

## **Potensi Ekstrak Kasar *Ulva lactuta* dalam Meningkatkan *Total Haemocyte Count* (THC) dan Aktivitas Fagositosis pada Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*)**

### ***Potential of Ulva lactuta Crude Extract in Increasing Total Haemocyte Count (THC) and Fagocytic Activity in Vaname Shrimp (Litopenaeus vannamei)***

**Suleman<sup>1)\*</sup>, Sri Andayani<sup>2)</sup>, dan Ating Yuniarti<sup>2)</sup>**

<sup>1)</sup>Mahasiswa Magister Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang

<sup>2)</sup>Dosen Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang

E-mail : [sulemanstp45@gmail.com](mailto:sulemanstp45@gmail.com)

(Diterima Desember 2018/Disetujui Februari 2019)

#### **ABSTRAK**

Salah satu penyebab terjadinya penurunan produksi udang vaname adalah vibriosis. Vibriosis disebabkan oleh bakteri vibrio. Salah satu bakteri vibrio yang berperan dalam penyakit vibriosis adalah *Vibrio harveyi*. Penanganan penyakit yang disebabkan oleh *V. harveyi* yaitu salah satunya melakukan pencegahan dengan pemberian imunostimulan dari bahan alami yang berasal dari rumput laut. *Ulva lactuta* merupakan salah satu jenis rumput laut hijau yang secara substansi memiliki senyawa yang berperan sebagai imun. Beberapa senyawa yang terkandung pada *Ulva lactuta* yaitu terdapat senyawa flavonoid, dan senyawa polisakarida yang berperan sebagai imunostimulan yang ditandai dengan meningkatnya THC dan aktivitas fagositosis pada hemolim udang vaname. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh dan dosis yang digunakan untuk meningkatkan sistem imun pada udang vaname. Berdasarkan hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak kasar *U. lactuta* mampu meningkatkan total haemocyte count dan aktivitas fagositosis pada udang vaname sebelum infeksi dan setelah infeksi bakteri *V. harveyi*. Dosis 2 ppm menunjukkan berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ) terhadap semua perlakuan.

**Kata Kunci** : Imunostimulan, ekstrak kasar, udang Vaname, *Ulva lactuta*.

#### **ABSTRACT**

Causes of the decrease in vaname shrimp production was vibriosis. Vibriosis is caused by vibrio bacteria. A vibrio bacteria that plays a role in vibriosis is vibrio harveyi. Managing of diseases caused by vibrio harveyi is one of the best that provides immunostimulant assistance from natural ingredients derived from seaweed. Ulva lactuta is a green seaweed that has different substances that contain immune. Some of the compositions contained in Ulva Lactuta were Flavonoid Compositions, and the Composition of Polysaccharides that are Combined with Immunimulants. The purpose of this study was to determine the effect and dosage used to improve the immune system in vaname shrimp. Combined with THC and Fagocytosis in the hemolim on vaname shrimp before infection and after infection with Vibrio harveyi bacteria. A dose of 2 ppm showed a significant difference ( $p < 0.05$ ) for all treatments.

**Keywords**: Immunostimulant, Crude extract, vaname shrimp, *Ulva lactuta*.

## PENDAHULUAN

Udang merupakan salah satu komoditas sektor perikanan yang bernilai ekonomi tinggi. Volume ekspor udang Indonesia masih tergolong fluktuatif, namun udang tetap menjadi salah satu komoditas andalan ekspor perikanan. Untuk kebutuhan ekspor, udang pada umumnya diperoleh dari hasil budidaya ditambak. Perolehan devisa dan ekspor lebih dari 40% didominasi oleh komoditas udang. Negara Amerika Serikat dan Jepang merupakan negara tujuan dengan volume ekspor terbanyak (Simamora, 2014).

