

PENINGKATAN RESPON KEBAL NON-SPEKIFIK PADA IKAN LELE DUMBO (*Clarias* sp.) DENGAN PEMBERIAN IMUNOSTIMULAN (β -GLUCAN)

Akhmad Rukyani^{*)}, Evi Silvia^{**)}, Agus Sunarto^{*)} dan Taukhid^{*)}

ABSTRAK

Imunostimulan merupakan alternatif untuk penggunaan vaksin dan antibiotik dalam perlindungan terhadap serangan penyakit ikan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui dosis efektif imunostimulan yang dapat meningkatkan respon kebal nonspesifik pada ikan lele dumbo (*Clarias* sp.). Ikan uji dengan rata-rata panjang total 9 cm diberi pakan komersial yang telah dicampur imunostimulan masing-masing dengan dosis 500, 750, 1000 dan 1250 mg/kg pakan, serta tanpa penambahan imunostimulan sebagai kontrol. β -glucan diberikan selama 30 hari pemeliharaan. Pengujian peran imunostimulan terhadap respon kebal nonspesifik dilakukan melalui uji tantangan terhadap infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan jumlah 10^5 cfu/ekor. Pengamatan dilakukan terhadap total leukosit, diferensial leukosit, titer antibodi, gejala klinis serta tingkat sintasan ikan setelah diuji tantangan. Hasil penelitian menunjukkan tingkat sintasan sebesar 44,14%; 83,33%; 63,89%; 41,67% dan 25%, masing-masing untuk dosis β -glucan 500, 750, 1000, 1250 dan 0 mg/kg pakan (kontrol). Dengan persamaan kuadrat diperoleh dosis optimum sebesar 773,81 mg/kg pakan.

ABSTRACT: *Improvement of non-specific immune response of African catfish (Clarias sp.) by application of immunostimulant (β -glucan). By: Akhmad Rukyani, Evi Silvia, Agus Sunarto and Taukhid.*

*Immunostimulant may represent an alternative to vaccines and antibiotics in the protection of farmed fish against diseases. This study was done to evaluate the effective dose of immunostimulant (β -glucan) to increase non-specific immune response of African catfish (Clarias sp.). Catfish fingerling with an average total length of 9 cm were treated with immunostimulant given through pelleted feed at 500;750; 1000;1250; and 0 mg/kg (control). The immunostimulants were given daily for 30 consecutive days. The fish were then challenged with *Aeromonas hydrophila* at 10^5 cfu/fish to evaluate their non-specific immune response. The results showed that the survival rate of the catfish were 44.14%; 83.33%; 63.89%; 41.67% and 25% at 500; 750; 1000; 1250; and 0 mg/kg β -glucan respectively. The optimum dose of β -glucan determined by quadratic equation was 773.81 mg/kg feed.*

KEYWORDS: *Immunostimulant, immune response, catfish.*

PENDAHULUAN

Dalam budidaya perairan, ikan senantiasa hidup dalam lingkungan yang mengandung berbagai mikroba patogen seperti virus, bakteri, jamur dan parasit. Karenanya kasus kematian ikan sering disebabkan oleh sekaligus campuran antara berbagai patogen tersebut atau sulit diduga patogen mana yang akan menyerang.

Pengendalian penyakit ikan akan lebih efisien bila dilakukan melalui tindakan pencegahan

antara lain dengan cara vaksinasi. Cara vaksinasi ini telah mulai dilakukan di Indonesia (Rukyani dan Nitimulyo, 1993; Supriyadi dan Rukyani, 1990; Rukyani *et al.*, 1995), akan tetapi umumnya vaksin tidak mampu melawan beberapa penyakit bakteri dan virus sekaligus (Raa *et al.*, 1992).

Tidak seperti halnya vaksin (antigen) yang memicu produksi antibodi spesifik terhadap satu patogen tertentu, sekelompok senyawa biologi dan sintesis yang disebut imunostimulan dapat

^{*)} Peneliti pada Balai Penelitian Perikanan Air Tawar, Sukamandi

^{**)} Fakultas Perikanan, Institut Pertanian Bogor

meningkatkan pertahanan nonspesifik (Fenichel dan Chirigos, 1984 dalam Robertsen *et al.*, 1990). Oleh karena itu, imunostimulan dapat dijadikan alternatif untuk penggunaan vaksin dan antibiotik dalam perlindungan terhadap serangan penyakit (Robertsen *et al.*, 1990).

β -Glukan merupakan salah satu imunostimulan yang terbuat dari dinding sel cendawan *Saccharomyces cerevisiae* dan telah terbukti mampu merangsang dan mengaktifkan mekanisme pertahanan non-spesifik pada berbagai organisme tingkat tinggi seperti tanaman, vertebrata dan avertebrata (Raa *et al.*, 1992). Cara penggunaan imunostimulan memiliki pola yang sama dengan penggunaan antibiotik atau bahan kimia, namun belum banyak petunjuk yang jelas tentang sediaan dan efektivitas imunostimulan selama dan setelah pemakaian (Anderson, 1992).

Diduga mekanisme kerja imunostimulan adalah dengan cara meningkatkan aktivitas oksidatif netrofil, memperbesar kegiatan sel-sel fagosit seperti makrofag dan limfosit T atau daya kerja sel sitotoksik lainnya, serta menginduksi protein-protein sitokin seperti interleukin, interferon, faktor nekrosis tumor, protein C-aktif komplemen dan lisosim (Fletcher, 1982). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dosis efektif penggunaan glukan melalui ransum pakan bagi peningkatan ketahanan tubuh ikan lele dumbo (*Clarias sp.*).

