

Uji Aplikasi *Lactobacillus lactis* sebagai Paraprobiotik pada Budidaya Udang Vanamei (*Litopenaeus vannamei*) : Aspek Pertumbuhan Dan Imunitas

Subagiyo^{1*}, Sebastian Margino², Triyanto³, Sugeng Widada⁴

¹Departemen Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. Jacub Rais, Tembalang, Semarang, Jawa Tengah 50275 Indonesia

²Departemen Mikrobiologi Pertanian, Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada
Jl. Flora Bulaksumur, Karang Malang, Caturtunggal, Depok, Sleman, Yogyakarta 55281 Indonesia

³Jurusan Perikanan, Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada
Jl. Flora Bulaksumur, Karang Malang, Caturtunggal, Depok, Sleman, Yogyakarta 55281 Indonesia

⁴Departemen Oseanografi, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. Jacub Rais, Tembalang, Semarang, Jawa Tengah 50275 Indonesia

Email: subagiyo@lecturer.undip.ac.id

Abstract

Application of *Lactobacillus lactis* as Paraprobiotic on Vanamei Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) Culture : the Growth and Immunity Aspects

Growth is one of the targets of shrimp cultivation. One factor that influences this growth is the level of immunity. Paraprobiotics are probiotics that have been inactivated, making it easier for production, storage and application. In this research, a test was carried out on the application of inactive *Lactobacillus lactis* to vanamei shrimp via pelleted feed (*ad libitum*). The experiment was carried out on a laboratory scale. There were 4 treatments, namely a single application of one of the 3 *L. lactis* isolates (isolate U.181, P.32 dan W-331) and a mixed of 3 *L. lactis* isolates. The application dose was 10^8 cells/gram of feed. The experiment was carried out for 35 days. Parameters observed included weight gain and cellular immune system (total number of hemocytes and hemocyte activity). The results of this study indicate that the application of the paraprobiotic *L. lactis* either alone or in the form of a mixture of the three can improve the growth performance and immunity of vanamei shrimp, namely being able to increase growth between 32-38% higher than the control, as well as increasing the total number of hemocytes and phagocytic activity respectively between 27.4-35.6 % and 29.1-45.9 % higher than the control.

Keywords: paraprobiotic, *Lactobacillus lactis*, growth, immunity, shrimp

Abstrak

Pertumbuhan merupakan salah satu target budidaya udang. Salah satu factor yang mempengaruhi pertumbuhan adalah tingkat imunitas. Paraprobiotik adalah probiotik yang telah diinaktifkan/dimatikan, sehingga memudahkan untuk produksi, penyimpanan hingga aplikasi. Pada penelitian ini telah dilakukan uji aplikasi *Lactobacillus lactis* inaktif sebagai paraprobiotik ke udang vanamei melalui pakan pellet (*ad libitum*). Percobaan dilakukan pada skala laboratorium Ada 4 perlakuan, yaitu aplikasi tunggal salah satu dari 3 isolat *L. lactis* (isolat U.181, P.32 dan W-331) dan aplikasi campuran 3 isolat *L. lactis*. Dosis aplikasi yang dipilih adalah 10^8 sel/gram pakan. Percobaan dilakukan selama 35 hari. Parameter yang diamati meliputi pertambahan berat dan sistem imun seluler (total jumlah hemosit dan aktivitas hemosit). Hasil penelitian aplikasi paraprobiotik *L. lactis* baik secara tunggal atau dalam bentuk campuran ketiganya dapat meningkatkan performa pertumbuhan dan imunitas udang vanamei. Pada kondisi penelitian ini, aplikasi paraprobiotik mampu meningkatkan pertumbuhan antara 32-38 % lebih tinggi daripada kontrol, serta

meningkatkan jumlah total hemosit dan aktivitas fagositosis berturut-turut sebesar antara 27,4-35,6 % dan 29,1-45,9 % lebih tinggi daripada kontrol.

