

RESPON IKAN KERAPU BEBEK, *Cromileptes altivelis* TERHADAP IMUNOSTIMULAN PEPTIDOGLYCAN MELALUI PAKAN PELET

Fris Johnny¹⁾, Isti Koesharyani¹⁾, Des Roza¹⁾, Tridjoko¹⁾, Nyoman Adiasmara Giri¹⁾, dan Ketut Suwirya¹⁾

ABSTRAK

Suatu percobaan untuk meningkatkan kekebalan non-spesifik pada ikan kerapu bebek dengan menggunakan imunostimulan peptidoglycan dalam pakan pelet telah dilakukan di Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut Gondol. Perlakuan konsentrasi imunostimulan yang dicoba adalah: kontrol (A); 0,1 g (B); 0,2 g (C); dan 0,4 g/kg pakan (D). Ikan uji dipelihara dalam bak serat kaca ukuran dua ton yang diisi air laut sebanyak satu ton dan diaerasi dengan menggunakan sistem air mengalir. Aklimatisasi dilakukan selama dua minggu dan pakan pelet diberikan dua kali sehari. Setiap perlakuan menggunakan 15 ekor ikan uji dengan bobot antara 100-250 g. Setiap tiga minggu dilakukan pengambilan darah ikan untuk pengujian tanggap kebal non-spesifik. Parameter yang diamati adalah kepadatan isi sel darah (PCV), tingkat haemoglobin (Hb), aktivitas fagositik (PA), indeks fagositik (PI), dan aktivitas lisosim (LA). Hasil percobaan menunjukkan bahwa pada perlakuan 0,2 g (C) rata-rata PA sebesar 8,80% dan kontrol 2,80%; PI sebesar 2,20 dan kontrol 1,66; LA sebesar 1,92 cm dan kontrol 1,72 cm. Dapat disimpulkan bahwa pemberian imunostimulan peptidoglycan dalam pakan pelet pada ikan kerapu bebek dapat meningkatkan tanggap kebal non-spesifik.

ABSTRACT: *Response of humpback grouper, Cromileptes altivelis on the adaptation of immunostimulant peptidoglycan into pellets. By: Fris Johnny, Isti Koesharyani, Des Roza, Tridjoko, Nyoman Adiasmara Giri, and Ketut Suwirya*

An experiment to increase humpback grouper, non-specific immune response through its pelleted feed supplemented with immunostimulant was conducted at Gondol Research Institute for Mari-culture, Bali. The immunostimulant added was in different concentrations: control (A), 0.1 g (B), 0.2 g (C), and 0.4 g/kg pellet (D). Average indicators of non-specific immune response in 0.2 g (C) concentration, were PA: 8.80% and control 2.80%; PI: 2.20 and control 1.66; and LA: 1.92 cm and control 1.72 cm. The results showed that the addition of immunostimulant peptidoglycan into pellet could increase the non-specific immune response of humpback grouper.

KEYWORDS: *immunostimulant, peptidoglycan, Cromileptes altivelis, pellet*

PENDAHULUAN

Kerapu bebek, *Cromileptes altivelis* merupakan komoditas yang berpotensi untuk dikembangkan karena mempunyai nilai ekonomis tinggi. Di Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut, Bali budi daya ikan ini sudah berhasil dikembangkan sejak tahun 1996 (Aslianti, 1996). Selain sebagai ikan konsumsi juga digunakan sebagai ikan hias pada saat ukuran yuwana, di samping itu harga ikan ini relatif mahal dibandingkan ikan kerapu jenis lainnya.

Di dalam budi daya ikan sering dijumpai masalah terutama penyakit yang menyebabkan kematian baik pada pemeliharaan induk maupun larva yang berasal dari alam dan dikondisikan dalam wadah budi daya dengan penyebab yang belum dapat dipastikan. Kematian pada umumnya terjadi setelah ikan dikondisikan dalam bak penampungan induk selama 6 bulan. Kematian tersebut mungkin disebabkan oleh

atau faktor seperti defisiensi nutrisi sehingga lama-kelamaan ikan menjadi lemah dan rentan terhadap penyakit. Salah satu upaya untuk pencegahannya adalah penggunaan imunostimulan yang dicampurkan dalam pakan. Aplikasi imunostimulan ini sudah banyak diterapkan pada beberapa jenis ikan maupun udang baik melalui pakan maupun melalui suntikan (Yano *et al.*, 1989; Chen & Ainsworth, 1992; Raa *et al.*, 1992; Santarem *et al.*, 1997; Sung *et al.*, 1994; Rukyani *et al.*, 1997; Zafran *et al.*, 1998).