Penyakit pada krustasea dapat disebabkan oleh bakteri, jamur, virus dan berbagai jenis parasit yang selalu terdapat di perairan (Hatmanti, 2003). Salah satu penyakit pada udang yaitu disebabkan oleh bakteri yang menyebabkan vibriosis. Penyakit ini disebabkan oleh serangan bakteri genus *Vibrio* yang menjadi salah satu masalah pada kegiatan budidaya udang (Sarjito *et al.*, 2015). Menurut (Austin and Austin, 2016), salah satu agensia penyebab vibriosis pada udang adalah *Vibrio harveyi*. (Nitimulyo *et al.*, 2005) menyatakan bahwa bakteri pathogen yang umum menyerang dalam budidaya perikanan adalah *V. alginolyticus*, *V. harveyi*, *V. fluvialis*, *V. vulnificus* dan *V. ordalii*.

Salah satu sumber imunostimulan yang bisa digunakan untuk meningkatkan sistem pertahanan tubuh udang adalah rumput laut. Rumput laut merupakan algae multiselular yang mengandung substansi yang aktif secara imunologi. Pemanfaatan rumput laut selama ini masih terbatas pada produk karageenan dan agar. Potensi rumput laut di bidang pengendalian penyakit masih belum banyak dieksplorasi dan dieksploitasi. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa rumput laut mempunyai prospek yang masih terbuka bagi pengembangannya dalam bidang pengendalian penyakit (Castro *et al.*, 2004).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa pemberian imunostimulan pada udang vaname memberikan hasil yang positif. Hal ini ditunjukkan pada penelitian Ghaednia *et al.*, (2011) bahwa perendaman ekstrak *Sargassum galucescens* selama 3 jam mampu meningkatkan aktivitas fagositosis. Maftuch *et al.*, (2012) menambahkan dengan pemberian imunostimulan *Gracilaria verrucosa* melalui perendaman mampu meningkatkan jumlah hemosit pada udang vaname

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas aplikasi rumput laut jenis *U. lactuta* sebagai imunostimulan sistem pertahanan tubuh non spesifik udang *L. vanameii* dapat dilakukan dengan pengamatan terhadap sistem kekebalan tubuh non spesifik berdasarkan gambaran hematologinya, yaitu dengan menghitung jumlah hemolim dan aktivitas fagositosis

## MATERI DAN METODE

### Pembuatan Ekstrak Kasar Rumput Laut *Ulva lactuta*

Sampel rumput laut *U. lactuta* dikumpulkan dari sekitar pantai Benoa, Bali. Rumput laut kemudian dicuci menggunakan air laut lalu dibilas air tawar untuk menghilangkan garam, epiphyte, mikroorganisme, pasir dan bahan lainnya (Paulert *et al.*, 2007).

Rumput laut yang telah dikering-anginkan, dipotong kecil-kecil. Sebanyak 500 gram rumput laut *U. lactuta* direbus sampai mendidih dengan 2 liter aquades selama 2 jam, lalu disaring. Ampas direbus kembali, kemudian disaring dan filtratnya digabung dengan hasil ekstraksi pertama. Larutan hasil ekstraksi dievaporasi dengan menggunakan rotary evaporator vacuum pada suhu 50°C sampai kering. Metode yang digunakan sesuai dengan metode yang telah dilakukan oleh Ridlo dan Pramesti (2009).

### Persiapan Hewan Uji

Udang Vaname yang digunakan berasal dari Tambak di kabupaten Situbondo. Ukuran udang yang digunakan yaitu berkisar antara 20 gram sebanyak 150 ekor. Kemudian diaklimatisasi selama 24 jam dan dipelihara didalam akuarium dengan ukuran 30x30x60 cm<sup>3</sup>. Masing-masing akuarium diisi 10 ekor udang yang telah diadaptasikan selama 24 jam. Setelah diaklimatisasi, udang diberikan ekstrak *Ulva lactuta* selama penelitian dengan konsentrasi 1 ppm, 1,5 ppm, 2 ppm dan kontrol sebagai pembanding. Masing-masing perlakuan dilakukan 3 kali ulangan. Metode pemberian ekstrak kasar *Ulva lactuta* diberikan pada media pemeliharaan udang vaname selama pengamatan yang diberikan pada awal pengamatan.