Kata kunci: paraprobiotik, *Lactobacillus lactis*, pertumbuhan, Imunitas, Udang

PENDAHULUAN

Budidaya udang vaname di Indonesia saat ini merupakan andalan sektor perikanan budidaya dan menjadi prioritas pengembangan akuakultur di Indonesia untuk meningkatkan perekonomian nasional. Potensi yang besar sumberdaya akuakultur Indonesia ditunjukkan oleh luas lahan indikatif mencapai 17,2 juta hektar dengan prakiraan nilai ekonomi sebesar USD 250 milyar per tahun (Putra, 2022). Sebagai komoditas ekspor, udang menjadi komoditas perikanan utama ekspor Indonesia dengan nilai USD1.997,49 juta (<https://kkp.go.id/djpdspkp/artikel/47840-ekspor-perikanan-tumbuh-10-66-di-2022>). Sasaran ekspor udang Indonesia meliputi Amerika, Jepang, Tiongkok, Asean dan Eropa (<https://www.antaranews.com/berita/3254149/kkp-nilai-ekspor-udang-indonesia-ke-amerika-1106-miliar-dolar>).

Pada budidaya udang, aplikasi probiotik telah umum diterapkan sebagai strategi penyehatan udang (El-Saadony, *et al.*, 2022). Probiotik dikenal sebagai mikrobia hidup yang dalam jumlah tertentu memberikan efek bermanfaat bagi inang, dalam ini ikan dan udang. Akan tetapi aplikasi probiotik dipengaruhi oleh vitalitas, dosis, dan durasi pemberian probiotik (de Almada *et al.*, 2016). Oleh karena itu diusulkan aplikasi probiotik dalam bentuk inaktif yang selanjutnya dikenal sebagai paraprobiotik. Paraprobiotik didefinisikan sebagai sel mikroba yang tidak aktif (tidak dapat hidup) yang memberikan manfaat kesehatan bagi konsumen (Siciliano *et al.*, 2021; Mehta *et al.*, 2023). Paraprobiotik bekerja sebagai imunostimulator, antiinflamasi, antioksidan, dan antimikroba, serta pemacu pertumbuhan (El-Ghany, 2020; Luo *et al.*, 2021). Beberapa pengujian aplikasi paraprobiotik juga telah dilakukan terhadap biota air. Hasil pengujian menunjukkan bahwa aplikasi paraprobiotik dapat meningkatkan pertumbuhan dan imunitas udang (Dash *et al.*, 2015, Zheng *et al.*, 2017; Luo *et al.*, 2021) dan ikan (Yassine *et al.*, 2021). Aplikasi paraprobiotik di bidang peternakan juga memberikan efek yang menguntungkan, seperti penambahan paraprobiotik ke dalam pakan ayam pedaging dengan takaran 0,6% (b/v) dapat meningkatkan performa pertumbuhan seperti *Body weight gain* (BWG) dan meningkatkan *feed conversion ratio* (FCR) serta kekebalan (Tukaram *et al.*, 2022). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan justifikasi efektivitas aplikasi *L lactis* sebagai paraprobiotik pada budidaya udang vanamei skala laboratorium pada aspek pertumbuhan dan imunitas

MATERI DAN METODE

Materi yang digunakan dalam penelitian meliputi 3 isolat bakteri *L. lactis* yaitu isolat U-181, P-32 dan W-33. Isolat-isolat ini diperoleh dari udang liar dan telah diseleksi berdasarkan karakter probiotik. Masing-masing isolate selanjutnya dikultur dalam media de Man Rogosa Sharpe (MRS) broth pada skala Erlenmeyer selama 24 jam (Dehlink *et al.*, 2007). Selanjutnya dilakukan pemanenan massa sel dengan cara sentrifugasi. Massa sel yang diperoleh kemudian dicuci dengan buffer fosfat saline untuk menghilangkan sisa-sisa medium, kemudian dihitung kepadatan selnya menggunakan teknik pengenceran-taburan. Massa sel dimatikan dengan teknik pemanasan di dalam *water batch* pada suhu 85 °C, selama 10 menit.

