

DOI: <http://dx.doi.org/10.15578/psnp.15308>

Uji *In Vitro* Fungi yang Berpotensi sebagai Kandidat Probiotik dari Organ Tubuh Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*) terhadap Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*

In Vitro Test of Potential Fungi as Probiotic Candidates from Vannamei Shrimp (Litopenaeus vannamei) Body Organs against Vibrio parahaemolyticus Bacteria

Citra Hayuningtiyas¹, Maria Agustina Pardede^{1,2*}, Mohammad Faizal Ulkhaq^{1,2}, Rahayu Kusdarwati³, Wahyu Tjahjaningsih³, Arif Habib Fasya^{1,2}, Darmawan Setia Budi^{1,2}

¹Program Studi Akuakultur, Fakultas Ilmu Kesehatan, Kedokteran dan Ilmu Alam, Universitas Airlangga, Banyuwangi

²Sustainable Aquaculture and Environment Research Group Airlangga University

³Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Airlangga, Surabaya

*E-mail: mariapardede@sikia.unair.ac.id

ABSTRAK

Udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) merupakan komoditas penting yang paling banyak dibudidayakan, namun telah mengalami kemunduran yang signifikan sebagai akibat penyakit Vibriosis yang disebabkan oleh *Vibrio parahaemolyticus*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisa potensi dan menentukan spesies fungi yang berpotensi sebagai kandidat probiotik yang diisolasi dari organ tubuh udang vanname untuk mencegah penyakit vibriosis secara *in vitro*. Pengambilan sampel dilakukan secara langsung, lalu diisolasi dan dilakukan uji fisiologis (pH dan salinitas). Hasil dari penelitian menunjukkan bahwa fungi yang diisolasi dari organ tubuh udang vannamei memiliki adanya pertumbuhan setelah dikultur dalam media dengan karakteristik pH dan salinitas yang berbeda diantaranya secara *in vitro* antara lain *Curvularia lunata*, *Curvularia protuberata*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* dan *Saccharomyces* spp.

Kata Kunci: Fungi, *Litopenaeus vannamei*, Probiotik, *Vibrio parahaemolyticus*.

Abstract

Whiteleg shrimp (Litopenaeus vannamei) is an important commodity that is most widely cultivated, but has experienced a significant decline due to Vibriosis disease caused by Vibrio parahaemolyticus. The purpose of this study was to analyze the potential and determine the species of fungi that have the potential as probiotic candidates isolated from the organs of whiteleg shrimp to prevent vibriosis disease in vitro. Sampling was carried out directly, then isolated and physiological tests were carried out (pH and salinity). The results of the study showed that fungi isolated from the organs of whiteleg shrimp had growth after being cultured in media with different pH and salinity characteristics, including in vitro Curvularia lunata, Curvularia protuberata, Aspergillus flavus, Aspergillus fumigatus and Saccharomyces spp.

Keywords : Fungi, Litopenaeus vannamei, Probiotics, Vibrio parahaemolyticus

Pendahuluan

Udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) merupakan salah satu spesies udang yang paling banyak dibudidayakan secara global, khususnya di Asia. Hal ini disebabkan oleh tingginya permintaan konsumen, kemudahan dalam budidaya, tingkat pertumbuhan yang cepat, serta nilai ekonomi dan ekspor yang signifikan (Zhang et al., 2014). Secara global, produksi *L. vannamei* menunjukkan tren peningkatan yang berkelanjutan, yaitu naik sebesar 87,9% dari sekitar 2,64 juta ton pada tahun 2010 menjadi 4,96 juta ton pada tahun 2018 (FAO, 2020). Salah satu tantangan utama dalam budidaya udang adalah serangan penyakit epidemik, khususnya yang disebabkan oleh *Vibrio* spp. (Zheng dan Wang, 2017). Wabah vibriosis telah menyebabkan kerugian ekonomi yang besar pada budidaya *L. vannamei* (Zhang et al., 2012), dengan *Vibrio parahaemolyticus* menjadi patogen utama yang menyebabkan kematian massal akibat penyakit Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND) (Joshi et al., 2014).