BAHAN DAN METODE

Ikan uji yang digunakan adalah lele dumbo dengan panjang total rata-rata 9 cm, dipelihara dalam akuarium berukuran 60x40x35 cm³ dengan dengan kepadatan 30 ekor/akuarium. Aklimatisasi dilakukan selama 2 minggu, dan pergantian atau penambahan air sebanyak 10-20% total volume dilakukan setiap minggu.

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan dosis penambahan glukan ke dalam pakan sebagai perlakuan, masing-masing dengan 3 ulangan.

Imunostimulan yang digunakan adalah *Macro Gard β -Glukan* (glukan) diproduksi oleh Biotec Mackzymal Norwegia. Pada penelitian ini diterapkan 5 dosis penambahan glukan pada

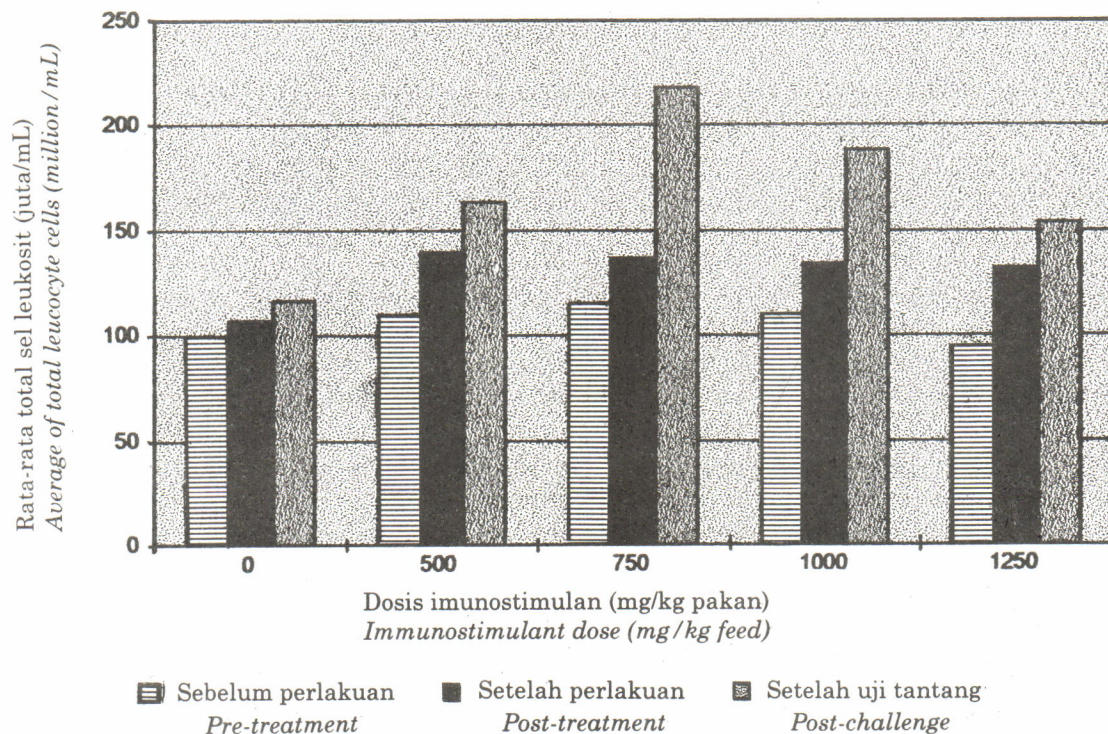
pakan, yaitu (A) tanpa pemberian imunostimulan (kontrol), (B) 500 mg/kg pakan, (C) 750 mg/kg pakan, (D) 1000 mg/kg pakan dan (E) 1250 mg/kg pakan. Ransum pakan yang ditambah dengan imunostimulan diberikan selama 30 hari pemeliharaan. Pakan diberikan sebanyak 5% bobot tubuh ikan dengan frekuensi pemberian sebanyak tiga kali per hari, yaitu pada pukul 07.00, 12.00 dan 17.00.

Bakteri yang digunakan untuk ujiantang adalah *Aeromonas hydrophila* isolat 26 koleksi Balitkhanwar. Untuk memulihkan virulensi bakteri, dilakukan uji Koch Postulat (reinfeksi dan reisolasi). Ujiantang dilakukan setelah 30 hari pemeliharaan (akhir pemberian imunostimulan), dengan cara menginfeksi ikan dengan bakteri aktif melalui penyuntikan intraperitoneum (i.p.) pada konsentrasi 10⁵ cfu/ekor.

Parameter yang diamati meliputi total leukosit, diferensial leukosit, titer antibodi, performan ikan dan gejala klinis, serta tingkat sintasan ikan setelah diujiantang. Total leukosit dihitung dengan hemasitometer Neubauer menurut metode Blaxhall dan Daisley (1973) dalam Wedemeyer dan Yasutake (1977). Pengamatan diferensial leukosit dilakukan dengan membuat preparat ulas darah dan dihitung menurut metode Lucky (1977). Pengukuran titer antibodi pada serum darah ikan dilakukan menurut metode Carpenter (1975); sedangkan pengamatan performan dan gejala klinis dilakukan setiap hari. Pengamatan gejala klinis dan mortalitas ikan uji setelah ujiantang dilakukan selama satu minggu. Ikan uji yang mati dan memperlihatkan gejala klinis akibat infeksi bakteri diperiksa secara mikrobiologis untuk mengetahui penyebab kematian.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil penelitian ini diperoleh nilai total leukosit, diferensial leukosit dan titer antibodi serum darah ikan sebelum dan sesudah pemberian imunostimulan. Juga diketahui performan ikan uji selama pemeliharaan, gejala klinis dan tingkat sintasan ikan setelah diujiantang dengan bakteri *A. hydrophila*. Rata-rata total leukosit ikan uji yang dihitung sebelum perlakuan, akhir perlakuan dan setelah ujiantang dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Rata-rata total leukosit ikan uji sebelum dan setelah perlakuan sebelum uji tantang serta setelah uji tantang dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*.
 Figure 1. Average total leucocyte of test fish prior and after treatment before challenge and after challenge with *Aeromonas hydrophila*.