Empat perlakuan paraprobiotik yang diuji dalam penelitian ini yaitu perlakuan satu jenis paraprobiotik (perlakuan Tunggal) dan perlakuan campuran dari 3 isolat paraprobiotik. Perlakuan Tunggal meliputi 3 perlakuan yaitu paraprobiotik *L. lactis* U-181, P-32 dan W-33. Kontrol untuk perlakuan paraprobiotik adalah pakan komersial yang tidak ditambah dengan paraprobiotik.

Suspensi Paraprobiotik dalam larutan NaCl (0,9 %) ditambahkan ke dalam pakan udang komersial dengan cara disemprotkan menggunakan sprayer secara merata. Kepadatan

paraprobiotik dalam pakan ditetapkan 10^8 sel.g⁻¹ pakan. Selanjutnya didiamkan beberapa saat agar suspensi bakteri meresap ke dalam pakan. Penambahan paraprobiotik ke pakan dilakukan hanya pada saat akan digunakan.

Udang vanname yang telah diaklimatisasi (Castex *et al.*, 2008) dimasukkan ke dalam bak pemeliharaan udang yang terbuat dari bahan polyethylene yang telah disterilkan menggunakan larutan hipoklorit (30%). Air laut yang digunakan untuk media pemeliharaan adalah air laut yang telah difilter. Aerasi dilakukan melalui 1 buah batu aerasi setiap bak. Aerasi dilakukan selama 24 jam. Permukaan bak ditutup dengan jaring untuk mencegah agar udang tidak meloncat keluar. Pemberian pakan udang dilakukan sebanyak 3 % berat badan dalam 3 kali pemberian per hari.

Selama penelitian dilakukan pengamatan terhadap jumlah udang uji yang mati. Hasil pengamatan ini digunakan untuk menghitung sintasan (kelulushidupan) udang. Nilai sintasan dihitung sebagai prosentase jumlah individu udang yang bertahan hidup selama waktu pemeliharaan. Berat udang diukur setiap 7 hari sekali selama 35 hari. Pada setiap bak dilakukan pengukuran terhadap 5 ekor udang. Pertambahan berat merupakan persentase pertambahan berat udang dari awal penelitian sampai akhir pemeliharaan. Pertambahan berat dihitung dengan rumus menurut Far *et al.*, (2009) sebagai selisih antara berat akhir dengan berat awal.

Performa sistem imun udang yang dianalisis dalam penelitian ini meliputi sistem imun seluler, yaitu jumlah total hemosit (THC) dan aktivitas fagositosis (AF). Analisis hematosit dilakukan dengan mengambil sampel hemolimfe udang, pengambilan hemolimfe dilakukan dari ventral sinus udang dengan prosedur menurut Partida-Arangure *et al.* (2013). Hemolimfe diambil menggunakan syringe steril yang telah dibasahi dengan larutan antikoagulan (10% sodium sitrat). Hemolimfe kemudian ditempatkan pada beberapa tabung mikrotube untuk digunakan dalam penghitungan jumlah total hemosit dan aktivitas fagositosis. Jumlah total hemosit (THC) dihitung menggunakan hemositometer (Chotikachinda *et al.*, 2008). Pengamatan dan penghitungan THC dilakukan dengan mikroskop cahaya.