Penggunaan imunostimulan pada ikan telah banyak dilaporkan, di antaranya Yano *et al.*, (1989) melaporkan bahwa penyuntikan schizophyllan, scleroglucan dan lentinan dengan dosis 2-10 mg/kg pada ikan mas, *Cyprinus carpio* meningkatkan PI lebih tinggi dari kontrol. Penyuntikan imunostimulan Schizophyllan b-1,3 glucan dan scleroglucan dengan dosis 2-10 mg/kg dapat meningkatkan kekebalan terhadap infeksi bakteri *Streptococcus* dengan

¹⁾ Peneliti pada Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut, Gondol

meningkatnya aktivitas lisosim pada ikan *yellowtail*, *Seriola quinqueradiata* (Matsuyama *et al.*, 1992). Pada ikan lele, penyuntikan b-1,3 glucan secara intraperitoneal dengan dosis 50 mg dapat mengurangi angka kematian dari infeksi bakteri *Edwardsiella ictaluri* dan meningkatkan fagositik serta kemampuan bakterisidal (Chen & Ainsworth, 1992). Pemberian peptidoglukan 10 mg/kg bobot pada yuwana ikan trout, *Oncorhynchus mykiss* dapat meningkatkan kekebalan dari infeksi bakteri *V. anguillarum* (Matsuo & Miyazono, 1993). Penyuntikan glucan pada ikan salmon dengan dosis 5% dapat meningkatkan daya tahan ikan terhadap infeksi bakteri patogen dan mempertinggi daya proteksi vaksin furunculosis (Jorgensen *et al.*, 1993). Pada ikan salmon, makrofag setelah distimulasi dengan LPS atau laminaran pada dosis 10 mg dapat meningkatkan fagositik dan aktivitas pinositik (Dalmo & Seljelid, 1995). Glucan dapat pula meningkatkan aktivitas lisosim dan memberikan proteksi yang tinggi terhadap infeksi bakteri *V. anguillarum* (Thompson *et al.*, 1995). Penyuntikan dengan kombinasi imunomodulator 10 mg glucan dapat meningkatkan aktivitas lisosim ikan turbot (Santarem *et al.*, 1997). Sedangkan penyuntikan glucan dengan dosis 10 mg setelah vaksinasi pada ikan turbot dapat mempertinggi aktivitas fagositosis (Figueras *et al.*, 1998). Pada ikan lele dumbo, *Clarias spp.*, pemberian b-glucan dengan dosis 750 mg/kg pakan memberikan sintasan sebesar 83,33% dibanding kontrol sebesar 25% (Rukyani *et al.*, 1997).

Percobaan ini bertujuan untuk memperoleh konsentrasi yang efektif untuk meningkatkan ketahanan dan kekebalan ikan terhadap penyakit dengan penambahan imunostimulan pada pakan buatan.

BAHAN DAN METODE

Ikan uji yang digunakan adalah ikan kerapu bebek hasil budi daya dengan bobot 100-250 g. Imunostimulan yang digunakan adalah peptidoglikan yang diekstrak dari bakteri *Bifidobacterium*. Imunostimulan ditambahkan ke dalam pakan pelet sesuai konsentrasi perlakuan (Tabel 1).

Ikan uji dipelihara dalam wadah ukuran 2 ton berisikan air laut sebanyak 1 ton, diaerasi menggunakan sistem air mengalir. Aklimatisasi dilakukan selama dua minggu, pakan pelet diberikan dua kali sehari. Setiap perlakuan menggunakan 15 ekor ikan uji. Konsentrasi perlakuan imunostimulan adalah :

- ♦ Pakan pelet dasar sebagai kontrol (A)
- ♦ Pakan pelet+imunostimulan peptidoglycan 0,1 g/ kg pakan (B)
- ♦ Pakan pelet+imunostimulan peptidoglycan 0,2 g/ kg pakan (C)
- ♦ Pakan pelet+imunostimulan peptidoglycan 0,4 g/ kg pakan (D).