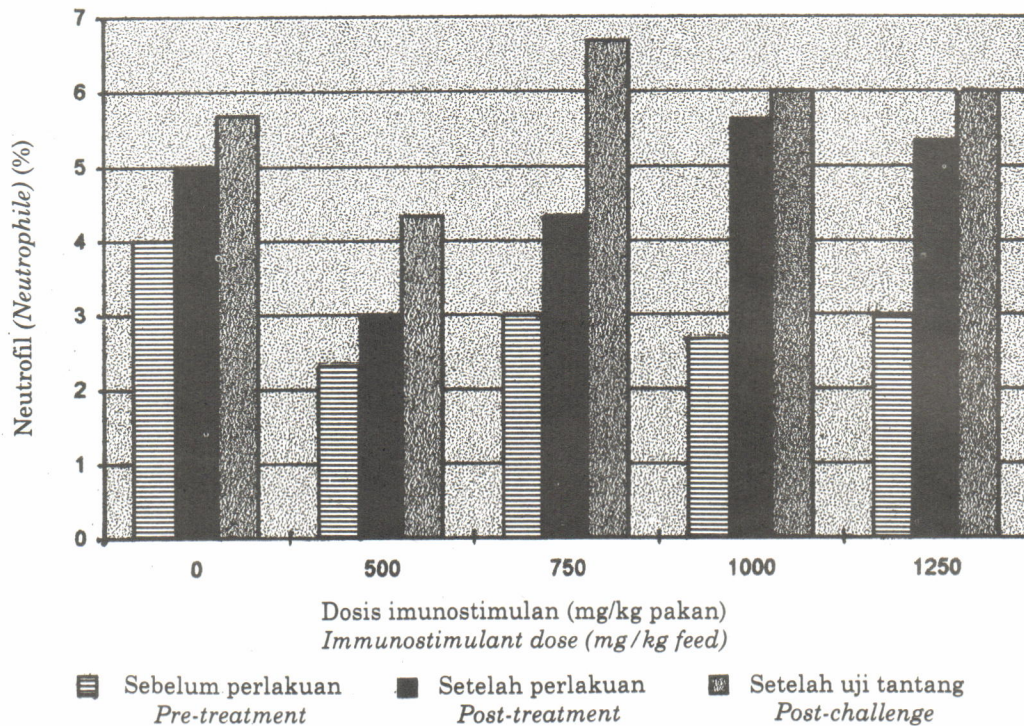
Nilai total leukosit pada Gambar 1 tersebut sesuai dengan standar yang dibuat oleh Chinabut *et al.* (1991), bahwa total leukosit ikan normal berkisar antara 20.000-150.000 sel/mm³ darah. Total leukosit kelompok ikan perlakuan mengalami peningkatan besar setelah uji tantang. Gambar 1 juga memperlihatkan bahwa total leukosit meningkat baik pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan, namun peningkatannya pada kelompok perlakuan rata-rata lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Pada kelompok perlakuan didapatkan nilai total leukosit terendah pada pemberian imunostimulan dosis 1250 mg/kg pakan, kemudian diikuti oleh dosis 500 mg/kg pakan. Rendahnya nilai total leukosit pada kedua perlakuan tersebut diduga karena pada dosis imunostimulan yang tinggi akan terjadi penekanan mekanisme pertahanan dan pada dosis yang rendah menjadi kurang efektif (Anderson, 1992). Selanjutnya Tizard (1988) menyatakan bahwa pemberian imunostimulan dosis tinggi ataupun rendah akan menjadi supresor, yaitu sel berfungsi untuk

menekan respon sel B dan sel T terhadap antigen dengan mengeluarkan faktor supresor terlarut.

Pengamatan diferensial leukosit dilakukan dengan menghitung persentase neutrofil, limfosit, monosit dan trombosit pada awal dan akhir perlakuan serta setelah uji tantang dengan bakteri *A. hydrophila*. Hasil lengkap rata-rata diferensial leukosit dapat dilihat pada Gambar 2; 3; 4; dan 5, masing-masing untuk neutrofil, limfosit, monosit dan trombosit.

Persentase neutrofil cenderung meningkat selama perlakuan dan setelah diinfeksi dengan bakteri. Menurut Dellman dan Brown (1989), umumnya jumlah neutrofil meningkat pada saat terjadi kasus penyakit bakteri karena neutrofil keluar dari pembuluh darah menuju daerah infeksi. Fungsi utama neutrofil adalah penghancuran bahan asing melalui proses fagositik, yaitu kemotaksis di mana sel bermigrasi menuju partikel, perlekatan partikel pada sel, penelanan partikel oleh sel dan penghancuran partikel oleh enzim lisosom di dalam fagolisosom (Tizard,



Gambar 2. Diferensial leukosit (persentase rata-rata neutrofil) pada lele Dumbo.
Figure 2. Leucocyte differential (average percentage of neutrophil) of African catfish.

