

Potensi Ekstrak *Ulva reticulata* Dalam Meningkatkan Aktivitas Lisozim Dan Diferensiasi Hemosit Pada Udang Windu (*Penaeus monodon*)

Nurfitri Rahim¹, Sri Wulan², Elmi Nurhaidah Zainuddin³

Fakultas Kelautan dan Ilmu perikanan, Universitas Hasanuddin, Makassar, Indonesia.

Email: fitrirahim12@gmail.com

Abstrak. Udang windu (*Penaeus monodon*) adalah salah satu jenis udang konsumsi yang menjadi komoditas andalan dari berbagai daerah di Indonesia. Rumput laut *Ulva reticulata* merupakan alga hijau multiseluler diketahui memiliki kandungan polisakarida sulfat dan metabolit sekunder yang berpotensi meningkatkan sistem kekebalan tubuh pada udang. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis potensi Ekstrak *Ulva reticulata* dalam meningkatkan respon imun humoral dan seluler pada udang windu. Rancangan penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dengan 3 ulangan. Perlakuan dilakukan dengan mencampurkan ekstrak *Ulva reticulata* pada pakan komersil dengan dosis 0, 0,5, 1,0 dan 1,5 g kg⁻¹ selama 14 hari. Parameter pengamatan terdiri atas aktivitas lisozim dan diferensiasi hemosit. Hasil penelitian menunjukkan aktivitas lisozim tertinggi ditunjukkan pada perlakuan D (1,5 g kg⁻¹) dengan aktivitas lisozim 0,93±0,01 mm dan diferensiasi hemosit yang hampir sama tiap perlakuan.

Kata kunci: *Ulva reticulata*, Aktivitas Lisozim, Diferensiasi hemosit, udang windu

Latar Belakang

Udang windu (*Penaeus monodon*) adalah salah satu jenis udang konsumsi yang menjadi komoditas andalan dari berbagai daerah di Indonesia. Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP) memasang target produksi udang Indonesia termasuk udang windu tahun 2019 bisa mencapai 1, 098 juta ton dan menjadikan Indonesia sebagai produsen utama udang di dunia. Produksi udang nasional sejak tahun 2016 ditargetkan terus meningkat sebesar 74.75% hingga tahun 2018 yaitu 400.300 ton menjadi 750.000 ton (Ditjen PB 2016). Namun salah satu kelemahan dari udang windu yaitu sangat rentan terserang penyakit.

Usaha pengendalian penyakit selama ini mengandalkan antibiotik sintetik karena

harganya murah dan cepat membunuh bakteri. Namun penggunaan antibiotik secara terus menerus dapat mengakibatkan efek negatif bagi lingkungan dan organisme. Bakteri patogen menjadi resisten terhadap senyawa antibiotik dan dapat menyebabkan residu pada udang yang berbahaya bagi konsumen dan dapat mengganggu perkembangan flora normal usus yang digunakan pada proses pencernaan dan penyerapan makanan dalam tubuh. Selain itu penggunaan antibiotik yang diberikan sebagai treatment atau pengobatan dapat memberikan efek negatif pada lingkungan. Sisa-sisa antibiotik yang berada di saluran air dalam dosis berlebihan pada akhirnya juga mencemari lingkungan (Rakhmawan, 2009).

Budidaya udang windu yang telah terserang penyakit akan sulit disembuhkan oleh karena itu perlu dilakukan tindakan preventif terhadap serangan penyakit. Salah satu cara untuk mencegah terjadinya serangan penyakit yaitu dengan meningkatkan sistem imunitas pada udang windu. Udang mempunyai daya tahan tubuh yang bersifat non spesifik terhadap organisme patogen.

Sistem imunitas pada udang sangat bergantung terhadap proses pertahanan non spesifik sebagai pertahanan pertama terhadap serangan penyakit (Lee *et al.*, 2004). Salah satu upaya dalam pencegahan penyakit pada udang adalah melalui peningkatan sistem imun pada udang dengan menggunakan imunostimulan, vitamin dan hormon (Johny *et al.*, 2005).

