

# Aplikasi *Lactococcus Lactis* Sebagai Probiotik Pada Budidaya Udang Vanamei Skala Laboratorium: Analisis Status Kesehatan Udang Berbasis Pertambahan Berat Dan Performa Sistem Imunitas Seluler

Subagiyo<sup>1\*</sup>, Triyanto<sup>2</sup>, Stefanie Jessica Henny Larasati<sup>1</sup>, Elsa Lusia Agus<sup>3</sup>

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

<sup>2</sup>Departemen Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada

Jl. Flora Bulaksumur, Caturtunggal, Sleman Daerah Istimewa Yogyakarta 55281 Indonesia

<sup>3</sup>Jurusan Ilmu Kelautan, Fakultas Sains dan Teknologi Pertanian, Universitas Muhammadiyah Semarang  
Jl. Kedungmundu Raya No. 18 Semarang Jawa Tengah Indonesia

Email: subagiyo.kelautan13@gmail.com

## Abstract

### **Application of *Lactococcus lactis* as a Probiotic in Laboratory-Scale Vanamei Shrimp Culture: Analysis of Shrimp Health Status Based on Weight Gain and Cellular Immune System Performance**

This research aims to prove the effectiveness of the application of *Lc lactis* as a probiotic in laboratory-scale cultivation of *P. vanamei* shrimp based on its effect on weight gain and cellular immunity performance. Experiments were carried out on 3 *Lc lactis* isolates, namely U.181, P.32 and W-331 as well as a mixture of these three isolates. *Lc. lactis* were applied orally through feed (pellets) at a dose of 108 cells/gram of feed. At 7-day intervals during the 35 days of the experiment, the weight of the shrimp was weighed and the hemolymph was taken to then calculate the total number of hemocytes and phagocytic activity. The experimental results showed that the average weight gain was between 106.8 ± 9.78%-138.2 ± 1.68%, while in controls it was 100.7 ± 3.72%. So the treatment effect of adding *Lc lactis* on shrimp weight gain was between 6.0 ± 5.8% - 37.3 ± 3.4%. In this study the average total number of hemocytes in the treatment was between 154.9 ± 4.8 x 10<sup>5</sup> - 176.2 ± 15 x 10<sup>5</sup> cells/mL and in the control, it was 128.9 ± 1.9 x 10<sup>5</sup>. So the effect size was treatment with the addition of *Lc lactis* to the total number of hemocytes was 20.1 ± 2.0% to 36.6 ± 9.6%. The average phagocytic activity in the treatment was 42.1 ± 0.8% - 48.3 ± 1.0% while in the control it was 30.4 ± 0.8%. So the magnitude of the treatment effect on phagocytic activity was between 38.1 ± 1.08% - 58.7 ± 1.05%. Based on this research, it can be concluded that *Lc Lactis* U.181, P.32 and W-331 can be developed as probiotics in shrimp cultivation either singly or in a mixture, because they are able to provide the effect of increasing body weight and increasing the performance of cellular immunity.

**Keywords:** probiotics; *Lc lactis*; *P. vanamei*; hemocytes; phagocytosis; weight gain

## Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan bukti efektivitas aplikasi *Lc lactis* sebagai probiotik pada budidaya udang *P. vanamei* skala laboratorium berdasarkan efeknya terhadap pertambahan berat dan performa imunitas seluler. Percobaan dilakukan terhadap 3 isolat *Lc lactis* yaitu U.181, P.32 dan W-331 serta campuran dari ketiga isolat tersebut. *Lc. Lactis* diaplikasikan secara oral melalui pakan (pellet) dengan dosis 10<sup>8</sup>sel/gram pakan. Pada interval waktu 7 hari selama 35 hari waktu percobaan dilakukan penimbangan berat udang dan pengambilan hemolimfe untuk selanjutnya dilakukan penghitungan jumlah total hemosit dan aktivitas fagositosis. Hasil percobaan menunjukkan rata-rata pertambahan berat antara 106,8 ± 9,78%-138,2±1,68%, sedangkan pada kontrol sebesar 100,7±3,72%. Sehingga besarnya efek perlakuan penambahan *Lc lactis* terhadap pertambahan berat udang antara 6,0 ±5,8 % - 37,3 ±3,4%. Pada penelitian ini rata-rata jumlah total hemosit pada perlakuan antara 154,9 ± 4,8 x 10<sup>5</sup> - 176,2 ± 15 x 10<sup>5</sup> sel/mL dan pada kontrol sebanyak 128,9 ± 1,9 x 10<sup>5</sup>. Sehingga besarnya efek perlakuan penambahan *Lc lactis* terhadap jumlah total hemosit adalah 20,1 ± 2,0 % hingga 36,6 ± 9,6 %. Rata-rata aktivitas fagositosis pada perlakuan adalah 42,1 ± 0,8% - 48,3 ± 1,0% sedangkan pada kontrol sebesar 30,4 ± 0,8%. Sehingga besarnya efek perlakuan terhadap aktivitas fagositosis adalah antara 38,1 ± 1,08% - 58,7± 1,05%. Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa *Lc lactis* U.181, P.32 dan W-331 dapat dikembangkan sebagai probiotik pada budidaya udang baik secara tunggal maupun secara campuran, karena mampu memberikan efek peningkatan berat badan dan peningkatan performa imunitas seluler.

**Kata kunci:** probiotik; *Lc lactis*; *P. vanamei*; hemosit; fagositosis; pertambahan berat

## PENDAHULUAN

Perikanan budidaya tambak di Indonesia memiliki posisi strategis yang ditunjukkan diantaranya oleh luas lahan budidaya yang tinggi dan posisinya pada ekspor perikanan Indonesia.

