belum bisa mengatasi permasalahan. Meskipun vaksinasi sangat efektif, namun membutuhkan waktu, tenaga, dan biaya yang mahal serta proteksi yang dihasilkan bersifat spesifik (Cook *et al.*, 2003), sementara sistem imun udang termasuk ke dalam sistem imun nonspesifik. Biosekuriti seperti pergantian air, penyaringan, dan pengeringan kolam untuk membatasi masuknya patogen dalam lingkungan budidaya, bahkan dikombinasikan dengan udang *specific pathogen free* (SPR) secara nyata meningkatkan produksi, namun penyakit terus saja terjadi dalam usaha budidaya (Moss *et al.*, 2006). Oleh karena itu, perlu ada upaya lain

yang dapat mengurangi kematian akibat serangan penyakit. Salah satu cara yang dapat dilakukan adalah dengan meningkatkan daya tahan tubuh udang.

Feed additive merupakan bahan pakan tambahan yang diberikan melalui pencampuran pakan untuk mendapatkan pertumbuhan yang optimal. Penambahan β -glukan yang berasal dari dinding sel bakteri dan khamir berfungsi sebagai *feed additive*, diharapkan mampu meningkatkan sistem imun udang. Menurut Vetvicka *et al.* (2002), β -(1,3) glukan (BG) dapat meningkatkan kemampuan sel darah putih dalam menghancurkan benda asing yang ada pada tubuh dan melindungi mamalia dari infeksi penyakit. Menurut Sakai (1999), BG juga dapat mengaktifkan mekanisme pertahanan nonspesifik dan meningkatkan daya tahan terhadap penyakit infeksi dengan meningkatkan jumlah sel darah. Poli- β -hidroksibutirat (PHB) adalah bahan *feed additive* yang dapat diproduksi oleh *Bacillus* spp. dan *Lactobacillus* (Anderson & Dawes, 1990; Aslim *et al.*, 1998; Yilmaz *et al.*, 2005). PHB dapat mengaktifkan mekanisme pertahanan nonspesifik dengan cara melepaskan asam lemak yang dapat melindungi udang dari patogen. Asam lemak dapat menyediakan energi bagi udang dan menghambat pertumbuhan patogen (Defoirdt *et*

al., 2007). Penggunaan PHB pada *Artemia* dapat meningkatkan sistem imun dengan menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Nhan *et al.*, 2010). Penggunaan BG dan PHB diharapkan secara sinergis dapat meningkatkan sistem imun nonspesifik yang lebih efektif sehingga resistensi dan sintasan udang tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi kinerja pertumbuhan dan respons imun nonspesifik udang vaname yang diberi pakan dengan kandungan BG dan PHB.

BAHAN DAN METODE

Pakan uji

Empat jenis pakan dibuat sesuai dengan perlakuan yang diuji. Keempat jenis pakan tersebut disusun dari bahan baku yang sama, dengan jumlah PHB dan BG yang berbeda. PHB dan BG yang digunakan dalam penelitian ini adalah produk komersial yang dicampurkan bersama bahan pakan lain dalam pembuatan pakan. Pakan kontrol, merupakan pakan tanpa penambahan PHB dan BG, tiga jenis pakan lainnya ditambah PHB atau BG dengan kadar seperti tertera di Tabel 1. Seluruh bahan baku dicampur secara merata, kemudian dicetak dengan ukuran diameter 3 mm. Pakan selanjutnya dikeringkan dalam *oven* dengan suhu 35 °C hingga kadar

Tabel 1. Formulasi bahan pakan (%) yang digunakan dalam pembuatan pakan uji dan komposisi proksimatnya (%)

