

# Potensi *Hot Water Extract* Rumput Laut *Caulerpa* sp. dan *Sargassum* Sebagai Komponen Immunonutrisi Pada Budidaya Udang Vannamei (*Litopenaeus vanamei*)

Subagiyo\* dan Dyah Ismi Fatichah

Jurusan Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro.  
Jl. Prof. Soedarto, SH. Kampus UNDIP Tembalang, Semarang 50275  
Email :subagiyo\_kelautan@yahoo.co.id

## Abstrak

Immunonutrisi adalah nutrient spesifik yang mampu memodulasi aktivitas sistem imun. Ada tiga target untuk immunonutrisi diantaranya adalah sistem pertahanan seluler. Pada udang sistem pertahanan seluler bertumpu pada aktivitas fagositosis hemosit. Pada penelitian ini dikaji potensi *hot water extract* rumput laut *Caulerpa* sp dan *Sargassum* sp sebagai immunonutrisi pada budidaya udang vanamei berdasarkan jumlah total dan aktivitas fagositosis hemosit udang vanamei. Percobaan telah dilakukan dengan cara memberi makan udang dengan pakan udang yang diperkaya dengan *hot water extract* rumput laut *Caulerpa* sp dan *Sargassum* sp. Ekstrak rumput laut diberikan pada konsentrasi 1 % (10 g/kg pakan). Udang diberi pakan sebanyak 5 % berat badan sehari yang diberikan dalam 3 kali pemberian pakan (pagi siang dan malam). Darah udang (hemolimfe) diambil setiap 4 hari sekali selama 2 minggu. Setiap kali pengambilan darah dilanjutkan dengan penghitungan jumlah total hemosit dan pengukuran aktivitas fagositosis hemosit. Data sekunder mengenai kandungan nutrisi dan komponen fungsional ekstrak *Caulerpa* dan *Sargassum* digunakan untuk mendukung hasil percobaan potensi rumput laut sebagai sumber immunonutrisi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *hot water extract* rumput laut mempunyai potensi untuk dikembangkan sebagai sumber immunonutrisi untuk budidaya udang. Hal ini ditunjukkan oleh percobaan pemberian pakan udang yang diperkaya dengan ekstrak *Caulerpa* sp dan *Sargassum* sp mampu meningkatkan jumlah total dan aktivitas fagositosis hemosit udang vanamei. Data sekunder menunjukkan bahwa *Caulerpa* dan *Sargassum* kaya akan sulphated polysaccharide, asam amino esensial, mineral dan vitamin yang semuanya berperan dalam menstimulasi sistem immunitas.

**Kata kunci** : immunonutrisi, ekstrak rumput laut, sistem pertahanan seluler, udang vanamei

## PENDAHULUAN

Serangan penyakit merupakan masalah utama yang dihadapi oleh para pembudidaya perikanan. Salah satu komponen pada konsep terjadinya penyakit, triangle diseases, adalah faktor hewan budidaya. Karakteristik hewan budidaya yang penting dalam terjadinya penyakit adalah status daya tahan terhadap penyakit, yang dapat dipengaruhi oleh jenis nutrisi yang dikonsumsi. Potensi untuk memodulasi aktivitas sistem imun melalui intervensi nutrisi spesifik disebut sebagai immunonutrisi. Konsep ini diterapkan pada situasi perubahan suplai nutrisi

untuk memodifikasi respon imun atau inflamasi. Ada tiga target potensial immunonutrisi yaitu : fungsi barrier mukosal, pertahanan seluler dan inflamasi lokal atau sistemik. Nutrient yang paling sering dikaji untuk immunonutrisi adalah arginine, glutamine, asam amino bercabang, n-3 fatty acids, dan nucleotides (Calder, 2003).  $\omega$ -3 PUFAs, minerals (seperti Zn dan Se) serta bermacam-cama senyawa yang bersifat antioksidatif (Wichers, 2009). Selama ini immunonutrisi diterapkan pada bidang klinis yaitu pada pasien yang mengalami sakit yang kritis atau pasien bedah dengan tujuan to fortify hampered immune function Application routes can be either parenteral or enteral; the optimal

route may depend on patient and disease characteristics. (Wichers, 2009).