Data statistik KKP menunjukkan pada tahun 2022 di Indonesia terdapat 260.134.612 ha lahan tambak intensive, 484.789.118 ha lahan tambak semi-intensive dan 7.479.521.614 ha lahan tambak sederhana, dengan total produksi pada tahun 2022 sebesar 918.550.35-ton dengan nilai Rp. 62.037.301.000.000 (KKP, 2024). Berdasarkan laporan kinerja KKP tahun 2023 (KKP, 2024) nilai ekspor udang Indonesia di tahun 2023 menempati urutan pertama yaitu sebesar 30,7 dari total nilai ekspor atau sebesar 1.729.400.632 USD. Signifikansi nilai ekonomi udang mendorong upaya yang semakin besar untuk meningkatkan produksi udang melalui praktek budidaya udang (El-Saadony *et al.*, 2022).

Salah satu masalah yang dihadapi dalam budidaya udang diantaranya adalah serangan penyakit yang di akibatkan oleh virus dan bakteri (KKP, 2024). Sebaran penyakit udang di sentra budidaya udang Indonesia dilaporkan oleh Majalah Trobos yaitu Lampung merupakan wilayah endemis white spot syndrome virus (WSSV) dan AHPND, Pesisir Barat dan Bengkulu merupakan endemis white feces disease (WFD) dan infectious myonecrosis virus (IMNV), Bangka-Kepulauan Bangka Belitung endemis covert mortality nodavirus (CMNV) dan AHPND, Pantura Jawa Barat (WSSV) dan Probolinggo dan Situbondo-Jawa Timur seringkali terpapar WFD, WSSV, dan AHPND (Trobos Aqua, 2024). Kajian meta-analisis pengaruh penambahan probiotik terhadap kelangsungan hidup udang dan performa pertumbuhan menunjukkan bahwa penambahan probiotik dapat meningkatkan kelulushidupan dan laju pertumbuhan spesifik udang (Toledo *et al.*, 2019). Sehingga probiotik merupakan pendekatan yang efektif dan berkelanjutan untuk mengendalikan penyakit pada budidaya udang yang disebabkan oleh virus dan bakteri patogen (Jamal *et al.*, 2019). Probiotik dipertimbangkan sebagai suplemen potensial untuk udang selama budidaya, memberikan bermanfaat sebagai pengendalian penyakit dan peningkatan produksi (Tamilselvan & Raja, 2024). Peningkatan jumlah bakteri probiotik menekan pertumbuhan dan keberadaan bakteri patogen, sehingga menurunkan kerentanan terhadap penyakit. Selain itu, bakteri probiotik juga membantu pencernaan dengan memecah senyawa kompleks menjadi zat yang lebih sederhana sehingga lebih mudah diserap tubuh. Mekanisme ini meningkatkan kinerja pertumbuhan dalam hal berat, panjang, dan rasio konversi pakan (Amiin *et al.*, 2023). Aplikasi probiotik pada budidaya udang telah terbukti memperkuat sistem kekebalan tubuh dan meningkatkan ketahanan terhadap penyakit (Khanjani *et al.*, 2024). Bakteri Asam Laktat telah terbukti sebagai probiotik untuk *P. vanamei* seperti *Lactococcus lactis* S2 dan *Enterococcus faecalis* F7 (Cai *et al.*, 2022), *Lactobacillus reuteri* dan *Pediococcus acidilactici* (Wu *et al.*, 2022), *Lactobacillus plantarum* (Wei *et al.*, 2022), *Enterococcus faecium* (Luo *et al.*, 2024). *Lc lactis* juga sudah terbukti memberikan manfaat peningkatan pertumbuhan dan imunitas udang *P. vanamei* pada percobaan aplikasi dalam bentuk inaktif (paraprobiotik) (Subagiyo *et al.*, 2023). *Lc. Lactis* telah memperoleh status yang secara umum diakui sebagai aman (GRAS) dan status praduga keselamatan yang memenuhi syarat (QPS) berturut-turut menurut Food and Drug Administration (FDA) dan European Food Safety Authority (EFSA) (Kazou, 2022). Berdasarkan hal tersebut maka penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan bukti efektivitas aplikasi *L. lactis* sebagai probiotik pada budidaya udang *P. vanamei* skala laboratorium berdasarkan efeknya terhadap pertambahan berat dan performa imunitas seluler (total jumlah hemosit dan aktivitas fagositosis).

## MATERI DAN METODE

Penelitian ini menggunakan materi berupa 3 isolat BAL *Lc lactis* U-181, *Lc lactis* P-32 dan *Lc lactis* W-331 dan udang Vaname, media air laut yang telah difiltrasi dan pakan udang. *Lc lactis* U-181, *Lc lactis* P-32 dan *Lc lactis* W-331 ditumbuhkan pada media MRS broth dalam erlenmeyer erlenmeyer. Inkubasi pada suhu kamar selama 24 jam. Kerapatan sel ditentukan dengan metode *optical density* menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm. Selanjutnya sel isolat BAL dipanen dengan cara sentrifugasi, kemudian disimpan pada freezer -20°C dalam larutan gliserol (30%) dan skim milk (10%) ratio 1:1 sampai akan digunakan.

Suplementasi *Lc lactis* U-181, *Lc lactis* P-32 dan *Lc lactis* W-331 ke dalam pakan udang dilakukan dengan cara disemprotkan menggunakan *sprayer* (Vieira *et al.*, 2010). Stok *Lc lactis* dari freezer dipindahkan ke refrigerator, dan didiamkan selama 1 jam, selanjutnya dipindahkan ruang

dengan suhu kamar selama 1 jam. Stok di sentrifugasi, supernatan (larutan gliserol + skim milk) dibuang, sel selanjutnya diresuspensikan kedalam larutan NaCl (0,9 %), dimasukkan ke dalam sprayer dan disemprotkan ke pakan secara merata. Pakan didiamkan beberapa saat agar suspensi bakteri meresap ke dalam pakan. Supplements pakan dengan *Lc lactis* dilakukan hanya pada saat akan digunakan.