Bahan baku	Jenis pakan			
	Kontrol	BG	PHB	BG+PHB
Tepung ikan	50,00	50,00	50,00	50,00
Bungkil kedelai	18,00	18,00	18,00	18,00
Tepung polard	22,00	21,85	21,00	20,85
Minyak ikan	4,00	4,00	4,00	4,00
Mineral <i>mix</i>	2,00	2,00	2,00	2,00
Vitamin	2,00	2,00	2,00	2,00
CMC	2,00	2,00	2,00	2,00
BG	0,00	0,15,00	0,00	0,15
PHB	0,00	0,00	1,00	1,00
Proksimat:				
Air	4,06	4,13	4,55	3,66
Protein	38,58	37,18	36,96	37,26
Lemak	8,54	10,22	10,49	10,25
Abu	15,09	14,73	14,03	14,35
Serat kasar	6,58	6,93	3,88	3,25
BETN	27,15	26,79	30,09	31,23

Keterangan: BG: β -(1,3) glukan, PHB: poli- β -hidroksibutirat, BG+PHB: β -(1,3) glukan+poli- β -hidroksibutirat, CMC: karboksi metil selulosa, BETN: bahan ekstrak tanpa nitrogen.

airnya sekitar 4%. Komposisi proksimat pakan uji tertera di Tabel 1.

Pemeliharaan udang

Wadah yang digunakan dalam penelitian ini adalah akuarium sebanyak 20 buah dengan ukuran 90×40×35 cm³. Akuarium diisi air laut sebanyak 90 L dan didesinfeksi dengan larutan klorin 30 mg/L serta diaerasi kuat selama 24 jam. Kemudian ditambahkan sodium tiosulfat 15 mg/L untuk menetralkan kandungan klorin dan diaerasi kuat minimal empat jam.

Udang yang digunakan adalah udang vaname dengan bobot rata-rata 2,06±0,03 g. Udang vaname diperoleh dari Anyer, Banten. Udang dipelihara dengan kepadatan awal 20 ekor setiap akuarium selama 42 hari. Selama masa budidaya, udang diberi pakan perlakuan. Jumlah pakan harian disesuaikan dengan biomassa dan persentase pakan berdasarkan bobot dari udang dengan frekuensi pemberian pakan empat kali sehari, yaitu pukul 06.00, 10.00, 14.00, dan 20.00.

Parameter uji

Evaluasi keberhasilan perlakuan terhadap udang yang dipelihara, dianalisis melalui meliputi *total haemocyte count* (THC), dan *respiratory burst* (RB).

Total haemocyte count (THC)

Tiga ekor udang diambil secara acak dari masing-masing ulangan untuk pengambilan sampel hemolim. Pengambilan hemolim dilakukan menggunakan alat suntik berukuran 1 mL. Sebanyak 0,2 mL hemolim diambil menggunakan jarum suntik 1 mL yang telah berisi 0,2 mL antikoagulan. Campuran hemolim-antikoagulan tersebut kemudian diteteskan pada hemositometer. THC dihitung pada mikroskop dengan perbesaran 100 kali.

Respiratory burst (RB)

RB dari hemolim diukur berdasarkan reduksi NBT (*nitroblue tetrazolium*) sebagai ukuran *superoxide anion* (O₂⁻) (Cheng *et al.*, 2004). Sebanyak 50 µL campuran hemolim-antikoagulan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang, disentrifugasi dengan kecepatan 3.000 rpm selama 20 menit, kemudian supernatan dibuang. Selanjutnya endapan yang terbentuk ditambahkan 100 µL NBT dalam larutan *hank's basal salt solution* (HBSS) dengan konsentrasi 0,3% dan didiamkan selama dua jam pada suhu ruang, disentrifugasi dengan kecepatan 3.000

rpm selama sepuluh menit, supernatan dibuang dan ditambahkan 100 µL metanol absolut. Larutan tersebut kemudian disentrifugasi kembali dengan kecepatan 3.000 rpm selama sepuluh menit. Endapan yang terbentuk kemudian dibilas sebanyak dua kali dengan metanol 70%. Selanjutnya endapan dilarutkan dengan 120 µL KOH (2M) dan 140 µL DMSO dan dimasukkan ke *microplate* kemudian dilakukan pengukuran densitas optikal (OD) menggunakan *microplate reader* dengan panjang gelombang 630 nm. RB dinyatakan sebagai reduksi NBT per 10 µL hemolim.