Imunostimulan merupakan senyawa kimia, obat atau bahan lain yang mampu meningkatkan mekanisme respon imun spesifik dan non spesifik ikan (Anderson, 1992).. Penggunaan imunostimulan merupakan solusi yang paling aman sebagai upaya perlindungan terhadap serangan penyakit, karena dapat meningkatkan sistem kekebalan natural (*innate immunity*) dan *adaptive immunity* pada ikan (Sakai, 1999; Ortuno *et al.*, 2002). Salah satu bahan alami yang dapat dipergunakan untuk imunostimulan adalah rumput laut. (Ridlo, 2009).

Rumput laut merupakan salah satu sumberdaya hayati yang jumlahnya melimpah di perairan Indonesia. Pemanfaatan rumput laut saat ini masih terbatas pada produk karagenan dan agar. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa rumput laut memiliki potensi yang masih terbuka dalam pengembangan bidang pencegahan maupun pengobatan penyakit. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa

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 yang terkandung dalam rumput laut *Halimeda macroloba* 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).

Ulva reticulata merupakan salah satu jenis rumput laut yang termasuk alga hijau yang memiliki potensi sebagai immunomodulator dengan adanya kandungan polisakarida sulfat dan senyawa golongan triterpenoid, flavonoid, dan alkaloid; (Anggadiredja, 2006; Kursia, 2013 Lukman *et al.*, 2015). Rahim, *et al.* (2019) dalam penelitiannya menyatakan bahwa total hemosit dan aktivitas fagositosis udang yang diberi pakan dengan ekstrak *U. reticulata* lebih tinggi dibanding udang yang hanya diberi pakan komersil. Selvin *et al.*, (2004) menyatakan bahwa penambahan ekstrak *Ulva* sp dalam pakan udang windu mampu meningkatkan respon imun non spesifik berupa total hemosit, aktivitas fagositosis dan persentase jenis hemosit pada udang windu. Declarador *et al.*, (2014) dalam penelitiannya mengungkapkan bahwa pemberian ekstrak *Ulva* sp yang dicampurkan pada pakan mampu meningkatkan respon imun non spesifik seperti total hemosit, aktivitas *phenoloxidase*, dan *Respiratory Burst* pada udang windu dan mampu meningkatkan

tingkat kelangsungan hidup udang windu yang terserang virus *white spot syndrome virus* (WSSV). Selain itu *U. reticulata* tidak menunjukkan aktivitas sitoksisitas pada organisme sehingga aman untuk digunakan (Asri, 2011). Dengan adanya senyawa aktif tersebut diharapkan ekstrak *Ulva reticulata* dapat digunakan sebagai immunostimulan dalam meningkatkan respon imun humoral seperti aktifitas lisozim dan respon imun seluler yang ditunjukkan persentase diferensiasi hemosit untuk pencegahan serangan penyakit.

Lisozim merupakan salah satu enzim yang berperan penting dalam proses imunitas udang. Lisozim dapat membunuh bakteri apabila lingkungan tempat bakteri tersebut tidak berada dalam keadaan isotonis yaitu konsentrasi zat terlarut di dalam sel dan di luar sel (lingkungan) seimbang sehingga sekalipun dinding sel bakteri pecah, air tidak akan masuk ke dalam sel dan lisis tidak terjadi.

Klasifikasi tipe hemosit krustase terutama didasarkan pada keberadaan granula sitoplasma, yaitu sel hyalin, semi granular, dan granular (Johansson *et al.* 2000) masing-masing tipe sel aktif dalam reaksi kekebalan tubuh, sel hyalin terlibat dalam fagositosis, sel semi granular aktif dalam enkapsulasi, sel granular aktif dalam penyimpanan dan pelepasan proPO system dan sitotoksitas.

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis potensi ekstrak *Ulva reticulata* dalam meningkatkan aktivitas lisozim dan diferensiasi hemosit pada udang windu.

Metode Penelitian

Pengumpulan Sampel

Rumput laut yang telah diambil dimasukkan ke plastik lalu di masukkan dalam *coolbox* yang telah berisi es batu

untuk menjaga kesegaran rumput laut selama perjalanan menuju laboratorium. Preparasi rumput laut merujuk pada metode Lukman *et al.* (2015) rumput laut *Ulva reticulata* dimulai dengan proses pencucian, dengan air laut, air tawar dan aquadest sterill setelah proses pencucian sampel ditiriskan dan dikeringkan di tempat yang terlindung dari sinar matahari secara langsung selama 4-6 hari. Rumput laut yang telah kering dihaluskan dan dimasukkan ke dalam kantong plastik kemudian ditimbang dan disimpan dalam kondisi kering untuk selanjutnya dilakukan proses ekstraksi.

