

Peningkatan respons imun non-spesifik, resistensi, dan pertumbuhan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) melalui pemberian pakan nukleotida

Enhancement of non-specific immune response, resistance and growth of (*Litopenaeus vannamei*) by oral administration of nucleotide

Henky Manoppo^{1,2}, Sukenda³, Daniel Djokosetiyanto³,
Mochamad Fatuchri Sukadi⁴, Enang Harris³

¹ Program Doktor Ilmu Akuakultur, Departemen Budidaya Perairan, FPIK, Institut Pertanian Bogor

² Program Studi Budidaya, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Sam Ratulangi, Manado

³ Departemen Budidaya, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor

⁴ Pusat Riset Perikanan Budidaya KKP RI, Jakarta

ABSTRACT

This research evaluated the nonspecific immune response, resistance, and growth of *Litopenaeus vannamei* fed nucleotide diet. Shrimp juveniles (mean weight 5.39 ± 0.56 g) were reared in two groups of glass aquaria, each with three replications. Shrimps in group one and group two were fed nucleotide diet and basal diet each for four weeks. Total haemocyte count (THC) and PO activity were evaluated at the end of feeding while growth was measured at two weeks interval. At the end of feeding trial, the shrimps were intramuscularly injected with *Vibrio harveyi* 0.1×10^6 cfu.shrimp⁻¹. THC of shrimp fed nucleotide diet significantly increased ($P < 0.01$) up to 87% higher than shrimps fed basal diet. PO activity also different significantly as compared to shrimp fed basal diet ($P < 0.02$) 14 days post-challenge, shrimp fed nucleotide diet showed higher resistance ($P < 0.01$). After 4 weeks of feeding, weight gain achieved 65.38% greater than shrimp fed basal diet ($P < 0.01$). As conclusion, oral administration of nucleotide at 400 mg.kg⁻¹ diet showed positive effect on the enhancement of nonspecific immune response, resistance, and growth of *L. vannamei*.

Key words: *Litopenaeus vannamei*, nucleotide, THC, PO activity, resistance

ABSTRAK

Penelitian bertujuan untuk mengevaluasi respons imun non-spesifik dan resistensi udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang diberi pakan nukleotida. Juvenil ($5,39 \pm 0,56$ g) dipelihara dalam dua kelompok akuarium kaca masing-masing dengan 3 ulangan. Udang dalam kelompok pertama diberi pakan nukleotida sedangkan udang dalam kelompok kedua diberi pakan standar selama 4 minggu. *Total haemocyte count* (THC) dan aktivitas phenoloxidase (PO) diukur pada akhir pemberian pakan sedangkan pertumbuhan udang diukur setiap dua minggu. Pada akhir periode pemberian pakan perlakuan, udang diuji tantangan secara injeksi intramuskular dengan bakteri *Vibrio harveyi* $0,1 \times 10^6$ cfu.udang⁻¹. THC udang yang diberi pakan nukleotida meningkat secara signifikan ($P < 0,01$) mencapai 87% lebih tinggi dari udang yang diberi pakan standar. Aktivitas PO udang yang diberi pakan nukleotida juga berbeda nyata dibandingkan dengan udang yang hanya diberi pakan standar ($P < 0,02$). Empat belas hari setelah uji tantangan, udang yang diberi pakan nukleotida memiliki resistensi yang lebih tinggi ($P < 0,01$). Setelah 4 minggu pemberian pakan, perolehan berat mencapai 65,38% lebih besar ($P < 0,01$) dibandingkan dengan udang yang hanya diberi pakan standar. Sebagai kesimpulan, pemberian secara oral nukleotida pada level 400 mg.kg⁻¹ pakan selama 4 minggu memberi pengaruh positif terhadap peningkatan respons imun non-spesifik, resistensi dan pertumbuhan udang vaname.