Rumput laut merupakan sumberdaya laut yang potensial sebagai sumber fitokimia yang mempunyai aktifitas biologi yang bermanfaat bagi kesehatan, seperti carotenoids, phycobilins, fatty acids, polysaccharides, vitamins, sterols, tocopherol dan phycocyanins dan juga peptida bioaktif dengan fungsi biologis seperti antihypertension, immunomodulatory, antithrombotic, antioxidant, anticancer dan antimicrobial activities. Sampai saat ini sejumlah oligosakarida dengan aktivitas immunostimulant, antioksidan dan antitumor telah dikarakterisasi.

Salah satu karakteristik nutritif rumput laut adalah kandungan antioksidan yang tinggi (Lordan *et al*, 2011) Lebih jauh potensi rumput laut sebagai sumber bahan aktif telah direview oleh Lee (2008) dan Lordan *et al* (2011). Pada kajian potensi rumput laut sebagai sumber immunonutrisi pada budidaya perikanan dilakukan berdasarkan hasil penelitian menggunakan rumput laut *Sargassum* sp dan *Caulerpa* sp serta berdasarkan hasil-hasil penelitian yang serupa yang telah dipublikasikan di jurnal ilmiah.

## MATERI DAN METODE

Penelitian ini telah dilakukan di Balai Budidaya Air Payau Situbondo dengan metode eksperimental. Rumput laut *Caulerpa* sp diperoleh dari perairan pantai Teluk Awur, Jepara dan *Sargassum* sp diperoleh dari perairan Pantai Rembang. Sedangkan udang Vanamei diperoleh dari tambak komersial di daerah Situbondo, Jawa Timur.

### Ekstraksi rumput laut

Rumput laut diekstraksi dengan teknik *hot water extraction*. Sebanyak 3 kg rumput laut dimasukkan ke dalam 2 liter pelarut (akuades) kemudian dipanaskan hingga mendidih. Filtrasi dilakukan untuk memisahkan ampas (padatan yang

tersisa). Filtrat yang diperoleh selanjutnya dilakukan evaporasi pelarut menggunakan rotavapor. Ekstrak yang diperoleh dalam bentuk pasta selanjutnya di kering bekukan dan dihancurkan hingga menjadi serbuk.

### Suplementasi Ekstrak Rumput Laut pada Pakan Udang

Ekstrak *Caulerpa* sp dan *Sargassum* sp. ditambahkan kedalam pakan buatan komersial udang (produksi Bintang) dengan dosis 1% (w/w). Prosedur suplementasi dilakukan sesuai dengan prosedur yang dikerjakan di laboratorium pakan buatan BBAP Situbondo.

### Eksperimen

Percobaan untuk mengetahui potensi rumput laut sebagai immunonutrisi dilakukan dalam 3 tahap kegiatan yaitu aklimasi udang, percobaan pemberian pakan yang telah disuplementasi dengan ekstrak rumput laut, dan pengukuran parameter imunologi berdasarkan gambaran hematologi (jumlah total hemosit dan aktivitas fagositosis).

### Aklimatisasi udang

Udang vannamei dengan berat  $\pm$  10 gram dipelihara dalam bak semen besar yang dilengkapi sistem aerasi dan sirkulasi air. Aklimatisasi dilakukan selama 15 hari. Selama proses aklimatisasi dilakukan pemberian pakan menggunakan pelet komersial.

### Percobaan

Udang yang telah diaklimatisasi selanjutnya dibagi secara random ke dalam akuarium percobaan (ukuran 60x30x 40cm ) dengan kepadatan 14 ekor per akuarium. Akuarium di set dengan aerasi (menggunakan 1 batu aerasi) dan sistem *flow through* dengan teknik pipa goyang (hasil rekayasa BBAP-Situbondo). Selama percobaan udang diberi pakan dengan pakan yang telah disuplementasi dengan ekstrak rumput laut. Pakan diberikan sebanyak 5 % berat badan udang dalam 3 kali pemberian yaitu pagi, siang dan malam.