Ekstraksi *Ulva reticulata* Dengan Metode Maserasi

Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode ekstraksi tunggal dengan menggunakan pelarut etanol (Kursia, 2013). Sampel yang telah dihancurkan ditimbang sebanyak 50 gram dan dimaserasi dengan pelarut etanol sebanyak 300 mL (perbandingan 1: 2 w/v) selama 3 X 24 jam. Hasil maserasi yang berupa larutan kemudian disaring dengan kertas saring Whatman No. 1 sehingga didapat filtrat dan residu. Larutan ekstrak kemudian diuapkan dengan menggunakan rotavapor sampai diperoleh ekstrak kasar.

Organisme uji

Organisme uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah udang windu yang berasal dari tambak percontohan Politeknik Pertanian negeri Pangkep. Udang windu yang digunakan berukuran 6–7 g/ekor, sebanyak 20 ekor/akuarium. Terlebih dahulu udang windu diadaptasikan selama tiga hari dan dipelihara dalam kondisi yang terkontrol. Udang diberi pakan tiga kali

sehari dengan feeding rate (FR) sebesar 4–5 % dari biomassa/hari. Air, wadah, dan peralatan pemeliharaan didisinfeksi terlebih dahulu.

Persiapan Pakan

Ekstrak *Ulva reticulata* ditimbang terlebih dahulu berdasarkan dosis perlakuan dan dilarutkan dalam 100 mL air. Larutan ekstrak *Ulva reticulata* dicampurkan secara merata ke dalam pakan udang komersil yang telah disiapkan. Setelah itu, pakan dikeringanginkan pada suhu ruang, kemudian disalut (coating) dengan putih telur 2,5% dan dikeringanginkan kembali pada suhu ruang, di ruangan terbuka, terlindung dari cahaya matahari langsung. Pakan yang telah siap dimasukkan dalam wadah plastik dan disimpan dalam lemari pendingin hingga digunakan.

Pemberian Pakan Perlakuan

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 kali ulangan.. Perlakuan yang diberikan berdasarkan dari Declarador., *et al.* (2014) yaitu udang windu diberi pakan dengan campuran ekstrak *Ulva reticulata* sebesar K: 0 g kg⁻¹, A: 0,5 g kg⁻¹, B: 1,0 g kg⁻¹ dan C 1,5 g kg⁻¹ pakan udang, sedangkan kontrol adalah udang windu yang diberi pakan udang komersial tanpa penambahan ekstrak *ulva reticulata*. Seluruh perlakuan dan kontrol diberi pakan tiga kali sehari dengan FR sebesar 4–5% biomassa/hari. Pemberian perlakuan berlangsung selama 14 hari. Pengukuran tolak hemosit dan aktivitas Fagositosis dilakukan pada hari ke 15 setelah perlakuan.

Aktivitas Lisozim

Metode yang digunakan adalah modifikasi dari metode Rowley (1993) & Klontz

(1997). Tahap pertama disiapkan media agar yang mengandung *Micrococcus lysodeikticus* (Sigma) pada objek gelas. Pada objek gelas tersebut dibuat lubang berdiameter 6 mm sebanyak tiga buah menggunakan pipet. Plasma darah sebanyak 15 µL dimasukkan kedalam salah satu lubang tersebut, sedangkan satu lubang lagi diisi dengan 15 µL *chicken egg white lysozyme* (Sigma) sebagai kontrol positif dan satu lubang lagi diisi dengan *lysozyme buffer* (Sigma) sebagai kontrol negatif. gelas objek tersebut dibiarkan selama 10 menit pada suhu kamar, kemudian diinkubasi pada suhu 25°C. Aktifitas lisozim diamati dengan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk.