Bak untuk percobaan yang terbuat dari bahan polyethylene dibersihkan dan disterilkan menggunakan larutan hipoklorit (30%). Sisa klor dihilangkan dengan cara dibilas beberapa kali sampai bau klorin hilang dan dikeringkan. Bak diisi air laut yang telah difilter sebanyak 80 % kapasitas maksimum dan diaerasi 24 jam selama percobaan. Permukaan bak ditutup dengan jaring untuk mencegah agar udang tidak meloncat keluar. Udang vaname di aklimatisasi sebelum digunakan untuk percobaan dengan prosedur menurut Castex *et al.* (2008) dengan modifikasi. Udang selama proses aklimatisasi diberi pakan pelet komersial *ad libitum* sebanyak 3 % berat badan dalam empat kali pemberian yaitu pagi hari jam 05.00, siang hari jam 11.00, sore jam hari 17.00 dan malam hari jam 23.00.

Perlakuan aplikasi *Lc lactis* terdiri dari aplikasi tunggal (perlakuan *Lc lactis* U-181, *Lc lactis* P-32 dan *Lc lactis* W-131) dan dalam bentuk campuran dari ketiga jenis *Lc lactis* (1:1:1), dan tanpa perlakuan (tanpa penambahan *Lc. Lactis*) sebagai kontrol sehingga total ada 4 perlakuan dan 1 kontrol. Parameter kesehatan udang yang diamati dan diukur dalam penelitian aplikasi *Lc lactis* meliputi performa pertumbuhan dan sistem imunitas seluler.

Pertumbuhan diukur berdasarkan penambahan berat udang. Setiap 7 hari sekali selama 35 hari penelitian, dilakukan pengambilan sampel 5 udang pada setiap bak perlakuan, kemudian ditimbang berat. Berdasarkan data pengukuran berat dihitung laju pertumbuhan spesifik yang merupakan penambahan berat persatuan waktu selama penelitian. Pertambahan berat dan laju pertumbuhan spesifik dihitung dengan rumus menurut Far *et al.*, (2009). Performa sistem imun udang yang dikaji dalam penelitian ini meliputi sistem imun seluler yaitu jumlah total hemosit (THC) dan aktivitas fagositosis (AF).

Sampel hemolimfe udang pada tiap perlakuan diambil dengan prosedur menurut Partida-Arangure *et al.*, (2013) yang dimodifikasi. Hemolimfe udang sebanyak 300 µl diambil di bagian ventral sinus menggunakan *syringe* steril ukuran 1 ml yang dilengkapi dengan mata jarum berukuran 25-gauge. *Syringe* sebelum digunakan dibasahi dengan larutan antikoagulan (10% sodium sitrat). Hemolimfe yang diperoleh dimasukkan ke dalam tabung *microtube*, selanjutnya digunakan untuk penghitungan jumlah total hemosit dan aktivitas fagositosis. Jumlah total hemosit (THC) dihitung dengan cara melarutkan 2 µl hemolimfe ke dalam 8 µl PBS (*Phosphate Buffered Saline*), selanjutnya dipipetkan ke dalam hemositometer untuk dilakukan pengamatan di bawah mikroskop cahaya.

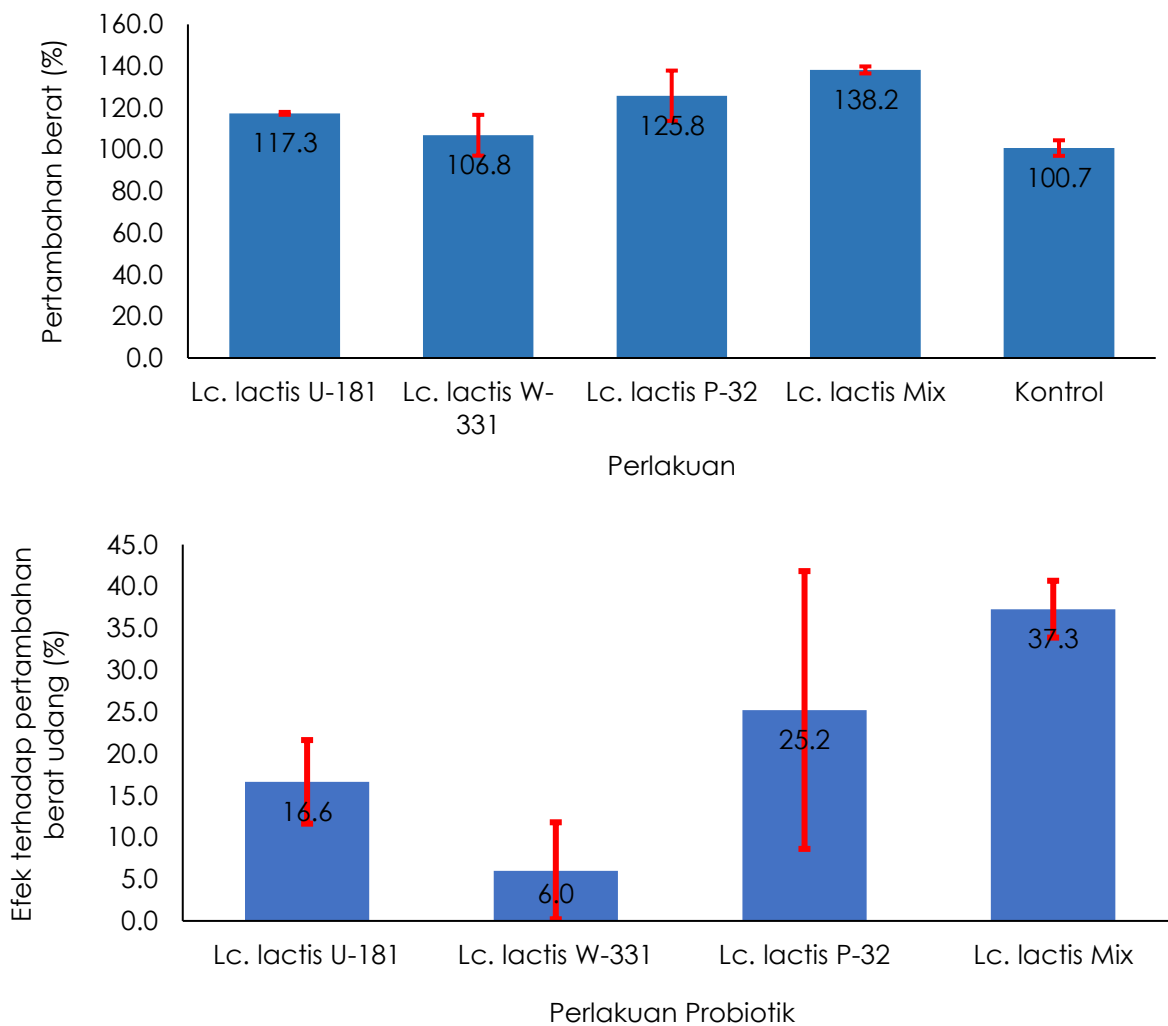
Aktivitas Fagositosis ditentukan dengan cara mencampurkan 20 µl hemolimfe dengan 20 µl PBS dalam *micro-well plate*. Selanjutnya ditambahkan 20 µl  $10^8$  sel ml<sup>-1</sup> *Bacillus subtilis* yang telah dinaktifkan dengan 2% formalin. Campuran ini diambil sebanyak 72 µl kemudian dibuat preparat apus di atas *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 aktifitas fagositosis (AF), dihitung dengan rumus:

$$AF (\%) = (\text{jumlah sel yang aktif}) / (\text{jumlah sel yang diamati}) \times 100 \%$$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

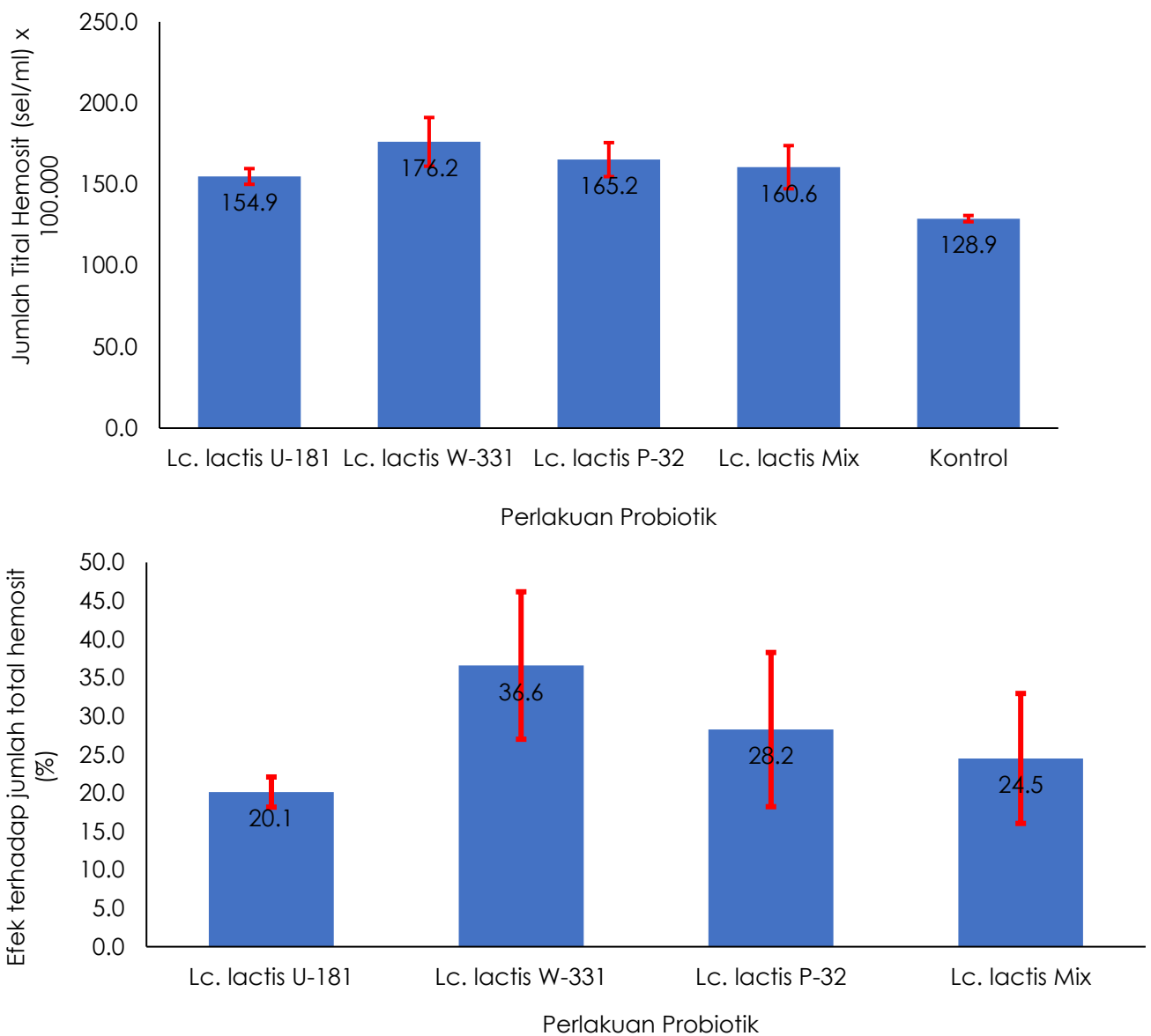
Pertumbuhan udang pada hakekatnya adalah penambahan berat tubuh udang persatuan waktu. Pada penelitian aplikasi *Lc. lactis* secara tunggal maupun campuran terhadap penambahan berat udang vaname selama 35 hari menghasilkan peningkatan penambahan berat