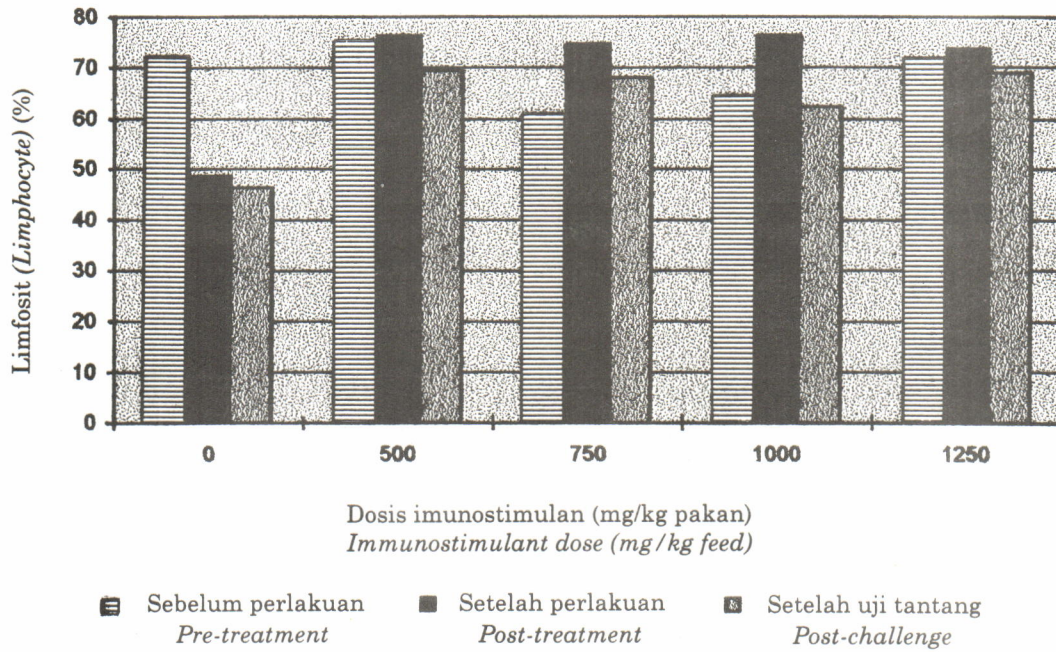
1988). Keluarnya neutrofil dari pembuluh darah pada saat terjadinya infeksi disebabkan karena adanya pengaruh rangsangan kimiawi eksternal atau kemotaksis.

Jumlah neutrofil pada pengamatan didapatkan nilai yang rendah, meski terjadi peningkatan. Hal ini disebabkan karena proporsi neutrofil dalam populasi leukosit hanya sekitar 6-8% (Roberts, 1978). Peningkatan jumlah neutrofil setelah uji tantang berhubungan dengan responnya terhadap infeksi, yaitu membunuh bakteri dan membersihkan pecahan jaringan. Neutrofil ini merupakan garis pertahanan pertama yang bergerak cepat ke arah bahan asing dan menghancurkannya, tetapi tidak mampu bertahan lama. Biasanya neutrofil hanya menghancurkan tuntas setiap bahan asing yang ditelan dan tidak mengolah antigen sebagai persiapan guna disajikan pada sel peka antigen (Tizard, 1988). Lebih lanjut Lucky (1977) menjelaskan bahwa pada saat terjadi infeksi, jumlah neutrofil meningkat 6-7%.

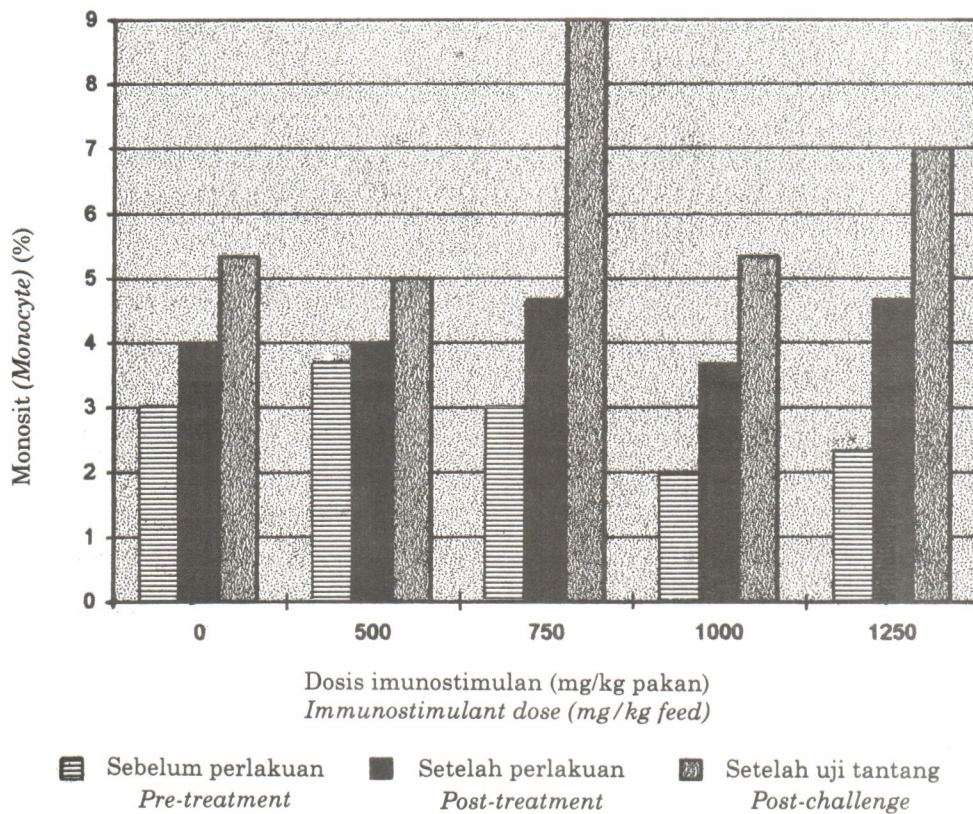
Limfosit berfungsi menyediakan zat kebal untuk pertahanan tubuh (Dellman dan Brown, 1989), ditemukan dalam jumlah yang besar

meskipun pada saat infeksi terjadi penurunan. Tingginya kadar limfosit ini disebabkan karena proporsinya dalam leukosit besar. Penurunan jumlah limfosit setelah uji tantang diduga karena kegiatannya dalam menyediakan zat kebal terganggu oleh masuknya infeksi. Dalam keadaan ini limfosit dibantu monosit dan neutrofil. Hasil lengkap pengamatan diferensial leukosit dapat dilihat pada Gambar 3.