Analisis kimia

Analisis proksimat dilakukan pada pakan uji udang vaname di awal dan akhir pemeliharaan. Analisis proksimat pakan perlakuan meliputi kadar protein kasar dilakukan dengan Metode Kjeldahl, kadar lemak kering dengan Metode Soxhlet, kadar lemak basah dengan Metode Folch, kadar abu dengan pemanasan sampel pada suhu 600 °C, serat kasar menggunakan metode pelarutan sampel dengan asam, basa kuat, dan pemanasan serta kadar air dengan metode pemanasan dalam oven bersuhu 105–110 °C (Takeuchi, 1988).

Analisis data

Data kinerja pertumbuhan dan respons imun nonspesifik udang diolah menggunakan analisis ragam dengan selang kepercayaan 95% dan untuk melihat perbedaan antar perlakuan digunakan Uji lanjut *Duncan*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Setelah dipelihara selama 42 hari, udang mengalami pertumbuhan yang signifikan. Hal ini terlihat dari terjadinya peningkatan bobot tubuh udang (Tabel 3). Pada akhir masa pemeliharaan, bobot tubuh udang meningkat antara 3,03–4,78 kali lipat dibanding pada awal pemeliharaan. Udang yang diberi pakan PHB 10 g/kg memiliki bobot tubuh yang lebih rendah dari kelompok udang di tiga perlakuan lainnya (Tabel 2).

Udang yang diberi pakan dengan penambahan BG memiliki laju pertumbuhan yang paling tinggi dibandingkan dengan perlakuan lain maupun kontrol. Namun, udang yang diberi PHB 10 g/kg, secara signifikan memiliki laju pertumbuhan yang lebih rendah. Fenomena laju pertumbuhan antar perlakuan ini sejalan dengan nilai peningkatan

Tabel 2. Kinerja pertumbuhan udang vaname *Litopenaeus vannamei* setelah pemeliharaan selama 42 hari

Parameter	Perlakuan			
	Kontrol	BG	PHB	BG+PHB
Bobot awal	2,07±0,03	2,09±0,03	2,03±0,13	2,04±0,12
Bobot akhir	8,05±0,20	9,97±0,42	7,47±0,30	8,49±0,79
SGR	1,88±0,03ab	2,14±0,05c	1,80±0,06a	1,95±0,09b
FCR	2,41±0,09b	2,16±0,04a	2,59±0,18b	2,53±0,05b
Retensi protein	14,51±0,94ab	16,08±3,09b	11,78±2,09a	12,06±0,21a
Sintasan	85,00±0,00b	96,67±5,77c	73,33±2,89a	75,00±5,00a

Keterangan: SGR: *specific growth rate*; FCR: *feed conversion ratio*; BG: β -(1,3) glukon; PHB: poli- β -hidroksibutirat; BG+PHB: β -(1,3) glukon+poli- β -hidroksibutirat. Angka yang diikuti huruf yang sama dalam satu baris menunjukkan tidak berbeda nyata ($P < 0,05$).

Tabel 3. Parameter imun nonspesifik udang vaname *Litopenaeus vannamei* setelah masa pemeliharaan selama 42 hari

Parameter	Perlakuan			
	Kontrol	BG	PHB	BG+PHB
THC	6,35±2,75b	10,87±2,24c	1,70±0,14a	7,16±2,78b
RB	0,04±0,00a	0,12±0,02b	0,05±0,00a	0,07±0,02a

Keterangan: THC: *total haemocyte count*, RB: *respiratory burst*, BG: β -(1,3) glukon; PHB: poli- β -hidroksibutirat; BG+PHB: β -(1,3) glukon+poli- β -hidroksibutirat. Angka yang diikuti huruf superskrip yang sama dalam satu baris menunjukkan tidak berbeda nyata ($P < 0,05$).

bobot udang, FCR, dan sintasan seperti diulas sebelumnya. Di sisi lain, retensi protein udang yang diberi pakan dengan penambahan BG, secara signifikan berbeda nyata dengan perlakuan lain tetapi tidak berbeda nyata dengan kontrol.