Aktivitas Fagositosis ditentukan dengan metode menurut Sritunyaluksana *et al.* (2005) yang dimodifikasi. Hemolimfe sebanyak 20 μ l ditambahkan ke dalam 20 μ l PBS yang ada di *micro-well plate*, kemudian ditambahkan 20 μ l 10^8 sel ml⁻¹ *Bacillus subtilis* (yang telah diinaktifkan dengan formalin 2%). Diambil 7 μ l dan dibuat preparat apus pada *object glass*, difiksasi dengan 95% *ethanol*, kemudian dilakukan pengecatan dengan 10% Giemsa selama 20 menit. Preparat kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Aktivitas fagositosis diamati dibawah mikroskop cahaya. Perhitungan persentase aktivitas fagositosis (AF), dihitung sebagai perbandingan antara jumlah sel yang aktif dengan jumlah sel yang diamati. Sedang respon perlakuan dihitung sebagai persentase perbandingan perubahan nilai parameter yang diamati dengan nilai kontrol.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai kelulushidupan (sintasan) udang tertinggi terjadi pada perlakuan *L. lactis* U, 181 dan mix U-P-W yaitu 90 %. Sedangkan untuk perlakuan *L. lactis* P-32, *L. lactis* W-331 dan control masing-masing rata-rata sebesar 86,7 %. Hasil pengamatan visual terhadap morfologi udang yang mati tidak menunjukkan gejala terserang penyakit.

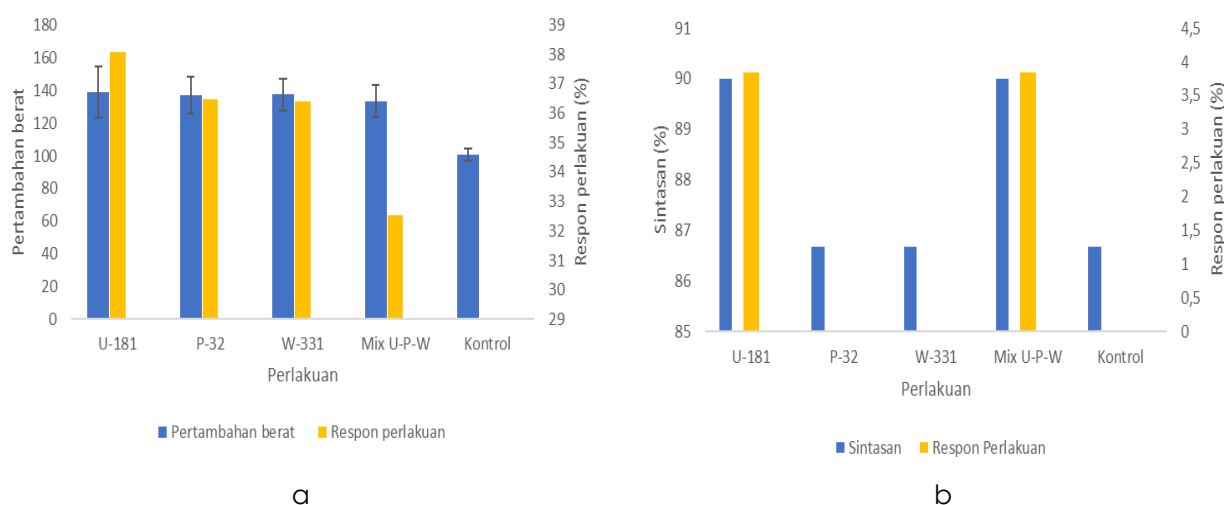
Pertumbuhan pada hakekatnya adalah pertambahan berat persatuan waktu. Pada penelitian aplikasi paraprobiotik secara tunggal maupun campuran mampu meningkatkan pertambahan berat udang vannamei. Berdasarkan hasil penelitian terjadi peningkatan pertambahan berat antara 133 % -138 %, sedangkan pada kontrol menghasilkan pertambahan berat rata-rata sebesar 100,7 %. Sehingga perlakuan aplikasi paraprobiotik menghasilkan respon peningkatan pertumbuhan antara 32 % - 37 %. Pertambahan berat tertinggi terjadi pada aplikasi paraprobiotik *L. lactis* U-181. Respon peningkatan pertumbuhan oleh aplikasi paraprobiotik juga ditunjukkan oleh beberapa peneliti seperti aplikasi heat killed *L. plantarum* (LP20) meningkatkan