Kata kunci: *Litopenaeus vannamei*, nukleotida, THC, aktivitas PO, resistensi

PENDAHULUAN

Budidaya udang telah mendapat perhatian dunia sebab secara nyata berkontribusi dalam perkembangan ekonomi banyak negara. Sekalipun demikian, banyak negara-negara

produsen dihadapkan dengan masalah munculnya penyakit secara berulang yang mempengaruhi spesies yang dipelihara, dan karenanya menekan kesinambungan akuakultur. Perkembangan penyakit bukan hanya disebabkan oleh adanya intensifikasi pro-

duksi tetapi juga oleh kerusakan lingkungan, polusi, dan ketidakseimbangan nutrisi (Bachere, 2003). Dalam dua dekade terakhir, banyak petani atau industri budidaya udang yang mengalami kerugian ekonomi yang signifikan terutama disebabkan oleh penyakit virus (Moss *et al.*, 2006).

Udang vaname pertama kali diimpor ke Indonesia pada tahun 2000 untuk mengganti udang windu (*P. monodon*) yang terserang WSSV (DKP, 2007). Pada akhir 2007, udang ini telah dibudidayakan di lebih dari 17 provinsi di Indonesia (Taukhid dan Nur'aini, 2008). Masalah utama yang dihadapi dalam pengembangan udang vaname adalah penyakit terutama yang disebabkan oleh virus. WSSV dan TSV merupakan penyakit yang paling banyak mengakibatkan kerugian pada industri budidaya udang vaname di Amerika maupun Asia, termasuk di Indonesia (Lightner, 2003). Sementara kedua virus ini belum teratasi, kini muncul infectious myonecrosis virus (IMNV) sebagai penyakit baru. IMNV pertama kali ditemukan pada tahun 2004 di Brazil, dan pada tahun 2006 virus ini telah terdeteksi di Indonesia (Taukhid dan Nur'aini, 2008). Saat ini, 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. Penyakit ini berkembang secara perlahan-lahan dengan mortalitas kumulatif mencapai 40-70% (Lightner, 2009). Dalam manajemen kesehatan budidaya udang, strategi pencegahan penyakit dapat dilakukan melalui berbagai cara seperti penggunaan bahan-bahan kimia dan antibiotik, vaksinasi, bakteri probiotik, SPF (*specific pathogen free*) dan SPR (*specific pathogen resistance*), sistim produksi biosekuriti, dan imunostimulan. Penggunaan antibiotik memiliki dampak negatif yaitu akumulasi residu dalam jaringan ikan dan munculnya *drug-resistance pathogen*. Vaksinasi meskipun sangat efektif namun membutuhkan waktu, tenaga dan biaya yang mahal serta proteksi yang dihasilkan bersifat spesifik (Cook *et al.*, 2003). Probiotik berguna dalam mengontrol infeksi mikroba melalui kompetisi dengan mikroorganisme berbahaya/patogen, pro-

duksi bahan-bahan penghambat atau melalui stimulasi sistim imune udang yang dibudidayakan (Bachere, 2003). Udang SPR hanya resisten terhadap patogen tertentu dan dengan adanya mutasi genetik, udang SPR yang awalnya resisten menjadi suseptibilitas terhadap patogen yang baru. Resistensi udang terhadap patogen juga berbeda-beda berdasarkan siklus hidup udang. Meskipun strategi biosekuriti seperti pengurangan pergantian air, penyaringan, pengeringan kolam, *screening* (penapisan) postlarva untuk membatasi masuknya patogen dalam lingkungan budidaya, dan bahkan dikombinasikan dengan udang SPR secara nyata meningkatkan produksi, namun penyakit terus saja terjadi dalam usaha budidaya (Moss *et al.*, 2006). Penggunaan nutrisi yang seimbang kini sedang diteliti untuk meningkatkan respons terhadap stres dan infeksi patogen misalnya suplementasi UFA, sterol dan vitamin dalam pakan. Pendekatan lain adalah penggunaan imunostimulan dalam mencegah penyakit infeksius.