antara 106,74-138,23 % atau efek perlakuan antara 6,07-37,36 % (Gambar 1). Aplikasi tunggal terbaik adalah *Lc. lactis* P-32 yang memberikan efek peningkatan pertambahan berat sebesar 25,2%. Sedangkan aplikasi campuran memberikan efek peningkatan yang lebih tinggi dibandingkan aplikasi tunggal yaitu memberikan peningkatan sebesar 37,3%. Hal ini menunjukkan bahwa *Lc. lactis* mampu meningkatkan pertumbuhan udang uji. Efek ini terjadi melalui penyehatan dan penyediaan kecukupan gizi. Salah satu mekanisme penyehatan dan pertumbuhan oleh bakteri probiotik adalah menekan pertumbuhan dan keberadaan bakteri patogen, sehingga menurunkan kerentanan penyakit. Selain itu, bakteri probiotik juga membantu pencernaan dengan memecah senyawa kompleks menjadi zat yang lebih sederhana tubuh dapat menyerap lebih mudah (Amiin *et al.*, 2023). *Lc. lactis* bersifat homofermentative hanya menghasilkan asam laktat saja (Kurbanova *et al.*, 2024). Asam laktat yang dihasilkan bakteri ini dapat memberikan efek positif bagi proses pencernaan dan juga pertumbuhan. Beberapa percobaan penambahan asam laktat dapat meningkatkan performa pertumbuhan (Romano *et al.*, 2015; Kandikatla & Kondamudi, 2016; Sivakumar *et al.*, 2022; Mirghaed, *et al.* 2023) dan juga pencernaan (da Silva *et al.*, 2016; Hoseini *et al.*, 2023). Asam laktat juga memiliki aktivitas antibakteri sehingga dapat meningkatkan kondisi kesehatan udang. Uji laboratorium menunjukkan aplikasi asam organik pada pakan udang dapat digunakan untuk mengendalikan infeksi *Vibrio* pada budidaya udang (Romano *et al.*, 2015; Sivakumar *et al.*, 2022).



**Gambar 1.** Pertambahan berat dan efek perlakuan terhadap pertambahan berat aplikasi *Lc. lactis* pada udang *P. vanamei* selama 35 hari percobaan.

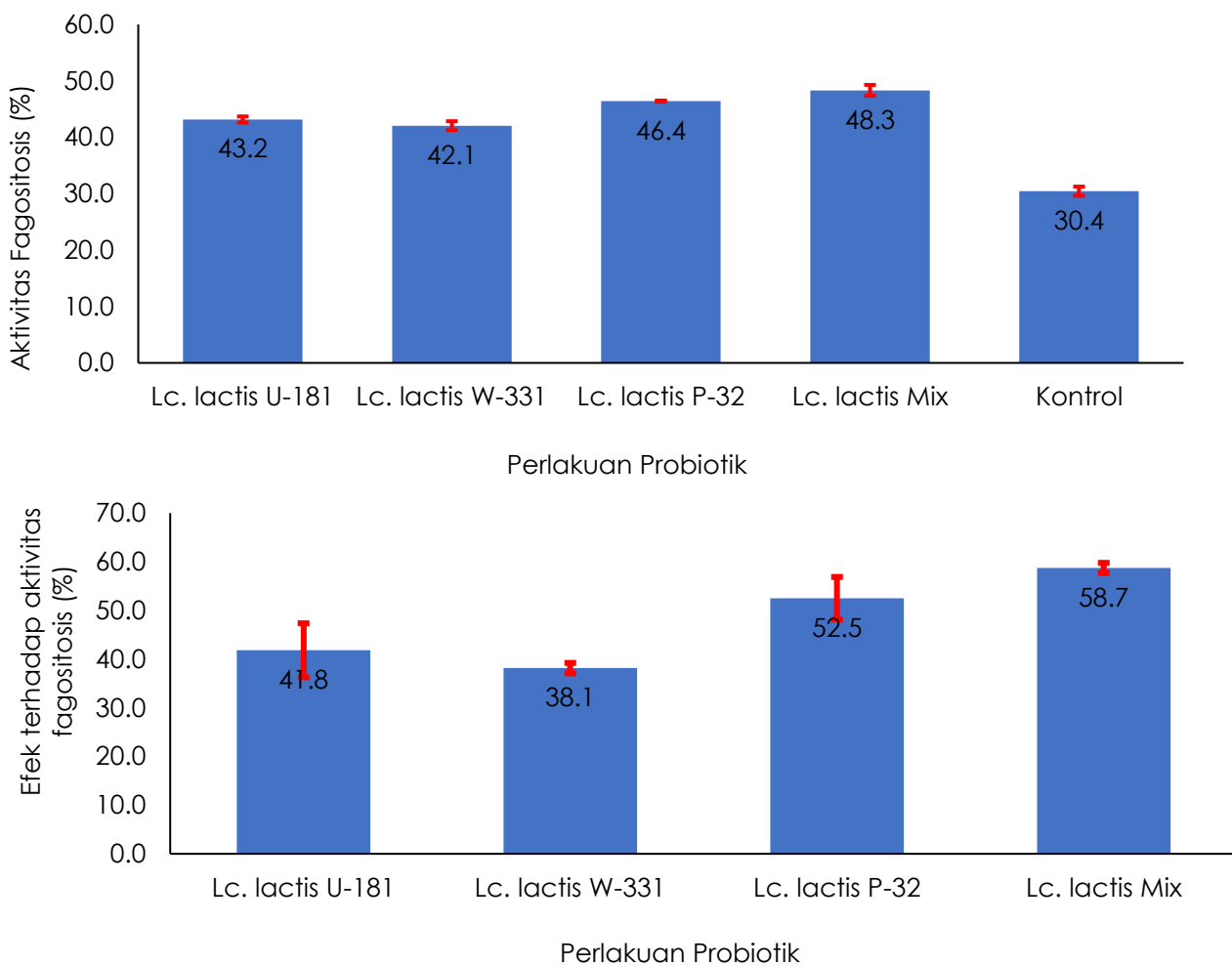
Aplikasi *Lc lactis* U-181, W-331, P-32 dan Mix pada budidaya udang vanamei selama 35 hari percobaan menunjukkan rata-rata pertambahan berat berturut-turut sebesar  $117.3 \pm 0,69\%$ ,  $106,8 \pm 9,78\%$ ,  $125 \pm 12,07\%$ , dan  $138,2 \pm 1,68\%$ , sedangkan pada kontrol terjadi pertambahan berat  $100,7 \pm 3,72\%$ . Sehingga besarnya efek perlakuan penambahan *Lc lactis* U-181, W-331, P-32 dan Mix terhadap pertambahan berat udang berturut-turut  $16,6 \pm 4,9 \%$ ,  $6,0 \pm 5,8 \%$ ,  $25,2 \pm 16,6\%$  dan  $37,3 \pm 3,4\%$ . Peningkatan pertumbuhan udang oleh aplikasi probiotik dilaporkan juga oleh Kongnum dan Hongpattarakere (2012); Sánchez-Ortiz *et al.*, (2015) Aplikasi probiotik mampu menghasilkan produk-produk bermanfaat yang disekresikan keluar diantaranya adalah enzim pencernaan (Sandeepa dan Ammani, 2015). Produksi enzim ini akan meningkatkan proses pencernaan dan penyerapan nutrisi sehingga berpengaruh meningkatkan pertumbuhan. Pengaruh probiotik terhadap pertumbuhan dan aktivitas enzim pencernaan dilaporkan oleh Wang (2007) dan Suzer *et al.*, (2008). Beberapa penelitian juga melaporkan bahwa *Lc lactis* menghasilkan enzim protease ekstraseluler (Addi & Guessas, 2016; Adel *et al*, 2017, Anggraeni, *et al*, 2022)