Pengendalian infeksi bakteri pada budidaya udang secara tradisional bergantung pada bahan kimia sintesis dan antibiotik (Lightner et al., 2014). Meskipun efektif, penggunaan antibiotik dapat menimbulkan masalah serius, seperti residu antibiotik pada produk udang dan munculnya strain bakteri yang resisten terhadap antibiotik, khususnya pada *Vibrio* spp. (Thitamadee et al., 2016). Probiotik juga dapat meningkatkan kesehatan inang melalui modulasi fisiologi atau imunitas (Dawood et al., 2016). Beberapa produk bioaktif yang dihasilkan probiotik memiliki aktivitas bakterisida terhadap patogen dan mencegah proliferasi patogen oportunistik dalam inang (Cruz et al., 2012). Sebagian besar probiotik yang digunakan dalam akuakultur berasal dari bakteri

asam laktat, bakteri fotosintetik, jamur, bakteriofag, atau mikroalga (Lauzon et al., 2008).

Jamur, yang merupakan bagian dari mikrobiota normal dalam organisme dan sedimen budidaya udang, memiliki potensi sebagai kandidat probiotik karena kandungan nutrisinya yang kaya dan sifat fungsionalnya. Beberapa produk ekstraseluler yang dihasilkan oleh jamur, seperti β -glukan dan nukleotida dari *Kluyveromyces fragilis* dan *Saccharomyces cerevisiae*, telah digunakan untuk merangsang respons imun pada *L. vannamei* dan *Penaeus monodon* terhadap infeksi *V. alginolyticus* dan *V. parahaemolyticus* (Felix et al., 2008). Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengkaji potensi probiotik dari jamur yang diisolasi dari organ *L. vannamei* dan diuji fisiologis (uji pH dan salinitas) untuk mengetahui kemampuan hidupnya pada lingkungan yang berbeda

Materi dan Metode

Pengamatan kemampuan adaptasi fungi dibagi menjadi dua uji yaitu uji pH dan uji salinitas pada tingkatan yang berbeda. Kemampuan adaptasi ditandai dengan pertumbuhan fungi pada media uji fisiologis.

Uji Salinitas

Uji salinitas bertujuan untuk mengetahui karakteristik fisiologis dan kemampuan fungi kandidat probiotik dalam beradaptasi pada salinitas tertentu (Hakim dan Kurniatuhadi, 2020). Uji ini dilakukan dengan menggunakan media PDB (*Potato Dextrose Broth*) yang ditambah NaCl dengan konsentrasi yaitu 10 ppt, 25 ppt, dan 40 ppt. Satu ose isolat jamur dari media PDA (*Potato Dextrose Agar*) dipindahkan ke dalam tabung reaksi berisi 10 ml media PDB (*Potato Dextrose Broth*) kemudian dihomogenkan. Selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari. Hasil uji salinitas dilakukan dengan mengukur pertumbuhan jamur pada hari ke-7 dengan kertas saring, yaitu dengan mengurangi massa akhir miselia dengan massa awal miselia.

Uji pH

Uji pH bertujuan untuk mengetahui karakteristik fisiologis dan kemampuan fungi kandidat probiotik dalam beradaptasi pada pH tertentu. (Hakim & Kurniatuhadi, 2020). Satu ose isolat jamur dari media PDA dipindahkan ke dalam tabung reaksi berisi 10 ml media PDB yang telah dimodifikasi pH-nya. pH media dimodifikasi dengan menambahkan 1 M HCl atau 1 M NaOH untuk menyesuaikan media pada pH yang diinginkan yaitu 4 (asam), 7 (netral), dan 9 (basa). Selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari (Cao, 2007). Hasil uji pH dilakukan dengan mengukur pertumbuhan jamur pada hari ke-7 dengan kertas saring, yaitu dengan mengurangi massa akhir miselia dengan massa awal miselia.

Hasil dan Pembahasan

Uji fisiologis yang dilakukan meliputi uji salinitas dan uji pH. Hasil positif (Tabel 1) menandakan adanya pertumbuhan fungi setelah dikultur dalam media dengan karakteristik masing-masing.