Setiap tiga minggu dilakukan pengambilan darah ikan untuk pengujian tanggap kebal non-spesifik. Percobaan dirancang dalam bentuk Rancangan Acak Lengkap dengan individu sebagai ulangan. Parameter yang diamati adalah kepadatan isi sel darah (PCV), tingkat haemoglobin (Hb), aktivitas fagositik (PA), indeks fagositik (PI), dan aktivitas lisosim (LA).

HASIL DAN BAHASAN

Hasil percobaan penggunaan imunostimulan pada ikan kerapu bebek dengan konsentrasi yang berbeda melalui pakan buatan terhadap karakteristik darah ikan

Tabel 1. Komposisi pakan uji
Table 1. Composition of tested diet

Bahan Ingredient	Persentase/Percentage (%)			
	A	B	C	D
Peptidoglikan (<i>Peptidoglycan</i>)	0.0	0.2	0.4	0.8
Kasein (<i>Casein</i>)	5.4	5.4	5.4	5.4
Tepung ikan (<i>Fish meal</i>)	57.5	57.5	57.5	57.5
Tepung cumi (<i>Squid meal</i>)	14.0	14.0	14.0	14.0
Tepung kedelai (<i>Soybean powder</i>)	10.0	10.0	10.0	10.0
Mineral campuran (<i>Mineral mix</i>)	2.5	2.5	2.5	2.5
Vitamin campuran (<i>Vitamin mix</i>)	2.0	2.0	2.0	2.0
Minyak cumi (<i>Squid oil</i>)	6.0	6.0	6.0	6.0
Astarsantin (<i>Astaxantine</i>)	0.1	0.1	0.1	0.1
CMC	2.5	2.5	2.5	2.5

disajikan pada Tabel 2 dan terhadap tanggap kebal non-spesifik disajikan pada Tabel 3.

Dari Tabel 2 terlihat bahwa kepadatan isi sel darah (PCV) hasil sampling setelah 3 minggu, imunostimulan pada konsentrasi 0,2 g (C) menunjukkan tingkat PCV tertinggi (38,00%) dibanding perlakuan lainnya. Setelah 6 minggu perlakuan, hasil sampling memperlihatkan imunostimulan pada konsentrasi 0,2 g (C) masih pada tingkat tertinggi (35,70%) tetapi mengalami penurunan dari 3 minggu setelah perlakuan, dan secara statistik tidak berbeda nyata antar perlakuan. Untuk tingkat haemoglobin darah (Hb) pada sampling 3 minggu imunostimulan dengan konsentrasi 0,4 g (D) memperlihatkan Hb tertinggi (7,05 g/100 mL) dibanding perlakuan lain, tetapi pada sampling 6 minggu mengalami penurunan dan konsentrasi 0,2 g (C) memperlihatkan Hb yang tertinggi (6,95%) dibanding perlakuan lainnya. Antara kontrol dengan perlakuan berbeda, tetapi secara statistik antar perlakuan tidak berbeda nyata. Dari percobaan ini terlihat bahwa imunostimulan dapat meningkatkan PCV dan Hb. Nabib & Pasaribu (1989) menyatakan

bahwa apabila persentase PCV di bawah 30% dan tingkat kandungan Hb di bawah 8 g/100 mL. maka ikan tersebut tengah mengalami defisiensi eritrosit. Hubungan Hb dengan eritrosit sangat berkaitan erat terutama dalam transportasi gas. Kebanyakan jenis ikan mengandung Hb dalam eritrositnya seperti pada vertebrata lainnya. Oleh karena suhu darah umumnya rendah, banyak oksigen dapat diangkut sebagai larutan sederhana dalam plasma. Alat pengangkutan dari karbon dioksida, cara utamanya melalui komponen bikarbonat dari darah, hingga kemungkinan kombinasi langsung dengan Hb dalam pembentukan gugus karbamino sangat kecil. Dalam hal ini eritrosit ikan mengandung enzim anhidrase karbonil yang memungkinkan perubahan karbon dioksida menjadi bikarbonat. Jelas, apabila ikan mengalami defisiensi eritrosit maka proses transportasi oksigennya akan terganggu (Anderson & Siwicki, 1992).