Respons imun non spesifik yang terdiri dari THC dan RB disajikan pada Tabel 4. Pemberian BG, PHB, dan BG+PHB pada udang melalui pakan mampu meningkatkan respons imun nonspesifik udang tersebut. Respons imun nonspesifik udang yang diberi pakan dengan penambahan BG secara signifikan berbeda nyata dengan perlakuan yang lain.

Selama penelitian kualitas air dijaga supaya tetap stabil dengan cara air diganti setiap hari sebanyak 50%. Kualitas air yang diukur selama penelitian ini seperti temperatur, pH, oksigen terlarut, dan salinitas yang disajikan pada Tabel 4.

Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan BG di dalam pakan menghasilkan pertumbuhan udang yang paling tinggi. Namun demikian, udang yang diberi pakan PHB memiliki pertumbuhan yang rendah. Penelitian De Schryver *et al.*, (2010), menunjukkan bahwa PHB yang ditambahkan pada pakan dengan kadar 2% dan 5% merangsang pertumbuhan ikan *European sea bass Dicentrarchus labrax*. Di dalam usus,

PHB terdegradasi dan meningkatkan produksi asam lemak rantai karbon rendah, yang dicirikan dengan terjadinya penurunan pH dari 7,7 menjadi 7,2. Apabila keadaan menjadi lebih alkali, asam lemak rantai rendah yang berfungsi sebagai penyusun membran sel dapat memisahkan diri, sehingga konsentrasi proton dalam sel meningkat. Oleh karena itu, sel banyak kehilangan energi untuk mempertahankan pH supaya tetap optimal. Akibatnya energi sel untuk metabolisme habis dan pertumbuhan terhambat. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa, pemberian PHB pada kadar 1% menghasilkan pertumbuhan udang yang lebih rendah dari perlakuan yang lain. Berdasarkan fenomena ikan *sea bass* pada penelitian De Schryver *et al.* (2010), PHB yang diberikan ke udang pada penelitian ini diduga belum memenuhi kebutuhan udang, sehingga pertumbuhannya lebih rendah dari kontrol.

BG yang diberikan kepada udang diurai dalam proses pencernaan oleh glukonase untuk menghasilkan energi sehingga memungkinkan lebih banyak lagi protein yang digunakan untuk pertumbuhan (Manoppo, 2011). Hal ini sesuai dengan pernyataan Lopez *et al.* (2003) yang mengatakan bahwa penambahan BG 2 g/kg dalam pakan yang diberikan pada udang vaname selama 48 hari dapat meningkatkan laju pertumbuhan spesifiknya hingga mencapai 14% lebih tinggi

Tabel 4. Kondisi air pemeliharaan udang vaname *Litopenaeus vannamei* selama 42 hari

Perlakuan	Kualitas air			
	Temperatur (°C)	Oksigen terlarut	pH	Salinitas (ppt)
Kontrol	28,4–28,6	6,2–6,7	8	33
BG	28,3–28,5	6,2–6,7	8	33
PHB	28,5–28,6	6,2–6,7	8	32
BG+PHB	28,4–28,5	6,4–6,6	8	33

Keterangan: BG: β -(1,3) glukukan, PHB: poli- β -hidroksibutirat, BG+PHB: β -(1,3) glukukan+poli- β -hidroksibutirat.

dibandingkan kontrol. Penelitian Sang dan Fotedar (2010) juga menyatakan bahwa laju pertumbuhan *Cherax tenuimanus* yang diberi BG 0,1–0,2 mg/kg pakan selama 84 hari lebih tinggi dibandingkan dengan yang tidak diberikan BG.