**Gambar 2.** Jumlah total hemosit dan efek perlakuan terhadap jumlah total hemosit aplikasi *Lc lactis* pada udang *P. vanamei* selama 35 hari percobaan.

### Jumlah Total Hemosit

Hemosit atau sel darah memegang peranan penting dalam sistem pertahanan tubuh krustacea yaitu sistem pertahanan seluler dan humoral (Lin *et al.*, 2010). Jumlah total hemosit merupakan indikator dasar status kesehatan udang, karena hemosit terlibat dalam sebagian besar mekanisme kekebalan tubuh di Krustacea. Keterlibatan hemosit didalam sistem pertahanan tubuh melalui berbagai mekanisme yaitu produksi ProPO yang disimpan di dalam semigranulosit, protein antimikroorganisme yang disimpan di dalam hemosit granulosit, fagositosis oleh hyalinosit dan semigranulosit, enkapsulasi oleh hemosit semigranulosit, produksi lektin didalam hyalinosit, semigranulosit dan hemosit dengan granula refraktil, serta protein pembeku dari hemosit. Pada penelitian ini rata-rata jumlah total hemosit pada 4 perlakuan probiotik antara  $154,9 \pm 4,8 \times 10^5$  –  $176,2 \pm 15 \times 10^5$  sel/mL dan pada kontrol sebanyak  $128,9 \pm 1,9 \times 10^5$  (Gambar 2). Besarnya efek perlakuan penambahan probiotik terhadap jumlah total hemosit adalah  $20,1 \pm 2,0$  % hingga  $36,6 \pm 9,6$  %. Efek peningkatan tertinggi terjadi pada perlakuan *Lc. lactis* W-331 dan terendah pada perlakuan *Lc. lactis* U-181. Berdasarkan hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan pemberian probiotik dapat memberikan efek peningkatan jumlah total hemosit. Asam organik yang dihasilkan oleh BAL dapat meningkatkan jumlah total hemosit. Penelitian mengenai aplikasi asam organik dapat meningkatkan jumlah total hemosit telah dilakukan oleh Sivakumar *et al.*, (2022) dan Mirghaed *et al.* (2023). Peningkatan jumlah total hemosit oleh aplikasi probiotik juga dilaporkan oleh Arisa *et al.* (2015) dan Wu *et al.* (2022)



**Gambar 3.** Aktivitas fagositosis dan efek perlakuan terhadap aktivitas fagositosis aplikasi *Lc lactis* pada udang *P. vanamei* selama 35 hari percobaan.

## Aktivitas Fagositosis

Rata-rata aktivitas fagositosis pada perlakuan adalah  $42,1 \pm 0,8\%$  -  $48,3 \pm 1,0\%$  sedangkan pada kontrol sebesar  $30,4 \pm 0,8\%$  (Gambar 3). Efek perlakuan terhadap aktivitas fagositosis antara  $38,1 \pm 1,08\%$  -  $58,7 \pm 1,05\%$ . Efek perlakuan tertinggi ditunjukkan oleh aplikasi campuran dari ke 3 *Lc Lactis*. Efek aplikasi probiotik pada udang terhadap peningkatan aktivitas fagositosis dilaporkan oleh Sugathan *et al.* (2015); Arisa *et al.* (2015); Huiwen & Jaffar (2020); Lee *et al.* (2023).

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa *Lc lactis* U-181, W-331, P-32 dan campuran 3 isolat *Lc lactis* dapat dikembangkan sebagai probiotik untuk udang karena mampu meningkatkan pertambahan berat dan performa imunitas seluler. Pada penelitian ini aplikasi tunggal *Lc lactis* U-181, W-331, P-32 mampu memberikan efek peningkatan pertambahan berat berturut-turut sebesar  $16,6 \pm 4,9\%$ ,  $6,0 \pm 5,8\%$ , dan  $25,2 \pm 16,6\%$ . Sedangkan aplikasi campuran memberikan efek peningkatan pertambahan berat sebesar  $37,3 \pm 3,4\%$ . Efek peningkatan imunitas seluler ditunjukkan dari peningkatan jumlah total hemosit sebesar  $20,1 \pm 2,0\%$  hingga  $36,6 \pm 9,6\%$ . Efek peningkatan tertinggi terjadi pada perlakuan *Lc. lactis* W-331 Meningkatkan aktivitas fagositosis sebesar antara  $38,1 \pm 1,08\%$  -  $58,7 \pm 1,05\%$ . Efek perlakuan tertinggi ditunjukkan oleh aplikasi campuran dari ke 3 *Lc Lactis*