Pada Tabel 3 terlihat bahwa perlakuan imunostimulan pada konsentrasi 0,2 g (C) aktivitas fagositik (PA), indeks fagositik (PI) dan aktivitas lisosim (LA) setelah 6 minggu perlakuan memberikan hasil yang

Tabel 2. Rata-rata karakteristik darah ikan kerapu bebek menggunakan imunostimulan pada konsentrasi yang berbeda melalui pakan pelet

Table 2. Averages characteristic of haematological *Cromileptes altivelis* with different concentration of immunostimulant in pellet

Perlakuan Treatment	PCV (%)		Hb (g/100 mL)	
	3 minggu 3 weeks	6 minggu 6 weeks	3 minggu 3 weeks	6 minggu 6 weeks
Kontrol/Control (A)	33.00 ± 6.70	25.90 ± 8.29 ^a	5.70 ± 0.27	5.30 ± 0.21 ^a
0.1 g (B)	32.00 ± 2.20	26.10 ± 8.78 ^a	6.70 ± 0.21	6.85 ± 0.55 ^b
0.2 g (C)	38.00 ± 4.00	35.70 ± 1.75 ^b	6.75 ± 0.18	6.95 ± 0.37 ^b
0.4 g (D)	36.00 ± 4.30	28.20 ± 2.89 ^{ab}	7.05 ± 0.27	6.70 ± 0.21 ^b

Angka rata-rata sintasan yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata secara statistik (Values in column followed by the same superscripts are not significantly different) (P>0.05)

Tabel 3. Rata-rata parameter tanggap kebal non-spesifik ikan kerapu bebek menggunakan imunostimulan pada konsentrasi yang berbeda melalui pakan pelet

Table 3. Averages of immune response non specific parameters *Cromileptes altivelis* with different concentration of immunostimulant in pellet

Perlakuan Treatment	Aktivitas Fagositik (%) Phagocytic Activity		Indeks Fagositik (PI) Phagocytic Index		Aktivitas Lisosim (cm) Lysozime Activity	
	3 minggu 3 weeks	6 minggu 6 weeks	3 minggu 3 weeks	6 minggu 6 weeks	3 minggu 3 weeks	6 minggu 6 weeks
Kontrol Control (A)	6.40 ± 2.07	2.80 ± 0.84 ^a	1.32 ± 0.13	1.66 ± 0.23 ^a	0.80 ± 0.05	1.72 ± 0.31 ^{ab}
0.1 g (B)	8.00 ± 2.23	7.80 ± 1.30 ^b	1.62 ± 0.15	2.14 ± 0.17 ^b	0.85 ± 0.10	1.80 ± 0.24 ^{ab}
0.2 g (C)	8.00 ± 1.58	8.80 ± 1.79 ^b	1.52 ± 0.28	2.20 ± 0.10 ^b	0.86 ± 0.08	1.92 ± 0.21 ^b
0.4 g (D)	8.20 ± 1.92	8.40 ± 1.34 ^b	1.64 ± 0.23	2.12 ± 0.15 ^b	0.89 ± 0.05	1.56 ± 0.15 ^a

Angka rata-rata sintasan yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata secara statistik (Values in column followed by the same superscripts are not significantly different) (P>0.05)

lebih tinggi, yaitu PA sebesar 8,80%; PI sebesar 2,20; dan LA sebesar 1,92 cm. Secara statistik berbeda dengan kontrol, tetapi antar perlakuan tidak berbeda secara nyata, hal ini dapat dinyatakan bahwa imunostimulan mempunyai pengaruh terhadap parameter tanggap kebal ikan non-spesifik. Peningkatan ini merupakan suatu indikasi adanya peningkatan kekebalan pada ikan. Perlakuan dosis 0,2 g terhadap PA, PI dan LA memberikan hasil yang lebih tinggi

1998) dan penyuntikan imunostimulan dengan dosis 5 mg/kg meningkatkan LA sebesar 2,2 cm dibanding kontrol sebesar 1,8 cm (Koesharyani *et al.*, 1999).