Diferensiasi Hemosit

Penghitungan diferensial hemosit udang dilakukan dengan metode Martin & Graves (1985) penghitungan diferensial hemosit udang dilakukan dengan terlebih dahulu membuat preparat ulas. Darah udang atau hemolim diteteskan pada gelas objek kemudian diratakan selanjutnya preparat ulas tersebut dilakukan pengeringan dengan suhu ruang. Preparat ulas tersebut difiksasi dengan menggunakan metanol selama 10 sampai 15 menit kemudian dilakukan pengeringan dengan suhu ruang kembali. Setelah preparat ulas tersebut kering maka preparat tersebut direndam dalam larutan giemsa selama 15 sampai 20 menit dan dilakukan pengeringan dengan suhu ruang kembali. Jumlah hemosit dihitung hingga 100 sel dan ditentukan persentase tiap jenisnya (hyaline dan granular). Persentase tiap jenis sel hemosit dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Diferensiasi hemosit}(\%) = \frac{\text{jumlah tiap jenis hemosit}}{\text{total hemosit}} \times 100$$

Analisa data

Analisis Data Aktivitas lisozim serta serta diferensiasi hemosit pada udang dianalisis dengan ANOVA, dan bila terdapat perbedaan antar perlakuan dilanjutkan dengan Uji Tuckey.

Hasil dan Pembahasan

Salah satu kendala dalam budidaya udang windu adalah adanya serangan penyakit non infeksi maupun infeksi, yang dapat disebabkan oleh bakteri dan virus. Seperti telah diketahui bahwa sistem imun pada udang windu masih primitif, karena tidak memiliki sel memori seperti halnya hewan vertebrata yang mempunyai antibodi spesifik atau komplemen. Mekanisme pertahanan udang windu sangat bergantung pada kekebalan nonspesifik, yang terdiri dari komponen seluler dan humoral. Kondisi kesehatan dan modulasi sistem imun pada udang dapat diketahui melalui parameter seluler dan humoral, diantaranya seperti diferensiasi hemosit dan aktivitas lisozim.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak *Ulva reticulata* mampu meningkatkan aktivitas lisozim pada udang windu dengan hasil tertinggi pada dosis 1,5 g kg⁻¹ pakan yakni 0,93±0,01 mm sedangkan pakan yang tidak diberi ekstrak *Ulva reticulata* hanya

memiliki aktivitas lisozim sebesar 0,86±0,12 mm (Tabel 1). Hal ini menunjukkan bahwa dengan adanya penambahan ekstrak *Ulva reticulata* mampu meningkatkan aktivitas lisozim sehingga mampu memberikan proteksi pada udang windu terhadap serangan penyakit. Lisozim berperan penting dalam imunitas non spesifik dengan cara melisis dinding sel bakteri dan menstimulasi fagositosis bakteri (Ellis 1990; Harikrishnan *et al.*, 2012). Fungsi aktivitas lisozim adalah sebagai faktor pertahanan utama dari imunitas humoral dalam mekanisme pertahanan seluler dan kemampuannya memecah dinding sel patogen membuat lisozim melawan mikroorganisme berbahaya seperti parasit, bakteri dan virus secara alami (Harikrishnan *et al.*, 2011).

Lisozim memegang peranan penting dalam mekanisme pertahanan melawan infeksi penyakit. Lisozim merupakan enzim yang akan memecah ikatan β-1,4 glycosidic antara N-acetylmuramic acid dan N-acetylglucoseamine pada lapisan peptidoglikan dinding sel bakteri. Lisozim mampu melisis dinding bakteri gram positif maupun gram negatif dengan bantuan komplemen (Yano, 1996; Ellis., 1999). Peningkatan aktivitas lisozim pada penelitian ini menunjukkan adanya peningkatan sistem imun non spesifik humoral pada udang windu.

Tabel 1. Nilai Rata-Rata Aktivitas Lisozim Udang Windu Setelah Perlakuan Pemberian Pakan Dengan Ekstrak *Ulva reticulata*

Perlakuan	Rerata(mm) \pm SD
K (0 g kg ⁻¹)	0,86 \pm 0,12 ^a
A (0,5 g kg ⁻¹)	0,91 \pm 0,01 ^a
B (1,0 g kg ⁻¹)	0,89 \pm 0,02 ^a
C (1,5 g kg ⁻¹)	0,93 \pm 0,01 ^a

Keterangan : Data (rerata \pm SD) pada waktu pengamatan yang sama dengan huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan hasil yang nyata ($p < 0,05$)

Tabel 2. Persentase jenis hemosit udang windu setelah perlakuan pemberian pakan dengan ekstrak *Ulva reticulata*