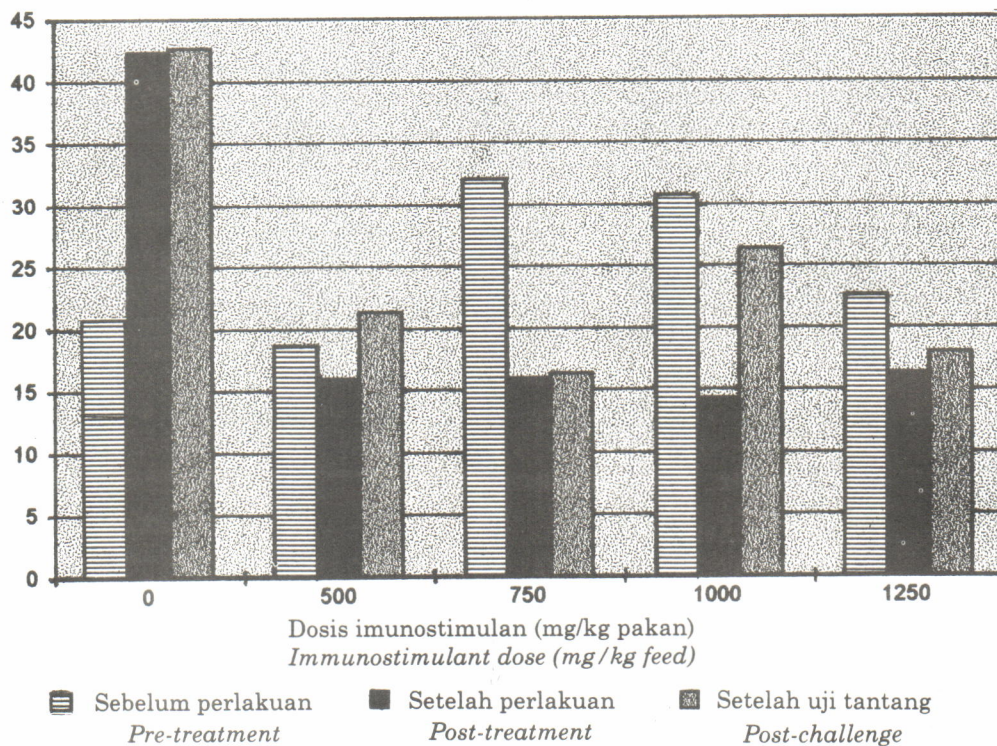
Persentase monosit didapatkan meningkat selama perlakuan dan setelah diinfeksi bakteri (Gambar 4). Peningkatan persentase monosit ini diduga karena fungsinya sebagai makrofag dan memfagosit benda-benda asing yang masuk ke dalam tubuh (Roberts, 1978). Fagositosis oleh makrofag merupakan proses yang sama seperti pada neutrofil. Makrofag tertarik secara kemotaktik tidak hanya pada produk mikroorganisme dan produk reaksi kebal, tapi juga pada faktor sel yang rusak, terutama neutrofil yang rusak. Jadi neutrofil tidak hanya mencapai dan menyerang bahan asing, tetapi menjelang kematian membantu meningkatkan pengumpulan makrofag di tempat infeksi. Antigen dihancurkan di dalam makrofag dengan cara yang sama seperti pada neutrofil. Makrofag ini mampu memiliki aktivitas



Gambar 3. Diferensial leukosit (persentase rata-rata limfosit) pada lele Dumbo.
Figure 3. Leucocyte differential (average percentage of lymphocyte) of African catfish.



Gambar 4. Diferensial leukosit (persentase rata-rata monosit) pada lele Dumbo.
Figure 4. Leucocyte differential (average percentage of monocyte) of African catfish.



Gambar 5. Diferensial leukosit (persentase rata-rata trombosit) pada lele Dumbo.
Figure 5. Leucocyte differential (average percentage of thrombocyte) of African catfish.

fagositik yang tahan lama, mengolah antigen dalam persiapan untuk tanggap kebal dan memberi kontribusi langsung pada perbaikan jaringan yang rusak dengan membuang jaringan yang mati, yang sedang mengalami kematian dan yang rusak. Rendahnya kadar monosit disebabkan karena proporsinya dalam leukosit hanya sekitar 0,1% (Roberts, 1978), akan tetapi dapat meningkat sekitar 38% dalam waktu singkat bila terjadi infeksi (Lucky, 1977).