pertumbuhan dan *feed efficiency ratio* red sea bream (*Pagrus major*) (Dawood *et al.*, 2015), aplikasi sel mati *Clostridium butyricum* CBG01 mampu meningkatkan kinerja pertumbuhan dan tingkat kelangsungan hidup *P. vannamei* (Luo, *et al.*, 2021), aplikasi paraprobiotik *Bacillus* sp. NP5 menunjukkan meningkatkan rata-rata bobot akhir, laju pertumbuhan spesifik (LPS) dan rasio konversi pakan (RKP) (Widanarni *et al.*, 2022), aplikasi *heat-inactivated Bacillus subtilis* mampu meningkatkan performa pertumbuhan (berat akhir, penambahan berat badan, dan laju pertumbuhan spesifik) striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) (Shawky *et al.*, 2023). Meskipun demikian ada juga penelitian yang memberikan hasil yang berbeda yaitu aplikasi *heat-inactivated L. plantarum* pada konsentrasi pakan 10^8 cfu.g⁻¹ tidak efektif meningkatkan parameter pertumbuhan *Macrobrachium rosenbergii* (Dash *et al.*, 2015).

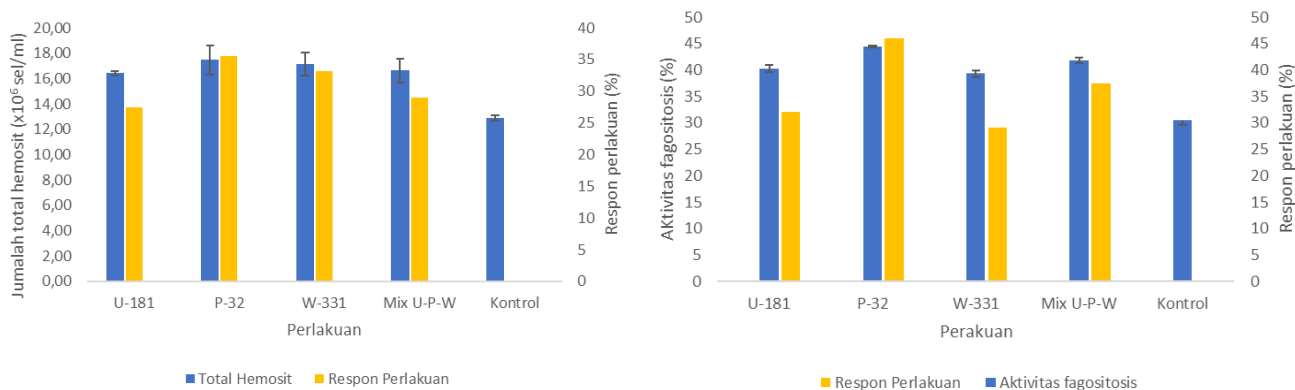
Hemosit memainkan peran penting pada sistem pertahanan tubuh krustacea terutama pada sistem pertahanan seluler (Lin, 2010). Hasil penelitian menunjukkan perlakuan pemberian paraprobiotik *L. lactis* memberikan respon peningkatan jumlah total hemosit, Jumlah total hemosit pada udang dengan perlakuan bervariasi antara $16,4 \cdot 10^6$ - $7,5 \cdot 10^6$ sel.mL⁻¹, sedangkan pada kontrol sebesar $12,90 \cdot 10^6$ sel.mL⁻¹, atau perlakuan menghasilkan respon peningkatan jumlah total hemosit antara 27,4-35,6 %. Peningkatan tertinggi terjadi pada perlakuan *L. lactis* P-32. Peningkatan jumlah total hemosit oleh aplikasi paraprobiotik juga dilaporkan oleh Tung *et al.* (2009, 2010), Dash *et al.* (2015), dan Duc *et al.* (2016), dan komponen seluler dilaporkan oleh Maftuch *et al.* (2013).