## Analisis sistem pertahanan (imun) udang

1. Pengambilan hemolimfe  
Hemolimfe udang sebanyak 0,3 ml diambil menggunakan spuit 1 mL yang telah dibasahi dengan antikoagulan (EDTA 10%). Pengambilan hemolimfe dilakukan pada bagian thorax antara kaki jalan dan kaki renang. Selanjutnya sampel hemolimfe ditampung dalam mikrotube yang bagian dalamnya telah dibasahi larutan antikoagulan.
2. Penghitungan Total Haemosit  
Penghitungan total hemosit dilakukan menggunakan *Neubauer Counting Chamber* dan mikroskop dengan perbesaran 400X. Jumlah total hematosit dapat diketahui dengan rumus:  
$$\Sigma \text{ total hemosit} = (\Sigma \text{ sel yang dihitung} \times 4) \times 10^4$$
3. Penghitungan Aktivitas Fagositosis  
Hemolimfe sebanyak 100  $\mu$ l dari mikrotube dicampur dengan 100  $\mu$ l bakteri *Vibrio alginolyticus* yang telah dimatikan dengan formalin kemudian diinkubasi selama 20 menit. Sampel sebanyak 5  $\mu$ l ditetaskan di atas objek glass dan dibuat preparat apusan selanjutnya difiksasi dengan ethanol 95 %, dan dilakukan pewarnaan dengan Safranin 0.15 %. Pengamatan dilakukan terhadap 100 sel menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran 400X. Selanjutnya dihitung jumlah sel dengan aktifitas fagositosis dan sel yang tidak beraktifitas fagositosis, dihitung pula jumlah sel *V. alginolyticus* yang difagositosis tiap sel. Aktifitas Fagositosis (AF) dihitung dengan rumus:

$$AF(\%) = \left( \frac{\Sigma \text{ fagosit yang aktif}}{\Sigma \text{ fagosit yang diamati}} \right) \times 100\%$$

$$IP = \frac{\Sigma V. alginolyticus \text{ yang difagosit}}{\Sigma \text{ sel fagosit yang diamati}}$$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Respon imunologis udang vanamei (jumlah total hemosit dan aktivitas fagositosis) terhadap aplikasi ekstrak rumput laut ditunjukkan Tabel 1.

Berdasarkan hasil penelitian (Tabel 1) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak rumput laut berpengaruh terhadap parameter hematologi udang vanamei. Perlakuan pemberian ekstrak *Caulerpa* sp menyebabkan peningkatan jumlah total hemosit. Pada kondisi penelitian ini terjadi peningkatan jumlah total hemosit pada pengamatan minggu ke 2 aplikasi, sedangkan pada perlakuan pemberian ekstrak *Sargassum* sp terjadi pada pengamatan minggu ke 3. Pemberian ekstrak *Caulerpa* sp dan *Sargassum* sp juga meningkatkan aktivitas fagositosis.

Pada kondisi penelitian ini peningkatan terjadi pada pengamatan minggu I. Jumlah total hemosit dan aktivitas fagositosis merupakan dua diantara parameter hematologi yang merupakan indikator sistem pertahanan tubuh seluler. Beberapa penelitian lain juga menunjukkan hasil yang serupa bahwa aplikasi rumput laut baik dalam bentuk tepung, ekstrak, maupun senyawa tertentu yang merupakan komponen utama rumput laut menyebabkan peningkatan parameter imun udang (Tabel 2). Hal ini menunjukkan bahwa *hot water extract* rumput laut *Sargassum* dan *Caulerpa* mengandung senyawa nutritif yang meningkatkan status imun udang yang ditunjukkan baik oleh peningkatan jumlah total hemosit maupun aktivitas fagositosis hemosit udang.

Menurut Wicher (2007) diet dan nutrisi dapat mempengaruhi fungsinya bermacam-macam parameter imun. Komponen immunonutrisi diantaranya meliputi asam amino spesifik (biasanya glutamin dan arginin), nukleotida, PUFA  $\omega$ -3, mineral (seperti Zn dan Se) serta bermacam-macam senyawa antioksidan. Penelitian yang lain terkait dengan penggunaan rumput laut untuk meningkatkan status imun udang juga ditunjukkan oleh banyak peneliti (Tabel 1)