## DAFTAR PUSTAKA

- Addi, N. & Guessas, B. (2016). Characterization of Protease Activity of *Lactococcus lactis* Species Isolated from Raw Camel's Milk. *Journal of Biological Sciences*, 16, 215-220. doi: 10.3923/jbs.2016.215.220
- Adel, M., El-Sayed, A.M., Yeganeh, S., Dadar, M., & Giri, S.S. (2017). Effect of Potential Probiotic *Lactococcus lactis* Subsp. *lactis* on Growth Performance, Intestinal Microbiota, Digestive Enzyme Activities, and Disease Resistance of *Litopenaeus vannamei*. *Probiotics Antimicrob Proteins*, 9(2), 150-156. doi: 10.1007/s12602-016-9235-9.
- Amiin, M.K., Lahay, A.F., Putriani, R.B., Reza, M., Putri, S.M.E., Sumon, M.A.A., Jamal, M.T. & Santanumurti, M.B. (2023). The role of probiotics in vannamei shrimp aquaculture performance - A review. *Veterinary World*, 16(3), 638-649. doi: 10.14202/vetworld.2023.638-649.
- Anggraeni, S.L., Jayus, J., Ratnadewi, A.A.I. & Nurhayati, N. (2022). Edamame protein hydrolysis using *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus bulgaricus*, and *Lactobacillus paracasei* produce short peptides with higher antioxidant potential. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 23(7), 3603-3612. doi: 10.13057/biodiv/d230737.
- Arisa, I.I., Widanarni, Yuhana, M., Muchlisin, Z.A. & Muhammadar, A.A. (2015). The application of probiotics, prebiotics and synbiotics to enhance the immune responses of vannamei shrimp (*Litopenaeus vannamei*) to *Vibrio harveyi* infection, *AAFL Bioflux*, 8(5), 772-778
- Cai, X., Wen, J. Long, H., Ren, W., Zhang, X., Huang, A., & Xie, Z. (2022). The probiotic effects, dose, and duration of lactic acid bacteria on disease resistance in *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Reports*, 26, 101299, doi: 10.1016/j.aqrep.2022.101299.
- Castex, M., Chim, L., Pham, D., Lemaire, P., Wabete, N., Nicolas, J., Schmidely, P., & Mariojouis, C., (2008). Probiotic *P. acidilactici* Application in Shrimp *Litopenaeus stylirostris* Culture Subject to Vibriosis in New Caledonia. *Aquaculture*, 275, 182-193.
- da Silva, B.C., Vieira, F.D.N., Mouriño, J.L.P., Bolivar, N. & Seiffert, W.Q. (2016). Butyrate and Propionate Improve the Growth Performance of *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Research*, 47, 612-623.
- El-Saadony, M.T., Shehata, A.M., Alagawany, M., Abdel-Moneim, A.E., Selim, D.A., Abdo, M., Khafaga, A.F., El-Tarabily, K.A., El-Shall, N.A. & El-Hack, M.E.A. (2022). A review of shrimp aquaculture and factors affecting the gut microbiome. *Aquaculture International*, 30, 2847-2869. doi: 10.1007/s10499-022-00936-1

- 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
- Hoseini, S.M., Yousefi, M., Afzali-Kordmahalleh, A., Pagheh, E., & Taheri Mirghaed, A. (2023). Effects of Dietary Lactic Acid Supplementation on the Activity of Digestive and Antioxidant Enzymes, Gene Expressions, and Bacterial Communities in the Intestine of Common Carp, *Cyprinus carpio*. *Animals*, 13, 1934. doi: 10.3390/ani13121934
- Huiwen, L. & Jaffar, N. (2020). Effect of Probiotic *Lactobacillus* Strains on Phagocytic Activity of Murine Macrophage Cells Infected by *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans*. *Asian Journal of Medicine and Biomedicine*, 4(S11), 1-10. doi: 10.37231/ajmb.2020.4.S1.1.393
- Jamal, M.T., Abdulrahman, I.A., Al Harbi, M., & Chithambaran, S. (2019). Probiotics as alternative control measures in shrimp aquaculture: A review. *Journal of Applied Biology and Biotechnology*, 7(03), 69-77. doi: 10.7324/JABB.2019.70313
- Kandikatla, G.A. & Kondamudi, R.B. (2016). Effect of Organic Acids and Probiotics on the Pond Ecosystem in the Culture Ponds of *Litopenaeus vannamei*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 5(6), 314-330
- Kazou, M. (2022). Lactic Acid Bacteria: *Lactococcus lactis*, Editor(s): Paul L.H. McSweeney, John P. McNamara, *Encyclopedia of Dairy Sciences (Third Edition)*, Academic Press, Pages 218-225. doi: 10.1016/B978-0-12-818766-1.00325-1.
- Khanjani, M.H., Mozanzadeh, M.T., Gisbert, E. & Hoseinifar, S.H., (2024). Probiotics, prebiotics, and synbiotics in shrimp aquaculture: Their effects on growth performance, immune responses, and gut microbiome. *Aquaculture Reports*, 38, 102362. doi: 10.1016/j.aqrep.2024.102362.
- KKP (Kementerian Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia), 2024, Laporan Kinerja Kementerian Kelautan dan Perikanan 2023, Kementerian Kelautan dan Perikanan, Jalan Medan Merdeka Timur No. 16 Gambir, Jakarta Pusat, 296 hlm.
- KKP 2024. Portal Data. <https://portaldata.kkp.go.id/#panel-footer-kpda>
- Kongnum, K., & Hongpattarakere, T. (2012). Effect of *Lactobacillus plantarum* isolated from digestive tract of wild shrimp on growth and survival of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) challenged with *Vibrio harveyi*. *Fish & Shellfish Immunology*, 32(1), 170-177. doi: 10.1016/j.fsi.2011.11.008.
- Kurbanova, I., Lauciene, L., Kondrotiene, K., Zakariene, G., Radenkova, V., Kiseliuviene, S., Salaseviciene, A., Vasiliauskaite, A., Malakauskas, M., Musulmanova, M. & Serniene, L., (2024). Physicochemical, Sensory, and Microbiological Analysis of Fermented Drinks Made from White Kidney Bean Extract and Cow's Milk Blends during Refrigerated Storage. *Microorganisms*, 12(9), 1832.
- Lee, J., Kim, S., & Kang, C.H. (2023). Screening and Probiotic Properties of Lactic Acid Bacteria with Potential Immunostimulatory Activity Isolated from Kimchi. *Fermentation*, 9(1), 4. doi: 10.3390/fermentation9010004
- Lin, Y.C., Tayag, C.M., Huang, C.L., Tsui, W.C., Chen, J.C. (2010). White shrimp *Litopenaeus vannamei* that had received the hot-water extract of *Spirulina platensis* showed earlier recovery in immunity and up-regulation of gene expressions after pH stress. *Fish & Shellfish Immunology*, 29(6), 1092-1098. doi: 10.1016/j.fsi.2010.09.002.
- Luo, K., Wang, S., Liu, Y., Qin, G., Xie, Y., Wei, C., Guo, Z., Fan, R., & Tian, X. (2024). Strain-specific responses of *Penaeus vannamei* to two *Enterococcus faecium* strains supplementation: A trade-off between growth and immunity. *Aquaculture*, 585, 740709. doi: 10.1016/j.aquaculture.2024.740709.
- Mirghaed, A.T., Mirzargar, S.S. Ghelichpour, M., Moghaddam, A.A., El-Haroun, E., & Hoseini, S.M. (2023). Effects of dietary lactic acid supplementation on growth performance, hemato-immunological parameters, and calcium and phosphorus status of common carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture Reports*, 29, 101499. doi: 10.1016/j.aqrep.2023.101499
- Partida-Arangure, B.O., Luna-González, A., Fierro-Coronado, J.A., Flores-Miranda, M.C. & González-Ocampo, H.A. (2013). Effect of Inulin and Probiotic Bacteria on Growth, Survival, Immune Response, and Prevalence of White Spot Syndrome Virus (WSSV) in *Litopenaeus vannamei* Cultured Under Laboratory Conditions. *African Journal of Biotechnology*, 12(21), 3366-3375.
- Romano, N., Koh, C., & Ng, W.K. (2015). Dietary Microencapsulated Organic Acids Blend Enhances Growth, Phosphorus Utilization, Immune Response, Hepatopancreatic Integrity and Resistance Against *Vibrio harveyi* in White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 435, 228-236.