Nilai konversi pakan (FCR) menunjukkan seberapa besar udang dapat memanfaatkan pakan tersebut yaitu berapa jumlah pakan yang diperlukan untuk menghasilkan 1 kg daging (Halver & Hardy, 2003). Nilai FCR udang yang diberi pakan dengan penambahan BG secara signifikan berbeda nyata dengan perlakuan lain maupun kontrol. Hal ini diduga karena pakan yang diberi BG lebih berkualitas, sehingga pakan lebih mudah dimanfaatkan oleh udang. Sesuai dengan pernyataan Halver dan Hardy (2003) bahwa salah satu faktor yang memengaruhi tinggi rendahnya konversi pakan adalah kualitas pakan tersebut. Semakin rendah FCR maka semakin efektif pakan yang digunakan untuk pertumbuhan.

Retensi protein merupakan gambaran dari banyaknya pemberian protein, yang dapat diserap dan dimanfaatkan untuk membangun dan memperbaiki sel-sel tubuh yang rusak serta dimanfaatkan tubuh bagi metabolisme sehari-hari (Suprayudi, 2012). Nilai retensi protein udang yang diberi BG pada pakan memiliki nilai yang tertinggi tetapi secara statistik tidak berbeda nyata dengan kontrol. Hal ini diduga karena sel memiliki batas tertentu dalam menimbun protein, apabila telah mencapai batas ini, setiap penambahan asam amino dalam cairan tubuh dipecahkan dan digunakan untuk energi atau disimpan sebagai lemak, yang dimulai dengan proses yang dikenal sebagai deaminasi (pembuangan gugus amino dari asam amino) dan diekskresi sebagai amonia (NH_3) atau ion amonium (NH_4) (Fujaya, 2002).

Namun demikian, udang yang diberi BG dalam pakan berbeda nyata dengan pakan yang diberi PHB dan BG+PHB. Hal ini diduga karena PHB tidak bisa diurai menjadi energi, sehingga protein lebih banyak digunakan sebagai sumber energi untuk metabolisme akhirnya protein untuk pertumbuhan justru berkurang.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan BG di dalam pakan menghasilkan nilai THC udang yang berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan lain maupun kontrol. BG bekerja dengan cara mengikat molekul reseptor yang terdapat pada permukaan sel fagosit, sehingga sel fagosit menjadi lebih aktif dalam melakukan fagositosis terhadap partikel asing dan merangsang pembentukan sel-sel hemolim yang baru (Rodriguez & Lee Moullac, 2000). Hasil penelitian yang dilaporkan oleh Sahoo *et al.* (2008) menyatakan bahwa udang galah yang diberi pakan dengan tambahan BG dengan kadar 1,5 g/kg memiliki nilai THC yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lain. Sahoo *et al.* (2008) menjelaskan tingginya nilai THC pada udang galah yang diberi BG diakibatkan oleh tingginya mobilisasi sel darah dalam tubuh udang sehingga dapat meningkatkan imunitas dan pengenalan mengenai benda asing yang masuk dalam tubuh udang.

THC yang rendah sangat memengaruhi kerentanan udang terhadap patogen (Le Moullac *et al.*, 1998). THC yang menurun dapat terjadi akibat infeksi akut yang menyebabkan kematian (Rodriguez & Le Moullac, 2000). Nilai THC juga sejalan dengan nilai RB yang berbeda nyata antar perlakuan dengan kontrol. RB berkaitan dengan pembentukan sel fagosit pada hemolim udang (Rodriguez & Le Moullac, 2000) yang dapat diaktifkan dengan adanya BG dalam bakteri (Smith *et al.*, 2003; Sritunyalucksana & Soderhall, 2000). RB berkaitan dengan mekanisme fagositosis, sehingga semakin tinggi nilai RB maka sistem imun udang diduga menjadi semakin baik (Rodriguez & Le Moullac, 2000).