Aktivitas fagositosis hemosit udang pada perlakuan paraprobiotik selama 35 hari aplikasi bervariasi antara 39,3-44,45 %, sedangkan pada kontrol sebesar 30,45 %. Berdasarkan nilai ini menunjukkan perlakuan paraprobiotik mampu menghasilkan respon peningkatan aktivitas fagositosis sebesar 29,1-45,9 %. Respon tertinggi terjadi pada perlakuan *L. lactis* P.32

Berdasarkan hasil penelitian ini menunjukkan ke 3 paraprobiotik *L. lactis* yang berbeda yaitu U-181, P.32 dan W-331 memberikan variasi respon pertumbuhan dan imunitas yang berbeda. Variasi respon oleh ini dimungkinkan karena mekanisme kerja paraprobiotik terjadi melalui mekanisme interaksi antara komponen sel terutama dinding sel dan struktur tambahan yang ada di sisi luar dinding sel dengan sel intestinum. Maka jika ada variasi struktur dinding sel akan memberikan efek yang berbeda. Menurut Sengupta *et al.*, (2013) terdapat spesifisitas strain pada faktor permukaan sel. Pada permukaan sel bakteri terdapat karakteristik struktur yang dikenal sebagai *microbe-associated molecular patterns* (MAMP), yang biasanya adalah komponen dinding sel seperti LPS, PG, LTA serta WTA dan juga lipid, lipoprotein, protein dan asam nukleat. Menurut Chapot-Charter



Gambar 1. Pertambahan berat dan sintasan (kelulusahidupan) udang vanamei pada aplikasi paraprobiotik *L. lactis* selama 35 hari kultur.



Gambar 2. Jumlah total hemosit (THC) dan aktivitas fagositosis hemsosit udang vanamei pada aplikasi paraprobiotik *L. lactis* selama 35 hari kultur.

dan Kulakauskas (2014) bakteri dicirikan oleh adanya variasi intraspesies yang ekstensif. Dinding sel BAL merupakan bakteri gram positif memiliki susunan makromolekul yang kompleks. Dinding sel ini terdiri dari peptidoglikan dan struktur aksesorisnya berupa glikopolimer seperti asan teikoat, polisakarida dan protein. Lapisan peptidoglikan bersifat dinamis selama pertumbuhan sel. Struktur PG merupakan hasil dari proses biosintesis yang kompleks, reaksi maturasi dan degradasi. Schar-Zammaretti dan Ubbink (2003) melaporkan dalam penelitiannya bahwa *L. johnsonii* DSM20533 pada permukaan luar didominasi oleh komponen polisakarida netral, tetapi pada *L. johnsonii* ATCC332 didominasi oleh asam (Lipo) teikoat, sedangkan pada *L. johnsonii* ATCC33200 didominasi oleh polisakarida anionik. Perbedaan pada tingkat strain juga ditunjukkan pada *L. helveticus* ATCC12046 dan *L. helveticus* ATCC15009, pada ke 2 strain ini permukaan luar didominasi oleh polisakarida anionik tetapi memiliki karakter polimer yang berbeda yaitu yang pertama bersifat heterogen, panjang dan yang ke dua memiliki konformasi padat. Berdasarkan penjelasan tersebut diatas maka dimungkinkan terjadi variasi respon pertumbuhan dan imunitas pada perlakuan paraprobiotik yang berasal dari 3 isolat *L. lactis* yang digunakan dalam penelitian ini.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa aplikasi paraprobiotik *L. lactis* pada konsentrasi 10⁸ cfu.gram⁻¹ pakan, baik secara tunggal atau dalam bentuk campuran ketiganya, dapat meningkatkan pertumbuhan dan imunitas udang Vanamei. Pada kondisi penelitian ini terjadi peningkatan pertumbuhan antara 32 % - 38 % lebih tinggi daripada kontrol, serta meningkatkan jumlah total hemosit dan aktivitas fagositosis berturut-turut antara 27,4-35,6 % dan 29,1-45,9 % lebih tinggi daripada kontrol.