### Total Haemocyte Count (THC)

Total hemosit dihitung sesuai dengan metode Liu dan Chen (2004). Pengambilan hemolim udang dilakukan pada bagian pangkal pleopod pada segmen abdominal dekat lubang genital dengan menggunakan syringe 1mL yang telah diberi larutan antikoagulan (10% sodium citrate, pH 7,2). Selanjutnya ditempat dalam mikrotube steril dan disimpan dalam *coolbox*. Perhitungan jumlah total hemosit (THC), dilakukan dengan menggunakan haemocytometer:

$$\text{THC} = \text{Rata - rata } \sum \text{Sel terhitung} \times \frac{1}{\text{Volume kotak besar}} \times \text{Fp} \times 1000$$

### Aktivitas Fagositosis

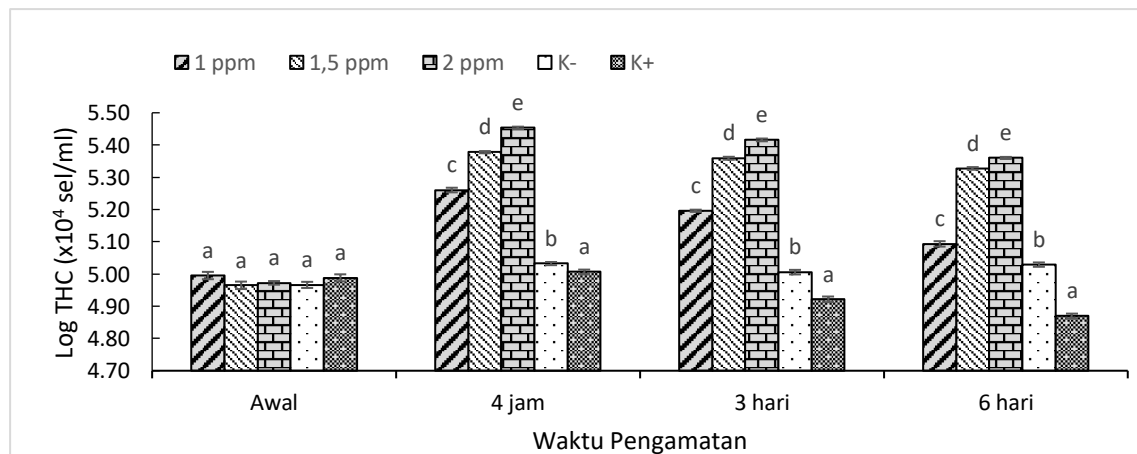
Hemolim udang dimasukkan ke dalam efendrof sebanyak 0,1 mL dan dicampur secara merata dengan 25  $\mu\text{L}$  bakteri *V.harveyi* dan diinkubasi selama 20 menit. Kemudian sebanyak 5 mL diteteskan pada gelas objek dan dibuat preparat ulas. Selanjutnya difiksasi dengan methanol 100% selama 5 menit dan diwarnai dengan giemsa (10%) selama 15 menit. Preparat kemudian dialiri air secara perlahan selama kurang lebih 5 menit untuk membuang sisa warna giemsa. Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 X. Aktivitas fagositosis dihitung berdasarkan persentase sel-sel yang menunjukkan proses fagositosis (Cheng *et al.*, 2005).

$$\text{Aktivitas fagositosis} = \frac{\text{Jumlah sel fagosit yang melakukan fagositosis}}{\text{Jumlah Sel Fagosit}} \times 100\%$$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Total Haemocyte Count (THC)

Perhitungan jumlah hemosit dilakukan dalam 4 tahapan yaitu sebelum dilakukan pemberian imunostimulan, 4 jam pasca pemberian imunostimulan (sebelum infeksi bakteri), 3 hari dan 6 hari pasca pemberian imunostimulan dan infeksi bakteri. Adapun data perhitungan total hemosit udang selama penelitian disajikan pada Gambar 1 sebagai berikut:



**Gambar 1.** THC pada awal, 4 jam, 3 hari dan 6 hari setelah pemberian ekstrak *U. lactuta* dan infeksi bakteri *V.harveyi*.