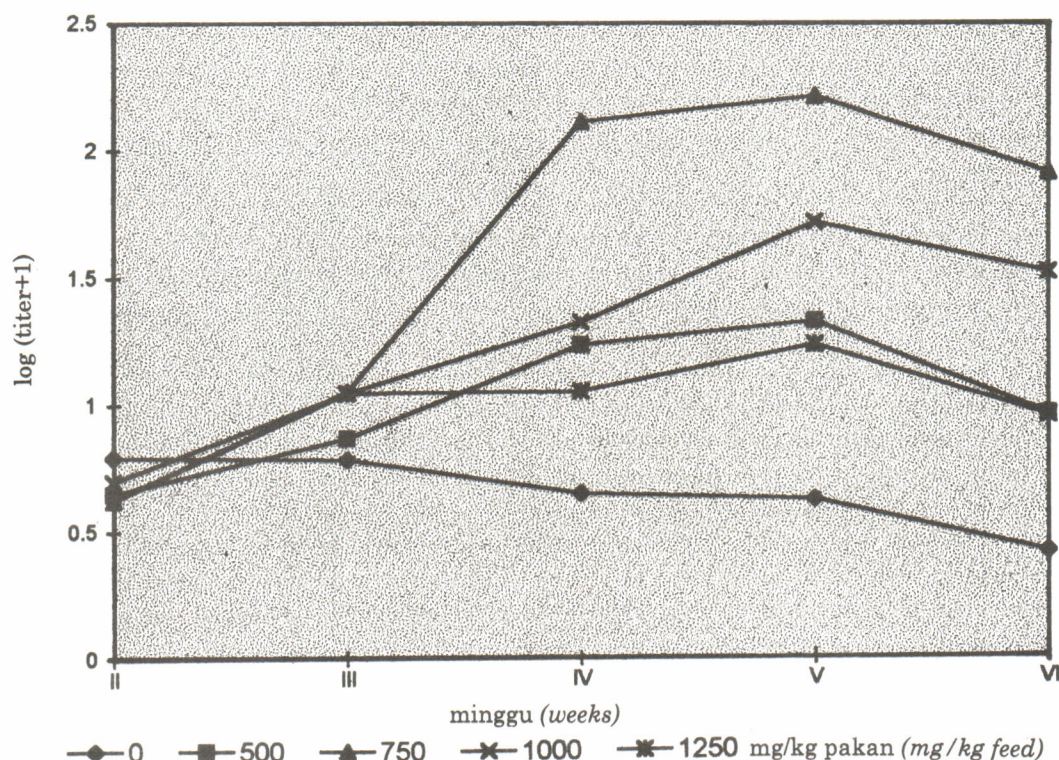
Persentase trombosit pada pengamatan setelah uji tantang bakteri umumnya meningkat (Gambar 5). Hal ini diduga karena perannya untuk menutup luka (Chinabut *et al.*, 1991). Lebih lanjut Rastogi (1977) menjelaskan bahwa jumlah trombosit umumnya meningkat setelah terjadi luka atau bila terjadi hemoragi.

Titer antibodi ikan mulai diukur pada minggu ke-2 setelah perlakuan. Hal ini didasarkan pada kenyataan bahwa ikan biasanya membutuhkan waktu laten 2 minggu untuk melakukan tanggap kebal dalam bentuk peningkatan produksi antibodi. Rata-rata pengukuran antibodi dapat dilihat pada Gambar 6. Titer antibodi mulai meningkat pada minggu ke-3 dan mencapai puncaknya pada

minggu ke-4 dan ke-5, kemudian mulai menurun kembali pada minggu ke-6, yaitu setelah diinfeksi dengan bakteri *A. hydrophila*. Puncak titer antibodi pada perlakuan C (dosis glukon 750 mg/kg pakan) terjadi pada minggu ke-5, disusul oleh perlakuan D, B, E dan A.

Peningkatan produksi antibodi pada semua perlakuan terjadi pada minggu ke-3. Antibodi pada ikan biasanya mulai ada pada minggu ke-2 dan ke-3 (Anderson, 1974). Menurut Tizard (1988) antibodi terjadi karena adanya rangsangan antigen penginfeksi. Proses ini dimulai dengan penyerapan dan pencernaan antigen oleh makrofag yang berlangsung secara aktif. Makrofag ini kemudian akan memberikan rangsangan kepada sel limfosit untuk berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel memori dan sel plasma yang akan menghasilkan antibodi. Puncak titer antibodi dimulai pada minggu ke-4 pada setiap perlakuan, seperti yang diamati Hanifa (1993).

Peningkatan dosis pemberian imunostimulan tidak selalu memberikan hasil yang optimal. Hal ini sesuai dengan pendapat Nitimulyo dan Triyanto (1990) yang mengatakan bahwa peningkatan dosis imunostimulan tidak selalu se-



Gambar 6. Rata-rata titer antibodi lele Dumbo.

Figure 6. Average antibody titer of African catfish.

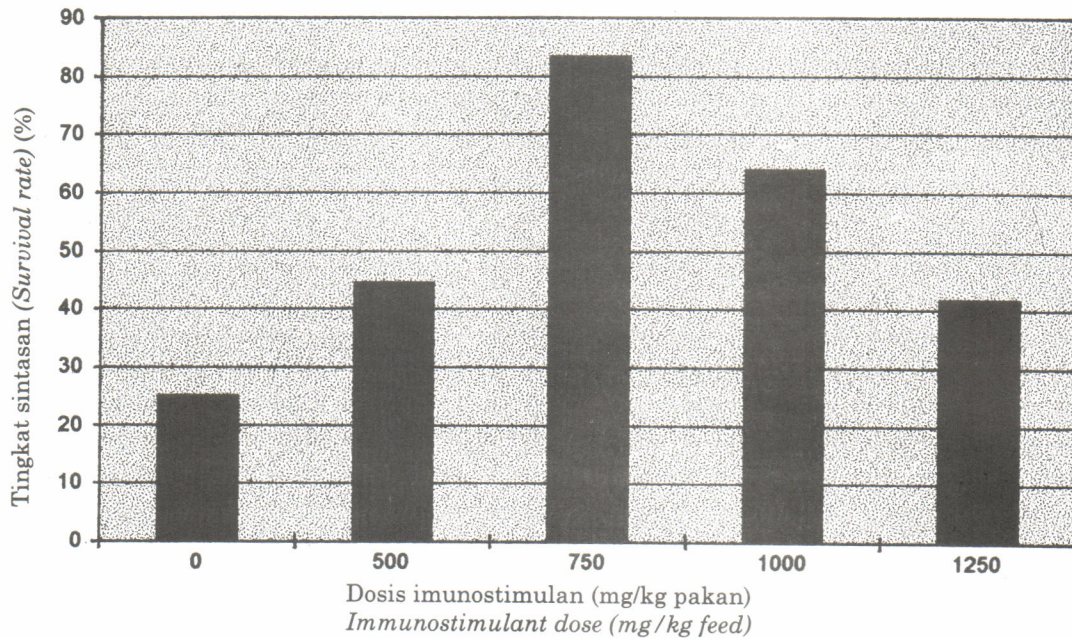
banding dengan kenaikan titer, karena pada pemberian dosis terlalu tinggi dan rendah hanya dihasilkan sedikit kompleks kebal.