DAFTAR PUSTAKA

- Castex, M., Chim, L., Pham, D., Lemaire, P., Wabete, N., Nicolas, J., Schmidely, P., & Mariojous, C. (2008). Probiotic *P. acidilactici* application in shrimp *Litopenaeus stylirostris* culture subject to vibriosis in New Caledonia, *Aquaculture*, 275, 182–193
- Chotikachinda, R., Lapjatupon, W., Chaisilapasung, S., Sangsue, D. & Tantikitti, C. (2008). Effect of inactive yeast cell wall on growth performance, survival rate and immune parameters in Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Songklanakarin Journal of Science & Technology*, 30 (6), 687-692.
- Dash, G., Raman, R. P., Prasad, K. P., Makesh, M., Pradeep, M.A., & Sen, S. (2015). Evaluation of paraprobiotic applicability of *Lactobacillus plantarum* in improving the immune response and disease protection in giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879). *Fish & Shellfish Immunology*, 43(1), 167-174, doi: 10.1016/j.fsi.2014.12.007.

- Dawood, M A.O., Koshio, S., Ishikawa, M., & Yokoyama, S. (2015). Effects of heat killed *Lactobacillus plantarum* (LP20) supplemental diets on growth performance, stress resistance and immune response of red sea bream, *Pagrus major*. *Aquaculture*, 442, 29-36, doi: 10.1016/j.aquaculture.2015.02.005
- de Almada, C. N., Almada, C. N., Martinez, R. C. R., Sant'Ana, A. S. (2016). Paraprobiotics: Evidences on their ability to modify biological responses, inactivation methods and perspectives on their application in foods. *Trends in food science & technology*, 58, 96-114
- Dehlink, E., Domig, K. J., Loibichler, C., Kampl, E., Eiwegger, T., Georgopoulos, A., Kneifel, W., Urbanek, R., & Pfalusi, Z. S. (2007). Heat- and Formalin-Inactivated Probiotic Bacteria Induce Comparable Cytokine Patterns in Intestinal Epithelial Cell–Leucocyte Cocultures. *Journal of Food Protection*, 70(10), 2417–2421.
- Duc, P. M., Nhan, H. T., Hoa, T. T. T., Huyen, H. M., Tao, C. T., An, C. M., Thy, D. T. M., Hai, T. N., Yoshitaka, H. & Satoru, O. (2016). Effects of heat-killed *Lactobacillus plantarum* strain L-137 on growth performance and immune responses of white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) via dietary administration. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 6(3), 270-280.
- El-Ghany, W.A. (2020). Paraprobiotics and postbiotics: Contemporary and promising natural antibiotics alternatives and their applications in the poultry field. *Open Veterinary Journal*, 10(3), 323-330. doi: 10.4314/ovj.v10i3.11.
- Far, H.Z., Saad, C.R.B., Daud, H.M., Harmin, S.A. & Shakibazadeh, S. (2009). Effect of *Bacillus subtilis* on the growth and survival rate of shrimp (*Litopenaeus vannamei*), *African Journal of Biotechnology*, 8(14), 3369-3376
- Humas Ditjen PDSPKP (2022). Ekspor Perikanan Tumbuh 10,66% di 2022. Diakses Agustus 2023. <https://kkp.go.id/djpdspkp/artikel/47840-ekspor-perikanan-tumbuh-10-66-di-2022>
- Ridwan, M & Situmorang, B. 2022. KKP: Nilai ekspor udang Indonesia ke Amerika 1,106 miliar dolar KKP: Nilai ekspor udang Indonesia ke Amerika 1,106 miliar dolar <https://www.antaranews.com/berita/3254149/kkp-nilai-ekspor-udang-indonesia-ke-amerika-1106-miliar-dolar>.
- K. Luo, K., Tian, X., Wang, B., Wei, C., Wang, L., Zhang, S., Liu, Y., Li, T., & Dong, S. (2021). Evaluation of paraprobiotic applicability of *Clostridium butyricum* CBG01 in improving the growth performance, immune responses and disease resistance in Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, 544, p.737041, doi: 10.1016/j.aquaculture.2021.737041
- Maftuch, Prasetio, E., Sudianto, A., Rozik, M., Nurdiani, R., Sanusi, E., Murachman, (2013). Improvement of innate immune responses and defense activity in tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fab.) by intramuscular administration of the outer membrane protein *Vibrio alginolyticus*. SpringerPlus, 2, p.432. doi: 10.1186/2193-1801-2-432S
- Mehta, P., Ayakar, S., & Singhal, R.S. (2023), The potential of paraprobiotics and postbiotics to modulate the immune system: A Review. *Microbiological Research* 275, p.127449, doi: 10.1016/j.aquaculture.2023.739751
- Putra A. (2022). Peluang besar Indonesia jadi pemain utama udang dunia. *TROBOS Aqua*, 119(10), 66-67.
- Sengupta, R., Altermann, E., Anderson, R.C., McNabb, W.C., Moughanand, P.J., & Roy, N.C. (2013). The Role of Cell Surface Architecture of Lactobacilli in Host-Microbe Interactions in the Gastrointestinal Tract, *Mediators of inflammation*, Article ID 237921, 16 pages doi: 10.1155/2013/237921
- Shawky, A., Abd El-Razek, I.M., El-Halawany, R.S., Zaineldin, A.I., Amer, A.A., Gewaily, M.S., Dawood, M. A.O. (2023). Dietary effect of heat-inactivated *Bacillus subtilis* on the growth performance, blood biochemistry, immunity, and antioxidative response of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*), *Aquaculture*, 575, p.739751,
- Siciliano, R.A., Reale, A., Mazzeo, M. F., Morandi, S., Silveti, T. & Brasca, M. (2021). Paraprobiotics: A New Perspective for Functional Foods and Nutraceuticals, *Nutrients*, 13(4), p.1225; doi: 10.3390/nu13041225
- Sritunyalucksana, K., Lee, S.Y., & Söderhäll, K. (2002). A beta-1,3-glucan binding protein from the black tiger shrimp, *Penaeus monodon*. *Developmental and Comparative Immunology*, 26(3), 237-45.