BG dapat meningkatkan respons imun nonspesifik dan sintasan udang. BG meningkatkan respons imun udang dengan cara meningkatkan aktivitas sel-sel fagosit untuk menjalankan proses fagositosis (Yin *et al.*, 2006). Hasil penelitian Chang *et al.* (2003b) memperlihatkan bahwa pemberian oral BG selama 20 hari secara efektif meningkatkan sistem imun udang windu, yang

menghasilkan peningkatan sintasan melawan infeksi WSSV.

Chang *et al.* (2003a) melaporkan bahwa suplementasi 2 g/kg pakan selama 40 hari meningkatkan sintasan udang windu. Song *et al.* (2003) juga melaporkan bahwa penambahan BG dalam pakan dapat meningkatkan sintasan udang windu terhadap infeksi WSSV. Hasil penelitian lain juga menunjukkan bahwa BG yang ditambahkan dalam pakan dapat meningkatkan resistensi *post larva* udang windu terhadap vibriosis (Sung *et al.*, 2001).

KESIMPULAN

Pemberian BG sebanyak 1,5 g/kg pakan sebagai *feed additive* meningkatkan kinerja pertumbuhan dan respons imun nonspesifik udang sedangkan pemberian PHB 1 g/kg pakan tidak berbeda nyata dengan kontrol.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson AJ, Dawes EA. 1990. Occurrence, metabolism, metabolic role and industrial uses of bacterial polyhydroxyalkanoates. *Microbiological Reviews* 54: 450–472.
- Aslim B, Caliskan F, Beyatli Y, Gündüz U. 1998. Poly- β -hydroxybutyrate production by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letter* 159: 293–297.
- Chang CF, Chen HY, Su MS, Liao IC. 2003a. Immunomodulation by dietary β -1,3-glucan in the brooders of the black tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Fish Shellfish Immunology* 10: 505–514.
- Chang CF, Su MS, Chen HY, Liao IC. 2003b. Dietary β -1,3-glucan effectively improve immunity and resistance of *Penaeus monodon* challenged with white spot syndrome virus. *Fish Shellfish Immunology* 15: 297–310.
- Cheng W, Liu CH, Yeh ST, Chen JC. 2004. The immune stimulatory effect of sodium alginate on the white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its resistance against *Vibrio alginolyticus*. *Fish and Shellfish Immunology* 17: 41–51.
- Cook MT, Hayball PJ, Hutchinson W, Nowak BF, Hayball JD. 2003. Administration of a commercial immune-stimulant preparation, EcoActiva as a feed supplement enhances macrophage respiratory burst and the growth of snapper *Pagurus auratus* Sparidae (Bloch and Schneider) in winter. *Fish and Shellfish Immunology* 14: 333–345.
- Defoirdt T, Halet D, Vervaeren H, Boon N, Van de WT, Sorgeloos P, Bossier P, Verstraete W. 2007. The bacterial storage compound of poly- β -hydroxybutyrate protects *Artemia fransiseana* from pathogenic *Vibrio campbellii*. *Environmental Microbiology* 9: 445–452.
- De Schryver P, Sinha AK, Kunwarr PS, Baruah K, Verstraete W, Boon N, De Boeck G, Bossier P. 2010. Poly-beta-hydroxybutyrate (PHB) increases growth performance and intestinal bacterial range-weighted richness in juvenile European sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 86: 1.535–1.541.
- Fujaya Y. 2002. Fisiologi Ikan. Jakarta: Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional.
- Halver JE, Hardy RW. 2003. Fish Nutrition. New York: Academic Press.
- Le Moullac G, Soyeux C, Saulnier D, Ansquer D, Avarre JC, Levy P. 1998. Effect of hypoxic stress on the immune response and the resistance to vibriosis of the shrimp *Penaeus stylirostris*. *Fish Shellfish Immunology* 8: 621–629.
- Lightner, D.V. 2003. Biosecurity in Aquaculture Production Systems: Exclusion of Pathogens and Other Undesirables. In: Lee CS, O'Bryen PJ (eds.). Exclusion of Specific Pathogens for Disease Prevention in a Penaeid Shrimp Biosecurity Program. Baton Rouge, LA, USA: The World Aquaculture Society. Hlm. 81–116.
- Lopez N, Cuzon G, Gaxiola G, Taboada G, Valenzuela M, Pascual C, Sanches A, Rosas C. 2003. Physiological, nutritional, and immunological role of dietary β -glucan and ascorbic acid 2-monophosphate in *Litopenaeus vannamei* juveniles. *Aquaculture* 224: 223–243.
- Manoppo H. 2011. Peran nukleotida sebagai imunostimulan terhadap respons imun nonspesifik dan resistensi udang vaname *Litopenaeus vannamei* [Disertasi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Moss SM, Arce SM, Moss DR, Otoshi CA. 2006. Disease Prevention strategies for Penaeid Shrimp Culture. Hawaii, USA: The Oceanic Institute.
- Nhan DT, Wille M, Schryver PD, Defoirdt T, Bossier P, Sorgeloos P. 2010. The effect of poly- β -hydroxybutyrate on larviculture of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergi*. *Aquaculture* 302: 76–81.
- Rodriguez L, Le Moullac G. 2000. State of the art