Berdasarkan uji fisiologis yang telah dilakukan, diketahui bahwasanya semua isolat fungi menunjukkan adanya pertumbuhan setelah dikultur dalam media dengan karakteristik pH dan salinitas yang berbeda. Hal ini menandakan kemampuan fungi untuk bertahan dan beradaptasi pada lingkungan dengan pH dan salinitas tertentu. Menurut Agosta *and* Klemens (2008), fungi mampu berkolonisasi dan bertahan di lingkungan baru, memanfaatkan sumber daya baru, serta membentuk asosiasi baru. Proses ini dikenal sebagai penyesuaian ekologis. Menurut Selbmann *et al.* (2011), fungi tidak hanya mentolerir lingkungan yang ekstrem, namun secara aktif bereproduksi dengan mengadopsi mekanisme yang berbeda.

Fungi telah mengembangkan spektrum adaptasi untuk mengatasi perubahan pH dan salinitas. Mekanisme adaptasi fungi pada lingkungan asam dan basa diantaranya dengan adaptasi membran dan sistem transpor ion (Konings *et al.*, 2002; Hesse *et al.*, 2002; Plemenitaš dan Nina, 2005). Adaptasi membran merupakan mekanisme utama untuk mempertahankan homeostasis pH (Konings *et al.* 2002). Selain itu, adaptasi membran berfungsi mempertahankan fluiditas membran plasma yang tinggi pada kisaran salinitas yang luas, hal ini penting untuk fungsi normal sel (Hazel dan Williams, 1990).

Tabel 1. Hasil uji fisiologis isolat fungi *marine fungi* dari tubuh udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*)

Asal	Nama spesies	Uji Salinitas			Uji pH		
		10 ppt	25 ppt	40 ppt	4	7	9
Petak 1 (terinfeksi vibriosis)	<i>Fusarium equiseti</i>	++	++	+++	++	++	+++
	<i>Aspergillus fumigatus</i> 1	++	+++	+++	++	++	++
	<i>Curvularia lunata</i>	+	++	++	+	+	++
	<i>Aspergillus fumigatus</i> 2	++	+++	+++	++	++	++
	<i>Aspergillus parasiticus</i> 1	+	+++	+++	++	++	++
	<i>Aspergillus parasiticus</i> 1	++	+++	++	++	++	++
	<i>Aspergillus flavus</i> 1	++	+++	+++	+++	++	++
	<i>Aspergillus fumigatus</i> 3	+++	++	+++	+++	++	+++
	<i>Saccharomyces</i> sp. IH1	+	++	++	++	+	++
Petak 3 (tidak terinfeksi vibriosis)	<i>Curvularia protuberata</i>	++	++	++	++	++	++
	<i>Fusarium oxysporum</i>	++	+++	+++	++	++	+++
	<i>Aspergillus flavus</i> 2	++	+++	+++	++	+++	++
	<i>Saccharomyces</i> sp. RH1	++	++	+	++	++	++
Petak 8 (recovery)	<i>Saccharomyces</i> sp. HP11	+	++	++	++	+	+
	<i>Saccharomyces</i> sp. HPr1	++	+++	+++	+	++	++
	<i>Saccharomyces</i> sp. HH1	++	+++	+++	++	++	++
	<i>Saccharomyces</i> sp. HI1	+	++	++	+	+	++

Keterangan:

+ : pertumbuhan rendah

++ : pertumbuhan sedang

+++ : pertumbuhan tinggi

Fungi asidofil mempertahankan homeostatis pH dengan transporter kation, H^+ transport ATPase dan simporter untuk mencegah masuknya proton dan memompa kelebihan proton keluar dari sel (Ou *et al.*, 2021). Fungi alkalifil memiliki transportasi ion yang bekerja melalui pertukaran proton dengan ion natrium atau kalium di luar sel. H^+ masuk melalui antiporter Na^+/H^+ (Horikoshi 1999). Fungi pada lingkungan salinitas tinggi mengatur tekanan osmotik (kehilangan air dari sel dan akumulasi zat terlarut dalam sitosol) dan ionik (peningkatan kadar Na^+) sebagai respons terhadap salinitas yang tinggi (Gunde-Cimerman *et al.*, 2018).