**Tabel 1.** Hasil penghitungan parameter hematologi udang vannamei

| Parameter Hematologi                        | Perlakuan |          |           |                     |          |           |                      |          |           |
|---|-----------|----------|-----------|---------------------|----------|-----------|----------------------|----------|-----------|
|   | Kontrol   |          |           | <i>Caulerpa sp.</i> |          |           | <i>Sargassum sp.</i> |          |           |
|   | Hari ke4  | Hari ke8 | Hari ke12 | Hari ke4            | Hari ke8 | Hari ke12 | Hari ke4             | Hari ke8 | Hari ke12 |
| Total Haemosit (sel/l) (x 10 <sup>7</sup> ) | 2,43      | 0,568    | 1,62      | 0,63                | 4,69     | 1,18      | 0,57                 | 1,298    | 4,63      |
|   | ± 1,21    | ± 0,28   | ± 1,28    | ± 0,37              | ± 4,69   | ± 1,18    | ± 0,05               | ± 1,3    | ± 3,92    |
| Fagositosis                                 |           |          |           |                     |          |           |                      |          |           |
| PI  | 5,39      | 2,55     | 5,51      | 1,4                 | 6,09     | 5,75      | 1,63                 | 5,15     | 7,49      |
|   | ± 2,81    | ± 1,53   | ± 0,61    | ± 0,19              | ± 2,03   | ± 0,18    | ± 0,40               | ± 0,35   | ± 0,68    |
| PA (%)                                      | 22,31     | 44,80    | 19,86     | 73,95               | 20,82    | 20,03     | 64,33                | 23,27    | 13,57     |
|   | ± 10,9    | ± 33,83  | ± 2,38    | ± 8,05              | ± 10,5   | ± 0,66    | ± 16,16              | ± 3,15   | ± 1,12    |

Keterangan: - nilai adalah rata – rata ± standar deviasi (n=3).

Respon imunologis merupakan suatu proses yang kompleks yang merupakan interaksi dari berbagai proses fisiologi yang lain. Menurut Satyaraj (2011) Nutrisi dan sistem imun berinteraksi pada berbagai tingkatan, yang secara sederhana dapat dibedakan menjadi 4 tingkatan. Tingkat I dan II merupakan interaksi yang bersifat pasif sedangkan tingkat III dan IV merupakan interaksi yang terjadi melalui modifikasi respon imun menggunakan agensia seperti IRMs yang memiliki target utama reseptor PAMP. Pada tingkat I berfokus pada energi makanan, protein, vitamin (A,C dan E) dan mineral seperti Zn, Mg, Fe, dan lain-lain. Mineral Ca dan Mg berperan pada mekanisme *signaling* pada sistem imun sehingga penting untuk meningkatkan respon imun.

Pada tingkat II meliputi pengoptimalan nutrisi kunci (baik makro maupun mikronutrien yang penting bagi sel-sel imun. Sistem imun membutuhkan nutrisi tertentu dan penyediaan dalam jumlah yang lebih besar akan mengoptimalkan fungsi imun. Defisiensi nutrisi kunci ini berakibat negatif pada sistem imun. Protein pada level dan kualitas yang lebih tinggi dalam diet diperlukan untuk sistem imun. Pada tingkat molekular protein merupakan komponen struktural dan memediasi proses kunci sistem imun.

Reseptor, Ig, komponen komplemen dan protein bakterisidal semuanya adalah protein. Pada tingkat III adalah modulasi aktif sistem imun. Pada tingkat ini menekankan pada interaksi dengan sistem imun untuk memodulasi fungsinya. Pada tingkat IV adalah nutrisi personal. Interaksi antara diet, lingkungan dan genom menentukan status kesehatan dan mempengaruhi penyakit kronis. Beberapa hasil penelitian yang merujuk pada *Sargassum* dan *Caulerpa* sebagai sumber nutrisi yang mampu membangkitkan sistem imun ditunjukkan oleh penelitian Handayani, *et al.* (2004) mengenai komposisi nutrisi rumput laut *S. crassifolium*, Ratana-arporn & Chirapar (2006) mengenai komposisi nutrisi rumput laut *C. Lentillifera*, Abou-El-Wafa, *et al.* (2011) mengenai profil asam amino *S. subrepandum* dan Valerie *et al.*, 1999 dalam Ratana-arporn & Chirapar (2006) mengenai profil asam amino *C. Lentillifera*, Costa, *et al.*, 2011, mengenai aktivitas antioksidan ekstrak *S. crassifolia* dan Rodrigues *et al.* (2013) mengenai aktivitas antioksidan ekstrak *C. taxifolia*

### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan kajian pustaka (hasil penelitian serupa) menunjukkan bahwa rumput laut sangat potensial untuk dikembangkan sebagai