Sumber imunostimulan bagi akuakultur dapat diproduksi secara kimia atau biologi. Bahan-bahan imunostimulator tersebut dapat dikelompokkan berdasarkan fungsi maupun sumbernya dan terdiri atas beragam kelompok yakni berupa bakteri dan produk bakteri, yeast, kompleks karbohidrat, faktor nutrisi, ekstrak hewan, ekstrak tumbuhan, dan obat-obatan sintetik (Sakai 1999; Sealey dan Gatlin III 2001; Cook *et al.*, 2003).

Penelitian ini menggunakan nukleotida sebagai imunostimulan dalam mengontrol penyakit pada budidaya udang vaname. Nukleotida memiliki fungsi penting dalam fisiologi dan biokimia seperti penandaan (*encoding*) dan penerusan informasi genetik, memediasi energi metabolisme dan *cell signalling* maupun sebagai koensim, *allosteric effectors*, dan *cellular agonist* (Galtin III dan Li, 2007).

Nukleotida merupakan nutrien semi esensial yang mulai mendapat perhatian serius untuk dikembangkan penggunaannya sebagai imunostimulan dalam budidaya ikan dan krustasea dalam beberapa tahun terakhir ini. Publikasi ilmiah tentang penggunaan nukleotida pada ikan memperlihatkan bahwa bahan ini dapat meningkatkan respons imun

dan resistensi ikan terhadap sejumlah patogen secara simultan (Burrels *et al.*, 2001). Selain itu, pemberian nukleotida juga dapat meningkatkan pertumbuhan serta meningkatkan toleransi terhadap stress. Pada udang, laporan-laporan penelitian tentang penggunaan nukleotida masih belum tersedia atau masih sangat terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi respons imun non-spesifik, resistensi, dan performa pertumbuhan udang vaname yang diberi pakan nukleotida.

BAHAN DAN METODE

Hewan uji

Juvenil udang vaname diperoleh dari fasilitas pembesaran udang di Bakauheni Lampung Selatan. Udang yang diambil dimasukkan dalam kotak styrofoam yang dilengkapi dengan aerator baterai, kemudian diangkut melalui jalan darat ke Laboratorium Kesehatan Ikan Institut Pertanian Bogor.

Bahan uji

Bahan uji adalah nukleotida murni (Sigma-Aldrich) yang terdiri atas uridine-5'-monophosphate disodium salt, cytidine-5'-monophosphate disodium salt, guanosine-5'-monophosphate disodium salt, adenosine-5'-monophosphate sodium salt, dan inosine-5'-monophosphate disodium salt.

Persiapan pakan

Kelima jenis nukleotida dalam jumlah yang sama dicampur terlebih dahulu secara homogen kemudian ditimbang sesuai dosis yang dibutuhkan yakni 400 mg/kg. Nukleotida dicampurkan ke dalam pakan standar dengan cara melarutkannya terlebih dahulu dalam sedikit air, kemudian dikering-anginkan dalam temperatur ruang. Setelah kering, pakan dilapisi dengan albumin (putih telur) dan dikering-anginkan kembali. Pelet yang sudah kering selanjutnya dimasukkan dalam kantong plastik, disimpan dalam lemari pendingin dan siap untuk digunakan.

Prosedur penelitian dan pengambilan data

Juvenil udang vaname dipelihara selama 2 minggu dalam bak fibreglass (kapasitas 1000 L) untuk proses aklimatisasi. Selama proses aklimatisasi, udang diberi pakan standar

dengan tingkat pemberian 3% bobot badan/hari dan diberikan pukul 09.00, 13.00, dan 17.00 setiap hari. Kualitas air dipertahankan stabil dan penggantian air dilakukan setiap 3-4 hari sekali tergantung pada kondisi air yang ada.