Perlakuan	Rerata (%) \pm SD		
	Hialin	Semigranular	Granular
K (0 g kg ⁻¹)	51 \pm 9,76	21 \pm 5,42	27 \pm 4,62
A (0,5 g kg ⁻¹)	49 \pm 5,19	21 \pm 5,22	31 \pm 5,25
B (1,0 g kg ⁻¹)	55 \pm 4,31	21 \pm 2,74	25 \pm 2,71
C (1,5 g kg ⁻¹)	56 \pm 1,78	20 \pm 2,54	23 \pm 3,55

Keterangan : Data (rerata \pm SD) pada waktu pengamatan yang sama dengan huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan hasil yang nyata ($p < 0,05$)

Nilai diferensiasi hemosit yang merupakan perbandingan antara sel hialin, sel granular dan sel semigranular. Ke tiga jenis tipe sel hemosit tersebut masing-masing memegang peranan dalam sistem imunitas udang. Sel hialin bertanggung jawab dalam imunitas sebagai fagositosis sedangkan sel granular dan semigranular secara bersama-sama bertanggungjawab melakukan aktifitas sitotoksik dan produksi serta pelepasan sistem prophenoloksidase (Kakoolaki *et al.*, 2010). Sel hialin bertanggungjawab terhadap aktivitas pagositosis, sedangkan sel granular dan semigranular aktif dalam proses protease enzim, pembentukan zat antibakteri dan oksigen reaktif seperti anion superoksida

dan hidrogenperoksida (Johansson *et al.*, 2000).

Hasil pengamatan diferensiasi hemosit (Tabel 2) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak *Ulva reticulata* selama 14 hari menunjukkan pada perlakuan 1,0 g kg⁻¹ dan 1,5 g kg⁻¹ pakan memiliki persentase sel hialin yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan kontrol. Sedangkan sel semigranular untuk kontrol dan masing-masing perlakuan memiliki persentase 20-21%. Sedangkan untuk sel granular perlakuan 1,5 g kg⁻¹ memiliki persentase nilai yang lebih rendah yaitu 23% dibanding perlakuan kontrol dan lainnya hal ini disebabkan tingginya persentase sel hialin pada perlakuan 1,5 g

kg⁻¹. Secara umum total hemosit pada krustase 50-80 % adalah sel hyalin, 9-30% adalah sel semigranular, dan 4-20% persen adalah sel granular (Sung *et al.*, 1999). Meskipun demikian pemberian ekstrak *Ulva reticulata* menunjukkan tidak ada pengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap diferensiasi hemosit udang windu, yaitu sel granular, sel semi granular dan sel hialin jika dibandingkan perlakuan kontrol.

Ekstrak *Ulva reticulata* mengandung senyawa metabolit sekunder dan polisakarida sulfat yang disebut dengan ulvan yang dapat digunakan sebagai imunostimulan pada udang windu. Kandungan ulvan yang merupakan pada dinding sel *Ulva* sp mampu menstimulasi sistem imun pada udang mungkin dimediasi dengan adanya interaksi antara polisakarida dengan reseptor pada permukaan hemosit. Adanya ikatan antara polisakarida dengan reseptor mengaktifasi pemberian sinyal untuk meningkatkan proliferasi hemosit dan menstimulasi aktifitas sistem imun (Declarador *et al.*, 2011).

Kesimpulan

Penggunaan ekstrak rumput laut *Ulva reticulata* dengan dosis 1,5 g kg⁻¹ mampu meningkatkan sistem kekebalan tubuh pada udang windu baik secara humoral dan seluler.

DAFTAR PUSTAKA

Asri, RM. 2011. Analisis Fitokimia dan Uji Sitoksisitas Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Ekstrak dan Fraksi Rumput Laut Hijau *Ulva reticulata*. *Skripsi*.

Fakultas Farmasi. Universitas Hassanuddin..

Castro, R. I. Zarrab, & J. Lamas. 2004, Water-soluble Seaweed Extracts Modulate the Pantoea agglomerans lipopolysaccharide (LPS). *Fish Shellfish Immunol*, 10: 555–558.

Declarador. R.S. 2010. Ulvan extract acts as immunostimulant against white spot syndrome virus (WSSV) in juvenile black tiger shrimp *Penaeus monodon*. *AAFL Bioflux*. 10 :153-161.

Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya KKP. Statistik Perikanan Budidaya Indonesia 2018. Jakarta 118 hlm.