**Tabel 2.** Hasil-hasil penelitian efek pemberian rumput laut terhadap sistem pertahanan non spesifik udang

| Jenis komponen rumput laut   | Efek pada sistem pertahanan   | Referensi  |
|--|---|--|
| Asam alginat   | Pada ikan karper ( <i>Cyprinus carpio</i> L.), sodium alginate meningkatkan aktivitas fagositosis   | Fujiki and Yano, (1997)<br>cit. Ahmadifan, et al, (2009) |
| Asam alginat   | Pada Snakehead ( <i>Channa striata</i> ) injeksi asam alginat meningkatkan jumlah neutrofil, tingkat fagositosis, dan respiratory burst activity  | Peddie et al, (2002)<br>cit. Ahmadifan, et al, (2009)    |
| crude fucoidan (CF)<br><i>Sargassum polycystum</i>                             | Menurunkan dampak infeksi White Spot Syndrome virus (WSSV) pada <i>Penaeus monodon</i> , crude fucoidan menghambat pertumbuhan <i>Vibrio harveyi</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i> dengan minimal inhibition concentrations (MIC) sebesar 12.0, 12.0 dan 6.0 mg/ml.  | Chotigeat, et al, 2004                                   |
| Ekstrak butanol <i>Ulva lactuca</i> (T5) dan <i>Sargassum wightii</i> (T6).    | Meningkatkan survival rate (43.32–58.88%) , laju pertumbuhan spesifik (1.46–2.15%) dan menurunkan beban <i>V. parahaemolyticus</i> load (1.36–2.03 dan 1.47–2.16×10 <sup>5</sup> CFU g <sup>-1</sup> berturut-turut pada jaringan otot dan hepatopancreas tissues)  | Immanuel, et al, 2004                                    |
| Ekstrak polisakarida <i>Sargassum fusiforme</i>                                | Total hemosit count meningkat seiring dengan meningkatnya dosis SFPSE . Konsentrasi protein dan aktivitas PO pada hemolimfe udang pada awalnya meningkat kemudian menurun seiring dengan meningkatnya dosis SFPSE . AKtivitas SOD tidak terpengaruh secara nyata oleh aplikasi SFPSE  | Huang , et al, 2006                                      |
| hot-water extract brown seaweed <i>Sargassum duplicatum</i>                    | Meningkatkan total haemocyte count (THC), phenoloxidase activity, respiratory burst , aktivitas fagositosis   | Yeh, et al, 2006   |
| Powder dan hot-water extract <i>Sargassum hemiphyllum</i> var. <i>chinense</i> | Meningkatkan jumlah total hemosit, aktivitas PO, respiratory burst, dan aktivitas lysozyme udang <i>vannamei</i> setelah diperlakukan dengan perendaman dalam air laut yang mengandung serbuk atau ekstrak rumput laut.   | Huynh, et al, 2011                                       |
| <i>Ulva lactuca</i> dan <i>Spyridia filamentosa</i>                            | Menurunkan total hemocyte counts (THC), tidak ada efek yang diamati phagocytosis, phenoloxidase pada abalone hemolymph  | Dang, et al, 2011  |
| hot-water extract <i>Sargassum glaucescens</i>                                 | Meningkatkan total haemocyte count (THC), differential haemocyte count (DHC), total plasma protein (TPP), Phagocytic activity (PA), bacterial clearance efficiency (BCE) dan bactericidal activity (BE) pada <i>F. indicus</i> yang direndam dalam air laut yang mengandung hot-water extracts <i>Sargassum glaucescens</i> at 100, 300 and 500 mg/l. | Ghaednia, et al, 2011                                    |
| Fucoidan dari <i>Sargassum wightii</i>   | Meningkatkan THC, aktivitas prophenoloxidase , aktivitas respiratory burst , aktivitas superoxide dismutase dan aktivitas fagositosis pada udang windu ( <i>Penaeus monodon</i> )   | Immanuel, et al, 2012                                    |