Berdasarkan grafik diatas bahwa THC pada mengalami peningkatan yang signifikan setelah dilakukan perendaman ekstrak rumput laut *U. lactuta*. Perlakuan dosis 2 ppm selama pengamatan menunjukkan berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ) terhadap semua perlakuan dan kontrol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak *U. lactuta* dapat meningkatkan total hemosit udang. Hemosit merupakan sel yang memainkan peran sentral dalam pertahanan kekebalan krustasea,

karena berperan dalam respon imun seluler maupun humoral (Xu *et al.*, 2014). Perubahan jumlah hemosit merupakan salah satu indikator stress dan status kesehatan pada udang. Selain itu, hemosit juga terlibat dalam sintesis dan pelepasan molekul penting, seperti  $\alpha$ -2-macroglobulin ( $\alpha$ 2M), aglutinin dan peptide antibakteri sebagai reaksi pertahanan tubuh krustasea (Rodriguez and Moullac, 2000).

Hemosit disintesis oleh jaringan *hematopoietic* yang merupakan sepasang *epigastric nodule*. Produksi tersebut dilakukan untuk mencapai keadaan homeostatis pasca introduksi imunostimulan. Jaringan tersebut terletak tepat di bagian dorsal pada lambung bagian depan (*anterior stomach*), merupakan tempat sintesa hemocyanin. Bila imunostimulan dapat meningkatkan hemocyanin, maka secara langsung akan terjadi pula peningkatan hemosit (Effendy *et al.*, 2004).

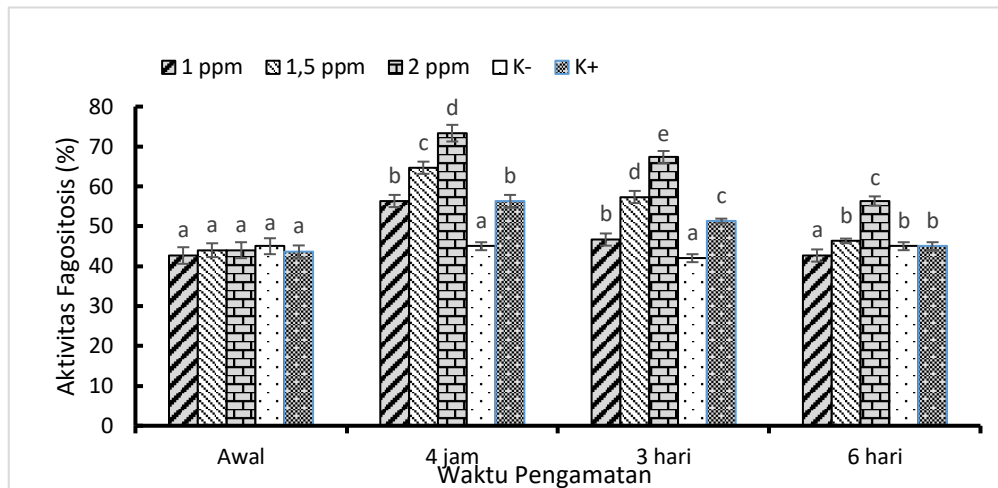
Peningkatan total hemosit penelitian tahap dua terjadi pada udang yang diberi ekstrak pada semua perlakuan, peningkatan ini signifikan ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan control. Hal ini mengindikasikan bahwa ekstrak *U. lactuta* mampu merangsang pembentukan sel-sel hemosit. Peningkatan total hemosit ini mengindikasikan bahwa meningkatnya reaksi pertahanan tubuh karena adanya partikel asing yang masuk kedalam tubuh udang. Partikel asing yang masuk ke dalam tubuh udang, akan dikenali oleh reseptor sel hemosit hingga menghasilkan respons seluler seperti *intercellular signaling cascade*, fagositosis, enkapsulasi, dan agregasi nodular (Rodriguez dan Moullac 2000). Johansson *et al.*, (2000) menambahkan bahwa hemosit udang memegang peranan penting dalam respon imun diantaranya melalui *recognition*, *phagocytosis*, *melanization*, *cytotoxicity* dan komunikasi antar sel.