Udang (berat rata-rata $5,39 \pm 0,56$ g) selanjutnya dipindahkan ke dalam 6 buah akuarium kaca (60x30x30cm) yang dilengkapi aerator dengan *airlift system*, serta menggunakan resirkulasi air. Keenam akuarium tersebut dibagi atas dua kelompok masing-masing dengan 3 ulangan. Setiap unit akuarium berisi 50 L air dengan 15 ekor udang. Udang dalam kelompok pertama diberi pakan nukleotida sedangkan udang dalam kelompok kedua diberi pakan standar tanpa suplementasi nukleotida. Pemberian pakan dilakukan selama 4 minggu.

Selama masa percobaan, parameter kualitas air dimonitor setiap hari untuk menjamin agar parameter lingkungan tetap berada dalam kondisi stabil. Kotoran dan sisa pakan yang terakumulasi dalam akuarium dikeluarkan melalui penyiponan. Penggantian air juga dilakukan setiap 3-4 hari sekali tergantung pada kondisi air yang ada.

Sampel haemolymph untuk pengukuran parameter imun diambil dari 3 ekor udang per unit akuarium dan dikerjakan pada akhir periode pemberian pakan perlakuan (minggu ke-4). Pengambilan sampel haemolymph dikerjakan berdasarkan prosedur yang dikemukakan oleh (Liu dan Chen, 2004). Secara singkat, sekitar 0,1 ml haemolymph diambil dari ventral sinus pada pangkal ruas tubuh pertama dengan menggunakan alat suntik 1 ml setelah sebelumnya dimasukkan 0,9 ml antikoagulan (30 mM trisodium sitrat, 0,34 M natrium klorida, 10 mM EDTA, pH 7,55, osmolaritas 780 mOsm/kg).

Parameter imun

Parameter imunitas udang yang diukur terdiri atas *total haemocyte count* (THC), dan Aktivitas phenoloxidase (PO). Prosedur penghitungan parameter imun adalah sebagai berikut:

Penghitungan THC

Sebanyak 50 μ l campuran haemolymph-antikoagulan dimasukkan dalam neutral

buffered formalin (10%) selama 30 menit. Selanjutnya, THC dihitung dengan menggunakan haemocytometer di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 40x.

Aktivitas PO

Aktivitas PO haemocyte diukur berdasarkan formasi dopachrome yang dihasilkan oleh L-DOPA. Pengukuran aktivitas PO dikerjakan berdasarkan prosedur yang dikemukakan oleh Liu dan Chen, 2004. Pertama-tama, 1 ml campuran hemolymph-anticoagulan disentrifuse pada 700 g selama 20 menit pada 4°C. Supernatan dikeluarkan dan pelet disuspensikan kembali secara perlahan-lahan ke dalam larutan cacodylate-citrate buffer (0.01 M sodium cacodylate, 0,45 M sodium chloride, 0.10 M trisodium citrate, pH 7) dan disentrifuse kembali. Pelet kemudian diambil dan disuspensikan dalam 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).

Aliquot sebanyak 100 µl diinkubasi dengan 50 µl trypsin (1 mg.ml⁻¹ cacodylate buffer) sebagai aktivator selama 10 menit pada temperatur 25-26°C. Selanjutnya tambahkan 50 µl L-DOPA (3 mg.ml⁻¹ cacodylate buffer), setelah 5 menit, ditambahkan 800 µl cacodylate buffer. Optical density (OD) 490 nm diukur dengan menggunakan Spektrofotometer (Hitachi U, 2000).

Larutan standar mengandung 100 µl suspensi haemocyte, 50 µl cacodylate buffer (pengganti trypsin), dan 50 µl L-DOPA digunakan untuk mengukur *background* aktivitas PO pada semua larutan uji. Densitas optikal (OD) dari aktivitas PO pada semua kondisi uji dinyatakan sebagai formasi dopachrome dalam 50 µl haemolymph.