komponen immunonutrisi khususnya dalam mendukung strategi pengendalian penyakit secara terpadu berbasis peningkatan status sistem pertahanan seluler pada budidaya udang.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Ahmadifar, E., Gh. A. Takami, M. Sudagar, 2009, Growth Performance, Survival and Immunostimulation, of Beluga (*Huso huso*) Juvenile Following Dietary Administration of Alginic Acid (Ergosan), *Pakistan Journal of Nutrition*, 8 : 227-232
- Al-Amoudi , O. A., H. H. Mutawie, A.V. Patel , G. Blunden , 2009, Chemical composition and antioxidant activities of Jeddah corniche algae Saudi Arabia, *Saudi Journal of Biological Sciences* 16, 23–29
- Amna, T., J. Ara, V. Sultana, S. E. Ehteshamul-Haque, M. Athar, 2011, Antioxidant potential of seaweeds occuring at Karachi coast of pakistan, *J. of Applied Botany and food Quality* 84: 207-212.
- Calder, P. C., 2003, Immunonutrition, *BMJ* 327:117-118
- Costa, L. S. , G. P. Fidelis ., C. B. S. Telles , N. Dantas-Santos , R. B. G. Camara, S. L. Cordeiro ., M. S. S. P. Costa , J. Almeida-Lima, R. F. Melo-Silveira, R. M. Oliveira , I. R. L. Albuquerque , G. P.V. Andrade and H. A.O. Rocha , 2011, Antioxidant and Antiproliferative Activities of Heterofucans from the Seaweed *Sargassum filipendula* , *Mar. Drugs* , 9, 952-966
- Ghada S. E. Abou-El-Wafaa, Khaled A. Shaabanb, Mohamed E. E. El-Naggara, Mohamed Shaaban, 2011, Bioactive constituents and Biochemical Composition of the Egiptian Brown Algae *Sargassum subrepandum* (Forsk), *Rev. Latinoamer. Quím.* 39 :62-74
- Ghaednia B., M. R. Mehrabi, M. Mirbakhsh, V. Yeganeh, P. Hoseinkhezri, G. Garibi, G. Jabbari A, 2011, Effect of hot-water extract of brown seaweed *Sargassum glaucescens* via immersion route on immune responses of *Fenneropenaeus indicus*, *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 10: 616-630
- Handayani, T., Sutarno, A.D. Setyawan, 2004, Analisis Komposisi Nutrisi Rumput Laut *Sargassum crassifolium* J. Agardh., *Biofarmasi* 2 (2): 45-52
- Lee, B., 2008, Seaweed: Potential as a marine vegetable and other opportunities, *Rural Industries Research and Development Corporation*. GyMEA Australia.
- Lordan, S., R. P. Ross and C. Stanton, 2011, Marine Bioactives as Functional Food Ingredients: Potential to Reduce the Incidence of Chronic Diseases , *Mar. Drugs* 9 :1056-1100
- Ratana-arporn, P., A. Chirapart, 2006, Nutritional Evaluation of Tropical Green Seaweeds *Caulerpa lentillifera* and *Ulva reticulata*, *Kasetsart J. (Nat. Sci.)* 40: 75 - 83
- Redmond, H.P., P. P. Stapleton, P. Neary, D. Bouhier-Hayes, 1998, Immunonutrition: The Role of Taurine, *Nutrition* 14 : 7/8,
- Robledo, D., Y.F. Pelegrin, 1997, Chemical and Mineral Composition of Six Edible Seaweed Species of Yucatan, *Botanica Marina* 40: 301-306
- Rodrigues, J.A.G., E.S.O. Vanderlei, A. L.G.Quinderé, V. S. Monteiro, S. M. M. Vasconcelos, N. M. B. Benevides, 2013, Antinociceptive activity and acute toxicological study of a novel sulfated polysaccharide from from *Caulerpa cupressoides* var. *Lycopodium* (Chlorophyta) in Swiss mice, *Acta Scientiarum. Technology Maringá*, 35:417-425.
- Satyaraj, E, 2011, Emerging Paradigms in Immunonutrition, *Topics in Companion Animal Medicine* 26:25-32
- Tariq, A., J.A. Sultana, S.Ehteshamul-Haque, M. Athar, 2011, Antioxidant potential of seaweed occuring at Karachi coast of Pakistan, *Journal of applied Botany and Food Quality* 84:207-212
- Vanderhoof, J. A., 1998, Immunonutrition: The Role of Carbohydrates, *Nutrition* 14 : 7/8
- Wichers, H, 2009, Immunomodulation by food: promising concept for mitigating allergic disease, *Anal Bioanal Chem* 395:37–45