Setelah diuji tantang dengan bakteri *V.harveyi* terjadi penurunan jumlah hemosit pada semua perlakuan dengan rerata perlakuan pemberian ekstrak rumput laut *U. lactuta* lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol dengan total hemosit sebesar  $5,42 \pm 0,04$  sel/ml. Hal ini sesuai dengan penelitian Van de Braak *et al.*, (2002) bahwa total hemosit menurun setelah diinfeksi bakteri *V. anguillarum*. Selama periode pembersihan bakteri dari sirkulasi, THC lebih rendah, hal ini menandakan adanya aktifitas pertahanan pada sistem imun udang tersebut.

Jumlah hemosit udang dapat menurun apabila kondisi lingkungan memburuk, misalnya rendahnya kandungan oksigen terlarut, suhu dan salinitas atau terdapatnya serangan pathogen (Supamattaya *et al.*, 2005). Selanjutnya hemosit baru perlu pengganti dan diproduksi secara proporsional, dan diyakini bahwa hemosit dikeluarkan secara kontinyu, walau pada laju yang bervariasi dari jaringan hematopoeietik. Jaringan tersebut telah diidentifikasi pada beberapa krustasea.

### **Aktivitas Fagositosis**

Pengukuran aktivitas fagositosis bertujuan untuk mengetahui tingkat fagositosis yang terjadi melalui beberapa perlakuan yang diberikan. Albores *et al.*, (1998) mengemukakan bahwa masuknya komponen microbial di dalam tubuh dapat mengaktifasi respon pertahanan tubuh secara seluler, hal ini dapat diamati melalui aktivitas fagositosis yang mana merupakan aktivitas utama dalam proses pertahanan tubuh udang terhadap infeksi benda asing. Adapun hasil pengamatan dari aktivitas fagositosis selama penelitian disajikan dalam grafik pada Gambar 2 sebagai berikut :



**Gambar 2.** Aktivitas fagositosis pada awal, 4 jam, 3 hari dan 6 hari setelah pemberian ekstrak *Ulva lactuta* dan infeksi bakteri *V.harveyi*.

Peningkatan total hemosit pada penelitian ini juga diikuti dengan peningkatan aktivitas fagositosis. Aktivitas mengalami peningkatan setelah pemberian ekstrak *U. lactuta* dan diuji tantang. Pada 4 jam setelah diberi ekstrak semua menunjukkan peningkatan aktivitas fagositosis. Pada perlakuan 2, 1,5 dan 1 ppm menunjukkan berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ) dengan semua perlakuan kontrol. Perlakuan 1,5 ppm dan K+ tidak berbeda signifikan ( $p > 0,05$ ), data hasil pengamatan aktivitas fagositosis selama pengamatan dapat dilihat pada Lampiran 5. Salah satu respon imun seluler pada udang dalam menanggapi benda asing adalah melalui mekanisme fagositosis. Pada beberapa penelitian peningkatan aktivitas fagositosis pada udang setelah uji tantang sebagai mekanisme pertahanan udang (Jasmindar 2009, Febriani *et al.*, 2013). Selama proses fagositosis, partikel bakteri akan dikenali oleh reseptor pada permukaan sel, kemudian ditelan oleh sel yang melakukan penyusunan kembali cytoskeleton untuk pembentukan fagosom. Pembentukan pertama, fagosom mengalami pematangan (*maturase*) oleh pembelahan dan fusi dengan lisosom, dan menjadi fagolisosom yang matang. Bakteri yang berada di dalam fagolisosom akan dihancurkan oleh kondisi pH yang rendah, proses hidrolisis dan radikal (Xu *et al.*, 2014).