Ellis AE. 1999. Immunity to bacteria in fish. *Fish & Shellfish Immunology* 9: 291-308.

Ellis, A.E., 1990. Lysozyme assay. In: Stolen, J.S., Fletcher, D.P., Anderson, B.S., Robertson, B.S. (Eds), *Techniques in Fish Immunology*. SOS Publication, Fair Haven, NJ, pp. 101-103.

Harikrishnan R, Kim J, Balasundaram C, Heo M. 2012. Immunomodulatory effects of chitin and chitosan enriched diets in *Epinephelus bruneus* against *Vibrio alginolyticus* infection. *Aquaculture* 326-329:46-52.

Johansson MW, Keyser P, Sritunyalucksana K, Soderhall K. 2000. Crustacean hemocytes and haematopoiesis. *Aquaculture* 191: 45-52.

Johansson, M.W., P. Keyser, K. Sritunyalucksana and K. Soderhall. 2000. Crustacean haemocytes and haematopoiesis. *Aquaculture*, 191 : 45-92.

- Johny, F., Roza, D.K., Mahardika, Zafran, & Prijono, A. 2005. Penggunaan Immunostimulan Untuk Meningkatkan Kekebalan Nonspesifik Benih Ikan kerapu Lumpur, *Epinephelus coiodes* Terhadap infeksi Virus irido. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*, 11(5): 75 – 83.
- Kakoolaki, S., Soltani, M., Ebrahimzadeh Mousavi, H. A., Sharifpour, I., Mirzargar, S. S., Afsharnasab, M., Dashtiannasab, A., et al., 2010b. Selected hemolymph characters of cultured juvenile in *penaeus vannamei* exposed to wsv using a new modified hemolymph staining. In: ISC, ed. shrimp culture, Bushehr, Iran. IFRO.
- Klontz, G.W. 1997. Fish hematology. Techniques in fish immunology-3. In Stolen et al. (Eds.). Sos Publications, Fair Haven, NJ 07704-3303, USA. p. 121—131.
- Kursia, S. 2013. Aktivitas anti oksidan polisakarida rumput laut *Ulva* sp pada tikus putih diabetes. *Tesis*. Fakultas Farmasi. Universitas Hassanuddin.
- Lee, M.H. & Shiau, S.Y. 2004. Vitamin E Requirements of Juvenil Grass Shrimp, *P. monodon* and effects on Nonspecific Immune Responses. *Fish and Shellf*.
- Lukman B.J., Zaraswati D., Indah R., Priosambodo., 2014. Efektivitas Ekstrak Alga *Eucheuma Cottoni*, *Turbinaria Decurrens*, dan *Ulva reticulate* Sebagai Antimikroba Terhadap *Streptococcus Mutans*. Fakultas Matematika dan ilmu pengetahuan Alam. Universitas Hassanuddin.
- Martin GG, Graves LB. 1985. Structure and classification of shrimp haemocytes. *J Morfology* 185 : 339-348.
- Ortuno, J., Cuesta, A., Rodrigues, A., Esteban, M.A., Meseguer, J., 2002. Oral Administration Of Yeast, *Saccharomyces Cerevisiae*, Enhances The Celluler Innate Immune Response Of Gilthead Seabream (*Sparus Aurata* L.). *Vet. Immunol. Immunopathoogyl*. 85: 41-50.
- Rahim, N., Zainuddin, E. N., & Sriwulan. (2019). Effect of *Ulva reticulata* Extract in Increasing Hemocyte Count and Phagocytosis Activity in Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*). *International Journal of Scientific and Research Publications (IJSRP)*, 9(7). doi:10.29322/ijsrp.9.07.2019.p91101
- Rakhmawan, Hendra. 2009. Analisis Daya Saing Komoditi Udang Indonesia Di Pasar Internasional. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor.
- Rowley, A.F. 1993. Collection, separation and identification of fish leukocytes In Stolen et al. (Eds.). Techniques in Fish Immunology-1. Sos Publications, Fair Haven, NJ 07760. USA. p. 113—136.
- 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
- 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. *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 39, 197– 204. <https://doi.org/10.3856/vol39-issue2-fulltext-1>

Yano T. 1996. The nonspecific immune system: Humoral Defences . Didalam: Iwama G, Nakanishi T, editor. *The Immune System: Organism, Pathogen and Environment*. USA (US): Academic Press. hlm 105-1157.