Resistensi

Setelah 4 minggu pemberian pakan perlakuan, udang (8 ekor/akuarium) diuji-tantang dengan bakteri *Vibrio harveyi*. Sebelum dilakukan uji tantang, aerator dimatikan terlebih dahulu selama kurang lebih 30 menit, kemudian udang diuji tantang melalui injeksi intramuskular 0,1 mL larutan bakteri *V. harveyi* 1x10⁶ cfu/mL pada ruas

tubuh ke tiga. Selanjutnya udang dimasukkan kembali ke dalam akuarium. Selama periode uji tantang, udang diberi pakan standar. Kualitas air dimonitor agar berada dalam kondisi stabil dan penggantian air dilakukan setiap 3-4 hari sekali tergantung pada kondisi air. Udang mati dikeluarkan setiap hari guna mengkonfirmasi bahwa penyebab kematian adalah *V. harveyi*. Pengamatan terhadap mortalitas dilakukan setiap hari selama 14 hari setelah uji-tantang. Resistensi udang diukur berdasarkan tingkat kelangsungan hidup (SR) yang dicapai sampai pada akhir periode pengamatan, SR dihitung dengan formula (Effendie, 2002), SR (%) = $\frac{Nt}{No} \times 100$, Nt=jumlah udang hidup pada waktu t (ekor), No=jumlah udang hidup waktu tebar (ekor).

Pertumbuhan

Pertumbuhan udang diukur setiap dua minggu sekali yakni pada hari ke 14 dan 28. Pertumbuhan dinyatakan sebagai selisih antara berat udang yang diukur pada akhir percobaan dengan berat udang pada awal percobaan (Effendie, 2002): $G = W_t - W_o$, G=pertumbuhan, W_t =berat udang pada waktu t (g), W_o =berat udang pada awal percobaan (g).

Analisis data

Evaluasi perbedaan respons imunitas udang (THC, aktivitas PO), resistensi dan pertumbuhan akibat adanya perlakuan dilakukan melalui analisis ragam (Anova)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Total haemocyte count (THC)

Suplementasi nukleotida dalam pakan dapat meningkatkan jumlah haemocyte udang. Hasil analisis memperlihatkan bahwa THC udang yang diberi pakan nukleotida berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) jika dibandingkan dengan udang yang hanya diberi pakan standar (Gambar 1).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa apabila udang diberi pakan nukleotida 400 mg.kg⁻¹ pakan selama 4 minggu berturut-turut, maka THC dapat meningkat mencapai 87% lebih tinggi dibandingkan dengan udang yang diberi pakan standar (Gambar 1). Hasil yang sama juga ditemukan pada penelitian

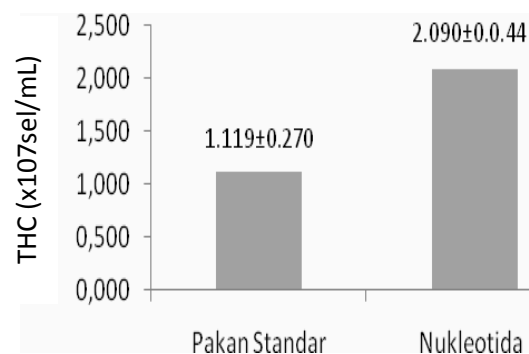
yang telah dilakukan sebelumnya yaitu THC meningkat sekitar 76% lebih tinggi dari udang kontrol (Manoppo *et al.*, 2009). Peningkatan jumlah THC disebabkan karena nukleotida merupakan nutrisi semi esensial yang dibutuhkan untuk pertumbuhan dan memperbanyak sel (Barnes, 2006). Sajeevan *et al.* (2006) juga menyatakan bahwa nukleotida yang ditambahkan dalam pakan udang dapat mengoptimalkan fungsi pembelahan sel termasuk sel-sel imun.