Pada minggu ke-6 terjadi penurunan produksi antibodi. Hal yang sama juga didapatkan pada penelitian Hanifa (1993). Penurunan produksi antibodi ini diduga karena adanya infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* yang masuk ke dalam tubuh. Oleh sebab itu, mekanisme pertahanan tubuh dipusatkan pada daerah terjadinya infeksi. Selain itu, penurunan produksi antibodi juga disebabkan karena pada saat terjadinya infeksi, limfosit yang berfungsi untuk menghasilkan antibodi mengalami penurunan karena aktivitasnya terganggu. Pada ikan kontrol terjadi penurunan antibodi mulai minggu ke-4 sampai minggu ke-6. Hal ini disebabkan karena tidak adanya glukon dalam pakannya yang dapat merangsang limfosit sel B untuk memproduksi antibodi.

Gejala klinis pada masing-masing ikan perlakuan dan kontrol setelah uji tantang dengan bakteri *A. hydrophila* menunjukkan gejala yang sama. Gejala yang timbul adalah peradangan kulit, sirip patah, perubahan tingkah laku ikan dan respon makan yang menurun.

Pada umumnya peradangan pada punggung dan pangkal sirip mulai tampak pada hari ke-2 setelah penyuntikan bakteri, yang masih tetap terlihat pada hari ke-3 pengamatan. Pada hari ke-5 sebagian ikan perlakuan C dan D telah mulai mengalami proses penyembuhan, ikan perlakuan B dan E pada hari ke-6 dan ke-7, sedangkan ikan kontrol sebagian baru mengalami proses penyembuhan pada hari ke-7. Ikan kontrol mengalami sirip patah paling banyak.

Pada pengamatan perubahan tingkah laku umumnya semua ikan perlakuan gerakannya lambat, lemas dan sebagian ikan perlakuan mengapung di permukaan pada hari ke-1 setelah penyuntikan. Pada hari ke-3 gerakan ikan perlakuan telah normal, kecuali pada sebagian ikan kontrol yang aktif kembali pada hari ke-4. Pada hari ke-1 dan ke-2 setelah penyuntikan bakteri, tidak ada respon makan untuk semua ikan perlakuan. Respon makan ikan perlakuan C mulai ada pada hari ke-3 dan selanjutnya ikan kembali aktif makan pada hari ke-5. Ikan perlakuan B, D, E dan kontrol mulai menunjukkan respon makan pada hari ke-4 dan kembali aktif pada hari ke-5 dan ke-6.



Gambar 7. Tingkat sintasan (%) lele Dumbo sesudah uji tantang dengan *Aeromonas hydrophila*.
Figure 7. Survival rate (%) of African catfish after challenged with *Aeromonas hydrophila*.

Pada semua ikan perlakuan, gejala klinis terjadi pada hari ke-2 setelah uji tantang. Keadaan ini dimulai dengan timbulnya pembengkakan pada daerah bekas suntikan. Tizard (1988) mengatakan bahwa bila suatu mikroorganisme atau bahan asing lainnya memasuki jaringan, pertahanan tubuh dimobilisasi dan diarahkan ke tempat terjadinya serangan yang menyebabkan terjadinya perbarahan. Tanda utama perbarahan adalah kemerahan, bengkak dan sakit. Bengkak pada daerah suntikan ini kemudian berkembang menjadi tukak, yaitu pecahnya kulit permukaan.

Proses penyembuhan yang lebih cepat pada ikan perlakuan dibandingkan dengan ikan kontrol, kemungkinan disebabkan oleh adanya glukon yang merangsang makrofag untuk lebih meningkatkan kemampuannya dalam membunuh bakteri. Hasil reisolasi bakteri menunjukkan bahwa bakteri yang menginfeksi adalah bakteri *Aeromonas hydrophila*.

Sintasan ikan lele dumbo setelah uji tantang bakteri *Aeromonas hydrophila* pada setiap perlakuan mengalami penurunan (Gambar 7). Sintasan tertinggi dicapai pada penambahan glukon sebesar 750 mg glukon/kg pakan (per-

lakuan C) dan sintasan terendah terjadi pada ikan kontrol (perlakuan A). Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan glukon dapat menurunkan total mortalitas ikan. Raa *et al.* (1992) dalam penelitiannya pada respon ikan salmon (*Salmo salar* L) terhadap infeksi bakteri *V. salmonicida* menghasilkan bahwa penambahan glukon dalam pakan sebesar 1000 mg glukon/kg pakan dapat menurunkan mortalitas ikan sebesar 40% dan terhadap *V. anguillarum* sebesar 20%.

Pada dosis glukon yang tinggi (1250 mg glukon/kg pakan) diperoleh tingkat sintasan yang rendah. Demikian pula pada dosis glukon yang rendah (500 mg/kg pakan). Hal ini didukung oleh penelitian Robertsen *et al.* (1990) yang melakukan penyuntikan glukon dengan dosis rendah ternyata menghasilkan efek perlindungan yang menurun dari hari ke-7 setelah penyuntikan. Robertsen *et al.* (1990) mengatakan, bahwa pada dosis glukon yang tinggi terkadang menggambarkan kematian yang lebih tinggi daripada ikan kontrol. Lebih lanjut dijelaskan pada saat sejumlah besar glukon masuk ke dalam tubuh, maka glukon tersebut akan memberi rangsangan kepada sel-sel fagositik ikan yang melebihi kemampuannya sehingga menurunkan aktivitas-

nya dalam membunuh bakteri dan bahan asing lainnya. Pada dosis rendah, rangsangan yang diberikan glukukan kepada makrofag tidak mencukupi kebutuhannya dalam memfagosit dan memusnahkan bakteri.