Parameter kualitas air merupakan parameter penunjang yang diukur pada kolam udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*). Kualitas Air yang diamati antara lain suhu, kecerahan, pH, salinitas, DO, nitrit, nitrat, fosfat, dan amonia. Kualitas air diukur pada saat pengambilan sampel udang. Adapun secara rinci hasil pengukuran kualitas air dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Parameter kualitas air pada petak udang vannamei

Parameter	Petak 1 (Terinfeksi vibriosis)	Petak 3 (Tidak terinfeksi vibriosis)	Petak 8 (<i>recovery</i>)
Suhu (°C)	29	29	29
Kecerahan (cm)	32	34	32
pH	7.8	7.91	7.74
Salinitas (ppt)	28	27	29
DO (mg/l)	4.0	6.0	4.0
Nitrit (mg/l)	0.0	0.0	0.0
Nitrat (mg/l)	0.0	0.0	10
Fosfat (mg/l)	0.5	0.5	2.0
Amonia (mg/l)	0.0	0.0	0.0

Berdasarkan pengamatan setiap kolam pengamatan menunjukkan suhu 29°C. Fungi dapat tumbuh pada rentang suhu yang luas, yaitu (-6) °C-50°C (*eurythermal*) (Ijong, 2015). Salinitas kolam pengamatan berada pada kisaran 18-29 ppt. Kadar salinitas suatu perairan turut mempengaruhi pertumbuhan suatu jenis fungi (Megawati 2017). Nilai pH yang diperoleh pada semua kolam pengamatan yakni 7.74-7.91. Konsentrasi pH mempengaruhi tingkat kesuburan perairan karena mempengaruhi kehidupan jasad renik (Chakravarty *et al.*, 2016). Umumnya jamur dapat hidup pada rentang pH 2.2-9.6 (Megawati, 2017).

Kolam 1 dan kolam 8 memiliki kecerahan 32 cm dengan kelarutan oksigen 4.0 mg/l, sedangkan pada kolam 3 memiliki kecerahan 34 dengan kelarutan oksigen 6.0 mg/l. Kecerahan air pada tambak udang vannamei sangat tergantung kepada kelimpahan fitoplankton, zooplankton dan bahan partikel yang terlarut. Kecerahan yang rendah dapat menyebabkan penurunan kelarutan oksigen di dalam tambak (Boyd, 1991). Keberadaan oksigen pada lingkungan merupakan salah satu hal yang penting untuk pertumbuhan fungi dalam proses respirasi namun ada jenis jamur yang bisa hidup tanpa adanya oksigen (Ijong, 2015).

Berdasarkan pengamatan kualitas air setiap kolam menunjukkan kadar amonia sebesar 0 mg/l, nitrit sebesar 0 mg/l dan nitrat sebesar 0-10 mg/l. Amonia pada perairan tambak bersumber dari ekskresi ikan/udang baik dari urin atau fecesnya (Nuryoto dkk., 2020). Nitrit dapat dimanfaatkan oleh jamur pada proses pertumbuhannya, maka bila konsentrasi nitrit melebihi ambang batas akan menyebabkan pertumbuhan jamur semakin meningkat. Keberadaan nitrit pada perairan tidak stabil, hal ini karena nitrit dipengaruhi oleh oksigen. Bila ketersediaan oksigen dalam perairan mencukupi, maka nitrit akan segera diubah oleh mikroorganisme nitrifikasi menjadi nitrat (Zhu *et al.*, 2015). Berdasarkan pengamatan kualitas perairan menunjukkan kadar fosfat sebesar 0.5-2 mg/l. Jamur dan udang membutuhkan senyawa fosfat selama pertumbuhannya. Namun bila kadar fosfat pada lingkungan melebihi ambang batas bisa mengganggu keseimbangan ekologi mikroorganisme (Raharjo *et al.*, 2007).