Kualitas air selama percobaan berlangsung masih berada dalam ambang batas yang layak untuk pemeliharaan ikan kerapu bebek dan tidak berbeda untuk semua perlakuan, data kisaran kualitas air disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Rata-rata parameter kualitas air selama masa percobaan
Table 4. Averages of water quality parameters during experiment

Perlakuan Treatment	Suhu Temperature	DO	Salinitas Salinity	pH	NO ₂	NH ₃
Kontrol Control (A)	24.6-25.1	5.6-7.6	35-36	7.96-8.25	0.010-0.217	0.050-0.495
0.1 g (B)	24.3-25.3	5.6-7.6	35-36	7.97-8.84	0.015-0.067	0.050-0.481
0.2 g (C)	24.0-25.0	5.4-7.0	35-36	7.98-8.25	0.022-0.217	0.056-0.679
0.4 g (D)	24.2-25.2	5.6-6.1	35-36	7.96-8.20	0.041-0.070	0.084-0.485

dibandingkan dengan kontrol dan dosis 0,4 g; diduga karena pada dosis yang rendah (0,1 g) imunostimulan belum menstimulir makrofag untuk fagositosis dan aktivitas lisosim, sedangkan pada dosis yang lebih tinggi (0,4 g) menyebabkan terjadi penekanan mekanisme pertahanan (Anderson, 1996; Secombes, 1996; Yano, 1996) dan pemberian imunostimulan dosis tinggi ataupun rendah akan menjadi supresor (Tizard, 1988) serta peningkatan dosis pemberian imunostimulan tidak selalu memberikan hasil optimal (Raa *et al.*, 1992). Itami *et al.*, (1996) melaporkan bahwa pemberian peptidoglikan dalam pakan dengan dosis 0,2 mg/kg pakan selama 21 hari pada ikan *yellowtail*, *Seriola quinueradiata* meningkatkan tanggap kebal non-spesifik dan setelah ujiantang memberikan sintasan (86%) yang lebih tinggi daripada kontrol sebesar 43%.

Imunostimulan merupakan sekelompok senyawa biologi dan sintesis yang dapat meningkatkan tanggap kebal non-spesifik, sehingga dapat dijadikan alternatif untuk penggunaan vaksin dan antibiotik dalam perlindungan terhadap serangan penyakit. Peptidoglikan merupakan salah satu imunostimulan yang terbuat dari dinding sel jamur, mekanisme kerja imunostimulan diduga dengan cara meningkatkan aktivitas oksidatif netrofil (Raa *et al.*, 1992; Anderson, 1996).

Di Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut, percobaan penggunaan imunostimulan pada ikan kerapu bebek telah dilakukan, di antaranya penggunaan imunostimulan dengan dosis 1% dalam pakan segar ikan lemuru yang dicacah halus dan ditambahkan vitamin campuran memberikan sintasan sebesar 72% dibanding kontrol sebesar 60% (Zafran *et al.*,

KESIMPULAN

Pemberian imunostimulan peptidoglikan dalam pakan pelet dengan konsentrasi 0,2 g/kg pakan pada ikan kerapu bebek merupakan konsentrasi terbaik dan dapat meningkatkan tanggap kebal non-spesifik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih atas bantuan Saudara Slamet Haryanto, Putu Suarjana, dan Sri Suratmi, Teknisi Laboratorium Patologi yang telah membantu dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, D.P. and A.K. Siwicki. 1995. Basic haematology and serology for fish health programs. In: M. Syariff, J.R. Arthur, and R.P. Subasinghe (Eds.). *Diseases in Asian Aquaculture II*. Fish Health Section. Asian Fisheries Society. Manila. Philippines. p.185-202.
- Anderson, D.P. 1996. Environmental factors in fish health: immunological aspects. In: G. Iwama and T. Nakanishi (Eds.). *The Fish Immune System: Organism, Pathogen and Environment*. Academic Press. USA. p. 289-310..
- Aslianti, T. 1996. Pemeliharaan larva kerapu bebek, *Cromileptes altivelis* dengan padat tebar berbeda. *J. Penelitian Perikanan Indonesia* 11(2):6-12.
- Chen, D. and A.J. Ainsworth. 1992. Glucan administration potentiates immune defense mechanism of channel catfish, *Ictalurus punctatus* Rafinesque. *J. Fish Diseases*. 15: 295-304.
- Dalmo, R.A. and R. Seljelid. 1995. The immunomodulatory effect of LPS, laminaran and sulphated laminaran {b(1,3)-D-glucan} on Atlantic