- Tukaram, N.M., Biswas, A., Deo, C., Laxman, A.J., Monika. M., & Tiwari, A.K. (2022). Effects of paraprobiotic as replacements for antibiotic on performance, immunity, gut health and carcass characteristics in broiler chickens. *Scientific Reports*, 12, p.22619. doi: 10.1038/s41598-022-27181-z
- Tung, H. T, Koshio, S., Traifalgar, R. F., Ishikawa, M., Yokoyama, S. (2010). Effects of dietary Heat-killed *Lactobacillus plantarum* on larval and post larval kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicas* bate. *Journal of the World Aquaculture Society*, 41(1), 16–27. doi: 10.1111/j.1749-7345.2009.00329.x
- Tung, H.T., Koshio, S., Teshima, S.I., Ishitaka, M., Yokoyama, S., Ren, T., Hirose, Y., Phuong, N.D.T. (2009). Effects of heat-skilled *Lactobacillus plantarum* supplementatal diets on growth performance, stress resistance and immune response of juvenile Kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicas* Bate. *Aquaculture Science*, 57(2), 175-184.
- Widanarni, Sukenda, Anggraeni, A. A., Maharani, Rr B. A., Mulyadin, A., & Yuhana, M. (2022). Efek aplikasi dosis paraprobiotik *Bacillus* sp. NP5 yang berbeda terhadap kinerja pertumbuhan dan resistansi ikan nila terhadap infeksi *Streptococcus agalactiae*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 21(2), 186–197.
- Zheng, X., Duan, Y., Dong, H., & Zhang, J. (2017). Effects of dietary *Lactobacillus plantarum* in different treatments on growth performance and immune gene expression of white shrimp *Litopenaeus vannamei* under normal condition and stress of acute low salinity. *Fish & Shellfish Immunology* 62, (195-201) doi: 10.1016/j.fsi.2017.01.015