- Sánchez-Ortiz & Claudia, A. (2015). Isolation and characterization of potential probiotic bacteria from pustulose ark (*Anadara tuberculosa*) suitable for shrimp farming. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 43(1), 123-136. doi: 10.3856/vol43-issue1-fulltext-11.
- Sandeepa, M.G. & Ammani, K. (2015). Effect of probiotic bacterium on growth and biochemical parameters of shrimp *Litopenaeus vannamei*. *International Journal of Recent Scientific Research*, 6(2), 2871-2875.
- Sivakumar, M., Amirtharaj, K.S.V., & Chrisolite, B. (2022). Dietary organic acids on growth, immune response, hepatopancreatic histopathology and disease resistance in Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei* against *Vibrio harveyi*. *Research Square*, Preprint doi: 10.21203/rs.3.rs-2177311/v1
- Subagiyo, Margino, S., Triyanto, & Widada, S. (2023). Uji Aplikasi *Lactobacillus lactis* sebagai Paraprobiotik pada Budidaya Udang Vanamei (*Litopenaeus vannamei*) : Aspek Pertumbuhan Dan Imunitas. *Jurnal Kelautan Tropis*, 26(3), 579-585. doi: 10.14710/jkt.v26i3.20658
- Suzer, C., Çoban, D., Kamaci, H.O., Saka, S., Firat, K., Otgucuoğlu, O., & Küçüksarı, H. (2008). *Lactobacillus* spp. bacteria as probiotics in gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.) larvae: Effects on growth performance and digestive enzyme activities. *Aquaculture*, 280(1-4), 140-145, doi: 10.1016/j.aquaculture.2008.04.020
- Tamilselvan, M., & Raja, S. (2024). Exploring the role and mechanism of potential probiotics in mitigating the shrimp pathogens. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 31(3), 103938. doi: 10.1016/j.sjbs.2024.103938.
- Toledo, A., Frizzo, L., Signorini, M., Bossier, P., & Arenal, A. (2019). Impact of probiotics on growth performance and shrimp survival: A meta-analysis. *Aquaculture*, 500, 196-205, doi: 10.1016/j.aquaculture.2018.10.018.
- Trobos Aqua. (2024). Agar Tambak Udang Tetap Perkasa di Pancaroba. <http://trobosqua.com/detail-berita/2024/04/15/12/18085/agar-tambak-udang-tetap-perkasa-di-pancaroba>
- Vieira, F.N., Buglione, C.C., Mouriño J.P.L., Jatobá, A., Martins, M.L., Schleder, D.D., Andreatta, E.R., Barraco, M.A., & Vinatea, L.A. (2010). Effect of Probiotic Supplemented Diet on Marine Shrimp Survival after Challenge with *Vibrio harveyi*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 62(3), 631-638.
- Wang, Y.B. (2007). Effect of probiotic on growth performance and digestive enzyme activity of the shrimp *Penaeus vannamei*. *Aquaculture* 269, 259-264. doi: 10.1016/j.aquaculture.2007.05.035
- Wei, C., Luo, K., Wang, M., Li, Y., Pan, M., Xie, Y., Qin, G., Liu, Y., Li, L., Liu, Q. & Tian, X. (2022). Evaluation of potential probiotic properties of a strain of *Lactobacillus plantarum* for shrimp farming: from beneficial functions to safety assessment. *Frontiers in Microbiology*, 13, 854131. doi: 10.3389/fmicb.2022.854131.
- Wu, Y.S., Chu, Y. T., Chen, Y.Y., Chang, F.S., Lee, B.H., & Nan, F.H. (2022). Effects of dietary *Lactobacillus reuteri* and *Pediococcus acidilactici* on the cultured water qualities, the growth and non-specific immune responses of *Penaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology*, 127, 176-186, doi: 10.1016/j.fsi.2022.06.004.