Daftar Pustaka

- Agosta, S. J. and J. A. Klemens. 2008. Ecological Fitting by Phenotypically Flexible Genotype: Implication for Species Association, Community Assembly and Evolution. *Ecology Letters* 11: 1123-1134.
- Boyd, C.E. 1991. *Water Quality Management and Aeration in Shrimp Farming*. Fisheries and Allied Aquacultures Departmental. Auburn University. Auburn, 82
- Cao, C., R. Li, Z. Wan, W. Liu, X. Wang, J. Qiao, D. Wang, G. Bulmer, and R. Calderon. 2007. The Effects of Temperature, pH and Salinity on The Growth and Dimorphism of *Penicillium marneffei*. *Journal of Medical Mycology*, 45: 401-407.
- Chakravarty, M. S., P. R. C. Ganesh, D. Amarnath, B. S. Sudha and T. S. Babu. 2016. Spatial Variation of Water Quality Parameters of Shrimp (*Litopenaeus Vannamei*) Culture Ponds at Narsapurapupeta, Kajuluru and Kaikavolu Villages of East Godavari District, Andhra Pradesh. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 4(4): 390-395.
- Dawood, M. A. O., S. Koshio, M. Ishikawa, and S. Yokoyama. 2016. Effects of Dietary Inactivated *Pediococcus pentosaceus* on Growth Performance, Feed Utilization and Blood Characteristics of Red Sea Bream, *Pagrus Major* Juvenile. *Aquaculture Nutrition*, 22 (4) : 923–932.
- FAO. 2020. *The State of World Fisheries and Aquaculture, 2018*. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Felix, N, M. J. P. Jeyaseelan, and C. J. W. Kirubakaran. 2008. Growth Improvement and Enhanced Disease Resistance Against *Vibrio alginolyticus* Using β -glucan as a Dietary Supplement for *Penaeus monodon* (Fabricius). *Indian Journal of Fisheries*, 55 (3) : 247–250.
- Gunawan, M. 2019. *Characteristics of Fermented Tomato Drink Using Lactobacillus fermentum LLLB3 Culture and Commercial Culture*. Doctoral Dissertation, Universitas Katolik Soegijapranata Semarang.
- Hakim, L., dan R. Kurniatuhadi. 2020. Karakteristik Fisiologis Jamur Halofilik Berdasarkan Faktor Lingkungan dari Sumur Air Asin di Desa Suak, Sintang, Kalimantan Barat. *Bioma: Jurnal Biologi Makassar*, 5(2), 227-232.
- Hazel, J. R. and E. E. Williams. 1990. The Role of Alterations in Membrane Lipid Composition in En- Abling Physiological Adaptation of Organisms to Their Physical Environment. *Prog. Lipid Res.* 29: 167-227.
- Hesse, S. J., G. J. G. Ruijter, C. Dijkema and J. Visser. 2002. Intracellular pH Homeostasis in the Filamentous Fungus *Aspergillus niger*. *European Journal of Biochemistry*, 269(14): 3485-3494.
- Horikoshi, K. 1999. Alkaliphiles: Some Applications of Their Products for Biotechnology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 63(4), 735-750.