Aktivitas phenoloxidase (PO)

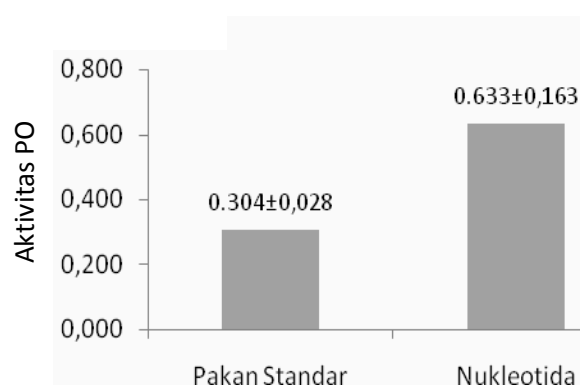
Pemberian secara oral nukleotida juga meningkatkan aktivitas PO udang vaname. Hasil analisis memperlihatkan bahwa aktivitas PO udang yang diberi pakan nukleotida selama 4 minggu berbeda nyata ($P < 0,02$) jika dibandingkan dengan udang yang diberi pakan standar (Gambar 2).

Sampai saat ini, belum ada laporan yang tersedia tentang pengaruh nukleotida pada resistensi udang terhadap infeksi patogen. Pada ikan (Li *et al.*, 2004) melaporkan bahwa produksi *oxidative radical* neutrofil darah striped bass hibrida meningkat setelah diberi pakan nukleotida selama 6-7 minggu dan diuji tantang dengan *Streptococcus iniae*, dan kelangsungan hidup ikan yang diberi pakan nukleotida (80%) lebih tinggi dibandingkan dengan ikan yang diberi pakan tanpa suplemen nukleotida (60%).

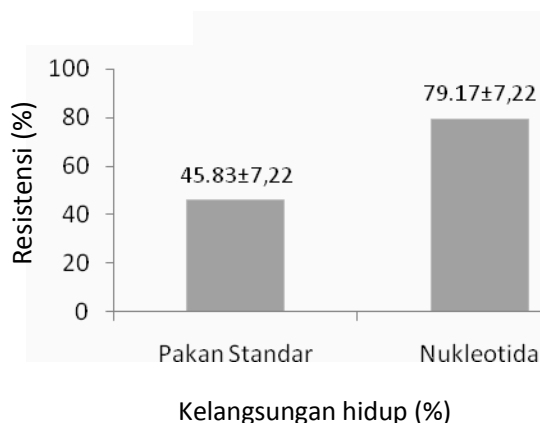
Pada rainbow trout berukuran 53-55 g, mortalitas ikan yang diberi pakan nukleotida (Optimun, 2 g/kg pakan) selama 2 minggu dan diuji tantang ISAV (infectious salmon anaemia virus) sebesar 35,7% sedangkan ikan yang diberi pakan tanpa nukleotida memiliki mortalitas 48% (Burrels *et al.*, 2001). Sakai *et al.* (2001) juga melaporkan pemberian nukleotida yang diisolasi dari yeast RNA 15 mg/ikan selama 3 hari pada *Cyprinus carpio* 100 g meningkatkan resistensi terhadap infeksi *Aeromonas hydrophila*. Aktivitas fagositosis, respiratory burst, serum complement dan aktivitas lisozyme ikan yang diberi pakan nukleotida meningkat. Burgents *et al.* (2004) juga melaporkan peningkatan resistensi *L. vannamei* terhadap infeksi buatan *Vibrio* jika udang diberi pakan mengandung *Saccharomyces cerevisiae*.



Gambar 1. THC (*total haemocyte count*) rata-rata ($\times 10^7$ sel/mL) *Litopenaeus vannamei* setelah diberi pakan nukleotida selama 4 minggu.



Gambar 2. Aktivitas PO (phenoloxidase) *Litopenaeus vannamei* setelah diberi pakan nukleotida selama 4 minggu.



Gambar 3. Kelangsungan hidup *Litopenaeus vannamei* setelah diberi pakan nukleotida selama 4 minggu dan diuji tantang dengan bakteri *Vibrio harveyi* $0,1 \times 10^6$ cfu.udang⁻¹.