Setelah 3 dan 6 hari pasca pemberian ekstrak *U. lactuta* dan di uji tantang, aktivitas fagositosis mengalami penurunan pada semua perlakuan. Pada hari ke-3 perlakuan dengan dosis 2 ppm berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ) dengan semua perlakuan dan menunjukkan nilai aktivitas yang tertinggi. Hal ini diduga karena kandungan dari ekstrak *U. lactuta* masih memberikan reaksi terhadap hemosit. Hal ini juga terjadi setelah hari ke-6 pasca pemberian imunostimulan dari ekstrak *U. lactuta* semua perlakuan mengalami penurunan aktivitas fagositosis, namun pada perlakuan dosis 2 ppm menunjukkan berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ) terhadap semua perlakuan. Hal ini diduga karena dosis yang digunakan masih terbilang cukup untuk menstimulasi terbentuknya sel-sel hemosit, sehingga masih mampu melawan infeksi bakteri yang diberikan. Pope *et al.*, (2011), melaporkan bahwa hemolimf udang memiliki aktivitas perlawanan terhadap infeksi bakteri *V. harveyi* secara alami bahkan dengan tanpa adanya pemberian vaksinasi atau imunostimulan sebelumnya. Aktivitas fagositosis berkaitan erat dengan peningkatan jumlah sel hyaline, karena sel yang melakukan proses fagositosis adalah sel hyalin dan sedikit oleh semi granular (Ermantianingrum *et al.*, 2003).

Saat terjadinya serangan pathogen, sel hemosit akan melakukan proses degranulasi, cytotoxicity, dan lisis terhadap material tersebut. Dengan demikian jumlah hemosit yang beredar dalam hemolimf akan terlihat menurun. Hasil proses degranulasi adalah pelepasan peroxinectin yang akan memicu munculnya fagositosis (Effendy *et al.*, 2004).

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa kandungan senyawa yang terdapat pada ekstrak kasar rumput laut *Ulva lactuta* mampu meningkatkan sistem pertahanan tubuh udang vaname. Hal ini ditandai dengan meningkatnya parameter imun yang diukur yaitu THC dan