Uji analisis ragam sintasan ikan lele dumbo setelah uji tantang bakteri *A. hydrophila*, didapatkan bahwa penambahan glukukan yang berbeda dalam pakan menyebabkan perbedaan sintasan ikan lele dumbo ($P < 0,05$). Penambahan glukukan dalam pakan komersial (X) menyebabkan respon sintasan (Y) berpola kuadratik dengan persamaan sebagai berikut:

$$Y = 20,91 + 0,13 X - 840 \times 10^5 X^2$$

Berdasarkan persamaan kuadratik tersebut, sintasan optimum ikan lele dumbo setelah diinfeksi bakteri *A. hydrophila* dicapai pada penambahan glukukan dalam pakan sebesar 773,81 mg/kg pakan.

KESIMPULAN

- Secara klinis tidak tampak perbedaan gejala klinis ikan setelah penyuntikan bakteri *Aeromonas hydrophila* baik pada ikan kontrol maupun perlakuan, walaupun kelompok ikan perlakuan cenderung mengalami proses penyembuhan yang lebih cepat, yaitu pada hari ke-5 dan ke-6 setelah penyuntikan dibandingkan dengan ikan kontrol.
- Leukosit meningkat dari awal hingga akhir penelitian dan jumlah total leukosit tertinggi dicapai oleh penambahan 750 mg glukukan/kg pakan.
- Pengukuran titer antibodi mencapai puncak pada minggu ke-5 dan menurun pada minggu ke-6. Dilihat dari titer antibodi, pemberian 750 mg glukukan/kg pakan memberi hasil optimal.
- Analisis secara statistik menunjukkan bahwa penambahan glukukan optimum dalam pakan adalah sebesar 773,81 mg glukukan/kg pakan.

DAFTAR PUSTAKA

Anderson, D.P. 1974. Fish immunology. THF Pub. Inc. Ltd. Hongkong. 239 hal.

Anderson, D.P. 1992. Immunostimulants, adjuvants, and vaccine carriers. In fish application to aquaculture. Annual Rev. of Fish Diseases, 2: 281-307.

Carpenter, P.L. 1975. Immunology and serology. Third Ed. W.B. Saunders Co. Philadelphia 345 hal.

Chinabut, S.; Limsuwan and P. Kitsawar. 1991. Histology of the walking catfish (*Clarias batrachus*). AAHRI. Bangkok. Thailand. 96p

Dellman, H.D. and E.M. Brown. 1989. Buku teks histologi veteriner. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta. 279 hal.

Fletcher, T.C. 1982. Non-specific defence mechanisms of fish. Dev. Comp. Immunology. 2: 123.

Hanifa, M. 1993. Tanggap kebal terhadap antigen "Ich" pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) setelah imunisasi dengan antigen *Tetrahymena pyriformis* dan imunostimulan. Skripsi. Universitas Nasional. Jakarta. 53 hal.

Nitimulyo, K. H. dan Triyanto. 1990. Sistem pertahanan dan serologi penyakit ikan. Pelatihan karantina ikan. BPLP Ciawi, Bogor. 29 hal.

Lucky, Z. 1977. Methods for the diagnosis of fish diseases. Amerind Publishing Co. PVT. LTD. New Delhi, Bombay, Calcuta, New York.

Raa, J., Roerstad, G., Engstad, R., and B. Robertsen. 1992. The use of immunostimulants to increase resistance of aquatic organisms to microbial infections In: M. Shariff, R.P. Subangsihe & J.R. Arthur (eds). 1992. Diseases in Asian aquaculture I. Fish Health section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines.

Rastogi, S.C. 1977. Essential of animal physiology. Wiley Eastern Limited. New Delhi, Bangalore, Bombay, Calcuta. hal 204-223.

Roberts, R.J. 1978. Fish pathology. Iowa State University Press, Ames, Iowa. hal 3-10.

Robertsen, B.; G. Roersted; R. Engstad and J. Raa. 1990. Enhancement of non-specific disease resistance in Atlantic salmon (*Salmo salar* L) by a glucan from *Saccharomyces cerevisiae* cell-walls. J. of Fish Diseases. 13: 391.

Rukyani, A. and K.H. Nitimulyo. 1993. Fish vaccination and its prospect for disease control in Indonesia aquaculture. IARD Journal 15(4): 81-85

Rukyani, A.; Tauhid dan K.H. Nitimulyo. 1995. Imunisasi maternal: suatu teknik baru dalam penanggulangan penyakit ikan. Jurnal Litbang Pertanian, XIV(1): 1-5

Supriyadi, H. and A. Rukyani. 1990. Imunopropilaksis dengan cara vaksinasi pada usaha budidaya ikan dalam Rukyani *et al.* (1990) Seminar Nasional II Penyakit Ikan dan Udang Balai Penelitian Perikanan Air Tawar. Bogor

Tizard, I. 1988. An introduction to veterinary immunology. Penerjemah P. Masduki dan S. Hardjosworo.

Pengantar imunologi veteriner. Universitas Airlangga. Surabaya. 197 hal.

Wedemeyer, G. and W.T. Yasutake. 1977. Clinical methods for the assessment of the effects of environmental stress on fish health. United States Department of the Interior Fish and Wildlife Service. Washington, DC.