Pertumbuhan

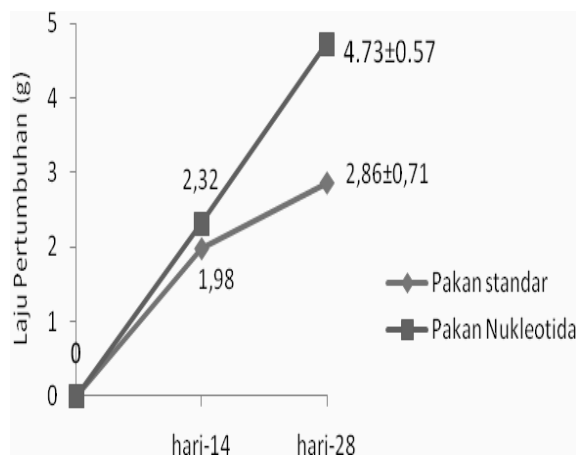
Pertumbuhan udang diukur setiap 2 minggu sekali. Hasil penelitian menunjukkan bahwa administrasi pakan nukleotida selama

Tabel 1. Pertumbuhan *L. vannamei* setelah diberi pakan nukleotida selama 4 minggu.

Perlakuan	Berat Awal (g)	Berat Akhir (g)		Perolehan Berat (g)	
		14 hari	28 hari	14 hari	28 hari
Pakan Standar	5,39±0,56	7,37±0,36	8,25±0,71	1,98±0,36	2,86±0,71
Nukleotida	5,39±0,56	7,71±0,81	10,12±0,57	2,32±0,81	4,73±0,57

14 hari tidak memberikan pengaruh terhadap laju pertumbuhan udang ($P>0,05$). Setelah 28 hari pemberian, pertumbuhan udang yang diberi nukleotida berbeda sangat nyata jika dibandingkan dengan pertumbuhan udang yang hanya diberi pakan standar ($P<0,0$) (Gambar 4).

Pertumbuhan udang yang diberi nukleotida mencapai rata-rata 4,73 g atau 65,38% lebih tinggi dari pertumbuhan udang yang diberi pakan standar (Tabel 1). Hasil ini sama seperti yang teramati pada penelitian terdahulu dimana pertumbuhan mencapai 5,05 g atau (50,74% lebih tinggi dari kontrol) setelah 4 minggu pemberian nukleotida 400 mg/kg pakan. Peningkatan pertumbuhan pada udang yang diberi nukleotida merupakan hasil peningkatan efisiensi dan pengambilan pakan udang. Adenosine dan inosine yang sudah banyak digunakan dalam pakan ternak, ikan dan krustasea laut yang dapat meningkatkan pengambilan pakan udang sehingga mengurangi *leaching* ke dalam air. Sebaliknya, *leaching* nukleotida ke dalam air diduga juga akan meningkatkan daya tarik pakan dan pengambilan pakan oleh udang. Jadi peningkatan pertumbuhan



Gambar 4. Pertumbuhan udang vaname setelah 14 hari dan 28 hari diberi pakan nukleotida.

udang diduga terjadi sebagai hasil peningkatan efisiensi dan pengambilan pakan udang (Li *et al.*, 2007).

KESIMPULAN

Pemberian nukleotida 400 mg/kg melalui pakan selama 4 minggu memberi pengaruh positif terhadap peningkatan respons imun non-spesifik, resistensi dan pertumbuhan udang vaname.