- salmon, *Salmo salar* L., macrophages in vitro. *J. Fish Diseases*. 18: 175-185.
- Figueras, A., M.M. Santarem, and B. Novoa. 1998. Influence of the sequence of administration of b-glucans and *Vibrio damsela* vaccine on the immune response of turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 64: 59-68.
- Itami, T., M. Kando, M. Vazu, A. Sukanuma, T. Abe, A. Nakagawa, N. Suzuki, and Y. Takahashi. 1996. Enhancement of resistance against *Enterococcus serilicida* infection in yellowtail, *Seriola quinqueradiata* (Temminck & Schlegel), by oral administration of peptidoglycan derived from *Bifidobacterium thermophilum*. *J. of Fish Diseases*. 19:185-187.
- Jorgensen, J.B., H. Lunde, and B. Robertsen. 1993. Peritoneal and head kidney cell response to intraperitoneally injected yeast glucan in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *J. Fish Diseases* 16: 313-325.
- Koesharyani, I., Zafran, F. Johnny, dan Tridjoko. 1999. Respon ikan kerapu bebek, *Cromileptes altivelis* terhadap imunostimulan peptidoglycan melalui suntikan. *Laporan Teknis Hasil Penelitian Lolitkanta Gondol*. 5 pp.
- Matsuo, K. and I. Miyazono. 1993. The influence of long-term administration of peptidoglycan on diseases resistance and growth of juvenile Rainbow Trout. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 59(8):1377-1379.
- Matsuyama, H., R.E.P. Mangindaan, and T. Yano. 1992. Protective effect of schizophyllan and scleroglucan against *Streptococcus* sp. infection in yellowtail (*Seriola quinqueradiata*). *Aquaculture*. 101:197-203.
- Nabib, R., dan F.H. Pasaribu. 1989. *Bahan Pengajaran Patologi dan Penyakit Ikan*. Dept. P&K. Ditjen. Pendidikan Tinggi. PAU Bioteknologi-IPB. Bogor. 158 pp.
- Raa, J., G. Roerstad, R. Engstad, and B. Robertsen. 1992. The use of immunostimulants to increase resistance of aquatic organisms to microbial infections. In: I.M. Shariff, R.P. Subasinghe & J.R. Arthur (Eds.). *Diseases in Asian Aquaculture*. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines. p.39-50.
- Rukyani, A., E. Silvia, A. Sunarto, dan Tauhid. 1997. Peningkatan respon kebal non-spesifik pada ikan lele dumbo (*Clarias* spp.) dengan pemberian imunostimulan (b-glucan). *J. Penelitian Perikanan Indonesia* 11(1):1-10.
- Santarem, M., B. Novoa, and A. Figueras. 1997. Effect of b-glucan on the non-specific immune responses of turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Fish and Shellfish Immunology*. 7:429-437.
- Secombes, C.J. 1996. The Nonspecific Immune System; Cellulae Defences. In: G. Iwama and T. Nakanishi (Eds.). *The Fish Immune System: Organism, Pathogen and Environment*. Academic Press. USA. p. 63-95.
- Sung, H.H., G.H. Kou, and Y. L. Song. 1994. Vibriosis resistance induced by glucan treatment in tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Fish Pathology*. 29(1):11-17.
- Thompson, K.D., A. Cachos, and V. Inglis. 1995. Immunomodulating effects of glucans and oxytetracycline in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, on serum lysozyme and protection. In: M. Syarif, J.R. Arthur, and R.P. Subasinghe (Eds.). *Diseases in Asian Aquaculture II*. Fish Health Section. Asian Fisheries Society. Manila. Philippines. p.433-439.
- Tizard, I. 1988. An introduction to veterinary immunology. Penerjemah: P. Masduki dan S. Hardjosworo. *Pengantar Immunologi Veteriner*. Universitas Airlangga. Surabaya. 497 pp.
- Yano, T., R.E.P. Mangindaan, and H. Matsuyama. 1989. Enhancement of the resistance of carp *Cyprinus carpio* to experimental *Edwardsiella tarda* infection, by some b-1,3-glucans. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 55(10):1815-1819.
- Yano, T. 1996. The Nonspecific immune system; humoral defense. In: G. Iwama and T. Nakanishi (Eds.). *The Fish Immune System: Organism, Pathogen and Environment*. Academic Press. USA. p.106-140.
- Zafran, I. Koesharyani, D. Roza, F. Johnny, dan K. Yuasa. 1998. Peningkatan sintasan ikan kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*) dengan penambahan vitamin dan imunostimulan ke dalam pakan segar. Dalam: Sudrajat et al. (1998). *Seminar Teknologi Perikanan Pantai*. Denpasar 6-7 Agustus 1998. p. 164-168.