- of immunological tools and health control of penaeid shrimp. *Aquaculture* 191: 109–119.
- Sahoo PK, Das A, Mohanty S, Mohanty BK, Pilai BR, Mohanty J. 2008. Dietary β -1,3 glucan improve the immunity and disease resistance of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* challenged with *Aeromonas hydrophyla*. *Aquaculture Research* 39: 1.574–1.578.
- Sakai M. 1999. Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture* 172: 63–92.
- Sang H, Fotedar R. 2010. Effects of dietary β -1,3-glukan on the growth, survival, physiological, and immune response of marron *Cherax tenuimanus* (Smith 1912). *Fish and Shellfish Immunology* 28: 957–960.
- Suprayudi MA, Haryanto D, Jusadi D. 2012. The effect of phytase level in the diet on the digestibility and growth performance of white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Jurnal Akuakultur Indonesia* 11: 103–108.
- Smith VJ, Janet HB, Hauton C. 2003. Immunostimulation in crustaceans: does it really protect against infection? *Fish and Shellfish Immunology* 15: 71–90.
- Song YL, Yu CI, Lien TW, Huang CC, Lin MN. 2003. Hemolymph parameters of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* infected with taura syndrome virus. *Fish Shellfish Immunology* 114: 317–331.
- Sritunyalucksana K, Soderhall K. 2000. The proPO and clotting system in crustaceans. *Aquaculture* 191: 53–69.
- Sung HH, Hsu SF, Chen CH, Ting YY, Chao WL. 2001. Relationships between disease outbreak in cultured tiger shrimp *Penaeus monodon* and the composition on *Vibrio* communities in pond water and shrimp hepatopancreas during cultivation. *Aquaculture* 192: 101–110.
- Takeuchi, T. 1988. Laboratory work-chemical evaluation of dietary nutrients. In: Watanabe T (eds). *Fish Nutrition and Mariculture*. Japan: Kanagawa international fisheries training centre. Japan: Japan International Cooperation Agency (JICA). Hlm. 179–233.
- Vetvicka V, Terayama K, Mandeville R, Brousseau P, Kournikakis B, Ostroff G. 2002. Orally-administered yeast beta-1,3-glukan prophylactically protects against anthrax infection and cancer in mice. *The Journal of the American Nutraceutical Association* 5: 1–5.
- Yilmaz M, Soran H, Beyatli Y. 2005. Determination of poly-beta hydroxybutyrate (PHB) production by some *Bacillus* spp. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 21: 565–566.
- Yin G, Jeney G, Racs T, Xu P, Jun X, Jeney Z. 2006. Effect of two Chinese herbs *Astragalus radix* and *Scutellaria radix* on nonspecific immune system of tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 253: 39–47.