DAFTAR PUSTAKA

- Barnes, A., 2006. Dietary Nucleotides: Essential nutrients for shrimp growth and immunity? Centre for Marine Studies, University of Queensland.
- Bachere, E., 2003. Anti-infectious immune effectors in marine invertebrate: potential tools for disease control in larviculture. *Aquaculture* 227, 427–438.
- Burgents, J.E., Burnett, K.G., Burnet, L.E., 2004. Disease resistance of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, following dietary administration of a yeast culture food supplement. *Aquaculture* 231, 1–8.
- Burrells, C., Williams, P.D., Fomo, P.F., 2001. Dietary nucleotide: a novel supplement in fish feeds. 1. Effects on resistance to disease in salmonids. *Aquaculture* 199, 159–169.
- Cook, M.T., Hayball, P.J., Hutchinson, W., Nowak, B.F., Hayball, J.D., 2003. Administration of a commercial immunostimulant preparation, EcoActiva as a feed supplement enhances macrophage respiratory burst and the growth rate of snapper (*Pagrus auratus*, Sparidae (Bloch and Schneider) in winter. *Fish and Shellfish Immunology* 14, 333–345.
- Departemen Kelautan dan Perikanan (DKP). 2007. Revitalisasi Budidaya Udang.

- Galtin III, D.M., Li, P., 2007. Nucleotide. Departement of Wildlife and Faculty of Nutrition, Texas A&M University System, College Station USA.
- Gullian, M., Thompson, F., Rodriguez, J., 2004. Selection of probiotic bacteria and study of their immunostimulatory effect in *Penaeus vannamei*. *Aquaculture* 233, 1–14.
- Li, C.H., Yeh, S.T., Chen, J.C., 2008. The immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* following *Vibrio alginolyticus* injection. *Fish and Shellfish Immunology* 25, 853–860.
- Li, P., Lawrence, A.I., Castille, F.L., Galtin III, D.M., 2007. Preliminary evaluation of a purified nucleotide mixture as a dietary supplement for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone). *Aquaculture Research* 38, 887–890.
- Li, P., Galtin III, D.M., 2006. Nucleotide nutrition in fish: Current knowledge and future application. *Aquaculture* 251, 141–152.
- Li, P., Lewis, D.H., Galtin III, D.M., 2004. Dietary oligonucleotide from yeast RNA influence immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. *Fish and Shellfish Immunology* 16, 561–569.
- Lightner, D.V., 2003. Exclusion of specific pathogen for disease prevention in a penaeid shrimp biosecurity program. *World Aquaculture Society* pp. 81–116.
- Lightner, D.V., 2009. Disease of crustacean; viral diseases-infectious myonecrosis. *Aquatic Animal Science*. <http://library.enaca.org/Health/Field>.
- Liu, C.H., Chen, J.C., 2004. Effect of ammonia on the immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus*. *Fish and Shellfish Immunology* 16, 321–334.
- 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., Sukenda, Djokosetiyanto, D., Fatuchri, M., Harris, E., 2009. Nukleotida meningkatkan respons imun dan performa pertumbuhan udang vaname, *Litopenaeus vannamei*. *Aquacultura Indonesiana* 10, 85–92.
- Moss, S.M., Arce, S.M., Moss, D.R., Otoshi, CA., 2006. Disease prevention strategies for penaeid shrimp culture. The Oceanic Institute, Hawaii USA.
- Sajeevan, T.P., Philip, R., Singh, I.S.B., 2006. Immunostimulatory effect of a marine yeast *Candida sake* S165 in *Fenneropenaeus indicus*. *Aquaculture* 257, 150–155.
- Sakai, M., Taniguchi, K., Mamoto, K., Ogawa, H., Tabata, M., 2001. Immunostimulant effects of nucleotide isolated from yeast RNA on carp, *Cyprinus carpio* L. *Journal of Fish Disease* 24, 433–438.
- Sakai, M., 1999. Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture* 172, 63–92.
- Sealey, W.M., Galtin III, D.M., 2001. Overview of nutritional strategies affecting the health of marine fish diacu dalam Nutrition and Fish Health. Food Products Press, New York.
- Taukid., Nuraini, Y.L., 2008. Infectious Myonecrosis Virus (IMNV) in Pacific White Shrimp *Litopenaeus vannamei* in Indonesia. Fish Health Research Laboratory, Research Institute for Freshwater Aquaculture, Indonesia.
- Vargas-Albores, F., Yepiz-Plascencia, G., 2000. Beta glucan binding protein and its role in shrimp immune response. *Aquaculture* 191, 13–21.