aktivitas fagositosis. Dosis 2 ppm menunjukkan berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ) terhadap semua perlakuan dimana menampilkan hasil THC dan aktivitas fagositosis tertinggi hingga akhir pengamatan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Austin and Austin. 2007. Bacterial Fish Pathogen. Diseases of Farmed and Wild Fish. *Springer*. Fourth Edition
- Castro, R.I. Zarrab, and J. Lamas. 2004. Water-soluble Seaweed Extracts Modulate the *Pantoea agglomerans lippopoly saccharide* (LPS). *Fish Shellfish Immunology*, 10:555-558
- Cheng, W. Wang, L and J. Chen. 2005. Effect of water temperature on the immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* to vibrio alginolyticus. *Aquaculture*, 250:592-601
- Effendy, S. Alexander, R dan T. Akbar. 2004. Peningkatan hemosit benur udang windu (*Penaeus monodon* Fab) pasca perendaman ekstrak ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*) pada konsentrasi yang berbeda. *Jurnal Sains dan Teknologi*, 14(2):46-53
- Ermantianingrum, A.A., Sari, R., dan S.B. Prayitno. 2013. Potensi Chlorella sp. Sebagai Immunostimulan untuk Pencegahan Penyakit Bercak Putih (*White Spot Syndrome Virus*) pada Udang Windu (*Penaeus monodon*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. Vol.1(1),206-221.
- Febriani, D., Sukenda dan S.Nuryati. 2013. Kappa-Karagenan sebagai imunostimulan untuk pengendalian Penyakit *Infectious myonecrosis* (IMN) pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 12(1):70-78.
- Ghaednia, B. Mehrabi M. R. Mirkbaksh, M. Yeganeh, V. Hoseinkhezri. Garibi, G and J. A .Gahffar. 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
- Hatmanti, A. 2003. Penyakit Bakterial Pada Budidaya Krustasea serta Cara Penanganannya. *Oceana*. Vol. XXVIII, No.3:1-10
- Jasmindar, Y. 2009. Penggunaan Ekstrak *Gracillaria verrucosa* untuk meningkatkan system ketahanan Udang vaname *Litopenaeus vannamei*. Bogor. Institut Pertanian Bogor.
- Johansson, M.W., Keyser, P., Sritunyalucksana, and K. Soderhall. 2000. Crustacean Haemocytes and Haematopoiesis. *Aquaculture*.191:45-52.
- Liu, C.H and J.C. Chen. 2004. Effect of Ammonia on the Immune response of White shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus*. *Fish & Shellfish Immunology*. 16: 321-334
- Maftuch. Toban, M. H and Y. Risjani. 2012. Administration of marine algae (*Gracillaria verrucosa*) immunostimulant enhances some innate immune parameters in black tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fabricus) against *Vibrio harveyi* infection. *Journal of Applied Research*. 8(2):1052-1058
- Nitimulyo, K. H., A. Isnanstyo, Triyanto, I. Istiqomah dan M. Murdjani. 2005. Isolasi, Identifikasi dan Karakterisasi *Vibrio* spp. Patogen Penyebab vibriosis pada Kerapu di Balai Budidaya Air Payau Situbondo. *Jurnal Perikanan*. Vol VII (2):80-94
- Paulert, R. Junior, A.S. Stadnik, M.J and M.G. Pizzolatti. 2007. Antimicrobial properties of extract from the green seaweed *Ulva fasciata* Delile against pathogenic bacteria and fungi. *Algological Studies*. 123-130
- Pope, E.C, Powell, A., Roberts, E.C., Shields, R.J., Wardle, R., and A.F. Rowley. 2011. Enhanced Cellular immunity in Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) after 'vaccination'. *PLoS ONE* 6.
- Ridlo, A dan R. Pramesti. 2009. Aplikasi ekstrak rumput laut sebagai agen immunostimulan sistem pertahanan non spesifik pada udang (*Litopenaeus vannamei*). *Ilmu Kelautan*. Vol.14:133-137

- Rodrigues, J. and G. L. Moullac. 2000. State of the art if immunological tools and health kontrol of penaeid shrimp. *Aquaculture*. 191:109-119
- Sarjito, Apriliani, M. Afriani dan D. A. C. Haditomo. 2015. Agensia Penyebab Vibriosis Pada Udang Vanname (*Litopenaeus vannamei*) yang Dibudidayakan secara Intensif di Kendal. *Jurnal Kelautan Tropis*. Vol 18(3):189-196
- Simamora, S.D. 2014. Market Brief Langkah dan Strategi Ekspor ke uni Eropa:Produk Udang. Advancing Indonesia's Civil Society in Trade and Investment Climate. APINDO
- Supamattaya, K., Kiriratnikom, S., Boonyaratopalin, M. and L. Borowitzka. 2005. Effect of a Dunaliella Extract on Growth Performance, Health Condition, Immune Response and Disease resistance in Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquaculture*. 248(1):207-216
- Van de Braak K. 2002. Haemocytic Defence in Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*). *Thesis*. Wageningen. Belanda. Hal.159
- Xu D., Liu, W., Alvarez A. and T.Huang. Cellular Immune responses against viral Pathogens in Shrimp. *Developmental and Comparative Immunology*. 47:287-297.