- Ijong, F. G. 2015. Mikrobiologi Perikanan dan Kelautan. Penerbit. Rineka Cipta. Jakarta.
- Joshi, J., J. Srisala, V. H. Truong, I. T. Chen, B. Nuangsaeng, O. Suthienkul, C. F. Lo, T. W. Flegel, K. Sritunyalucksana, and S. Thitamadee. 2014. Variation in *Vibrio parahaemolyticus* Isolates from a Single Thai Shrimp Farm Experiencing an Outbreak of Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND). *Aquaculture*, 428: 297-302.
- Konings, W. N., S. V. Albers, S. Koning, and A. J. Driessen. 2002. The Cell Membrane Plays a Crucial Role in Survival of Bacteria and Archaea in Extreme Environments. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 81(1): 61-72.
- Lauzon, H. L., S. Gudmundsdottir, M. H. Pedersen, B.B. Budde, and B. K. Gudmundsdottir. 2008. Isolation of Putative Probiotics from Cod Rearing Environment. *Veterinary Microbiology*, 132 (3-4), 328-339..
- Lightner, D. V., R. M. Redman, C. R. Pantoja, B. L. Noble, and L. Tran. 2012. Early Mortality Syndrome Affects Shrimp in Asia. *Global Aquaculture Advocate*, 15 (1) : 40.
- Ma, Y. X., L. Y. Li, M. Li, W. Chen, P. Y. Bao, Z. C. Yu, and Y. Q. Chang. 2019. Effects of Dietary Probiotic Yeast on Growth Parameters in Juvenile Sea Cucumber, *Apostichopus japonicus*. *Aquaculture*, 499: 203-211.
- Megawati. 2017. Identifikasi Jamur Pada Udang Vannamei (*Litopenaeus Vannamei*) yang Dibudidayakan Secara Sistem Semi Intensif dan Intensif. Skripsi. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Nuryoto, N., G. Naufal, R. Nurmuhammad and T. Kurniawan. (2020). Studi Penerapan Ammonia Menggunakan Zeolit Alam Bayah Tanpa Aktivasi Pada Tambak Ikan. *Jurnal Integrasi Proses*, 9(2): 21-26.
- Ou, S. N., J. L. Liang, X. M. Jiang, B. Liao, P. Jia, W. S. Shu, and J. T. Li. 2021. Physiological, Genomic and Transcriptomic Analyses Reveal the Adaptation Mechanisms of *Acidithiobacillus ferrooxidans* to Extreme Acid Mine Drainage Environments. *Frontiers In Microbiology*, 12.
- Plemenitaš, A., and Nina G. 2005. Cellular Responses in The Halophilic Black Yeast *Hortaea werneckii* to High Environmental Salinity. In *Adaptation to Life at High Salt Concentrations in Archaea, Bacteria, And Eukarya*. Springer, Dordrecht, 453-470.
- Posangi, J. dan R. A. Bara. 2014. Analisis Aktivitas dari Jamur Endofit yang Terdapat dalam Tumbuhan Bakau *Avicennia Marina* di Tasik Ria Minahasa. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*, 2(1): 30-38.
- Post, G. 1987. *Text Book of Fish Health*. T. F. H. Publication. Inc. New York.
- Praphailong, W. and G. H. Fleet. 1997. The Effect of pH Sodium Chloride Sucrose Sorbate and Benzoate on The Growth of Food Spoilage Yeasts. *Food Microbiol*, 14: 459-468.
- Plemenitaš, A., and Nina G. 2005. Cellular Responses in The Halophilic Black Yeast *Hortaea werneckii* to High Environmental Salinity. In *Adaptation to Life at High Salt Concentrations in Archaea, Bacteria, And Eukarya*. Springer, Dordrecht, 453-470.

- Raharjo B, A. Suprihadi, dan D. K. Agustina. 2007. Pelarut Fosfat Anorganik Oleh Kultur Campur Jamur Pelarut Fosfat Secara In Vitro. *Jurnal Sains dan Matematika*. 15(2): 45-54.
- Selbmann, L., D. Isola, L. Zucconi, and S. Onofri. 2011. Resistance to UV-B Induced DNA Damage in Extreme-Tolerant Cryptoendolithic Antarctic Fungi: Detection by PCR assays. *Fungal Biology*, 115(10): 937-944.
- Septriani, E. E. 2009. Isolasi dan Identifikasi *Saccharomyces cerevisiae* yang Thitamadee, S., A. Prachumwat, J. Srisala, P. Jaroenlak, P. V. Salachan, K. Sritunyalucksana, T. W. Flegel, and O. Itsathitphaisarn. 2016. Review of Current Disease Threats for Cultivated Penaeid Shrimp in Asia. In *Aquaculture*, 452: 69-87.
- Zhang, B.C., F Liu, H.H. Bian, J. Liu, L. Q. Pan, J. Huang. 2012. Isolation, Identification, and Pathogenicity Analysis of a *Vibrio parahaemolyticus* Strain from *Litopenaeus vannamei*. *Progress in Fishery Sciences*, 33(2): 56-62.
- Zhang, M., Y. Sun, K. Chen, N. Yu, Z. Zhou, L. Chen, Z. Du, and E. Li. 2014. Characterization of the Intestinal Microbiota in Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, Fed Diets with Different Lipid Sources. *Aquaculture*, 434: 449-455.
- Zheng, C. N., and W. Wang. 2017. Effects of *Lactobacillus Pentosus* on The Growth Performance, Digestive Enzyme and Disease Resistance of White Shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Aquaculture Research*, 48(6): 2767-2777.
- Zhu, T.B., Zhang J., Meng T., Cai Z. 2015. Fungi-Dominant Heterotrophic Nitrification in a Subtropical Forest Soil of China. *Research Gate*.15: 705-709.