

Respon Imun Non-spesifik Ikan Tawes (*Barbonymus gonionotus*) melalui Suplementasi β -glucan dan Efektivitasnya terhadap Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Non-specific Immune Response of Tawes Fish (*Barbonymus gonionotus*) Through β -glucan Supplementation and Its Effectiveness Against Goldfish (*Cyprinus carpio*)

Cahyono Purbomartono^{1*}, Arief Prihandoko², Dini Siswani Mulia³, Wakhudin⁴, Beny Widjarnako⁵

¹Program Studi Akuakultur, Fakultas Pertanian dan Perikanan,

^{2,3}Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan

⁴Program Studi Pendidikan Guru Sekolah Dasar, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan

⁵Program Studi Magister Ilmu Sosial, Pasca Sarjana

Universitas Muhammadiyah Purwokerto

Jl. KH. Ahmad Dahlan, PO BOX 202 Purwokerto 53182, Indonesia

*Corresponding author: cpurbomartono@yahoo.com

ABSTRAK

DOI;
[10.30595/jrst.v8i2.21941](https://doi.org/10.30595/jrst.v8i2.21941)

Histori Artikel:

Diajukan:
23/05/2024

Diterima:
17/09/2024

Diterbitkan:
30/09/2024

Ikan tawes (*Barbonymus gonionotus*) merupakan jenis ikan herbivora yang masih berpotensi dikembangkan. Pakan ikan jenis herbivora dapat berasal dari tumbuhan dan turunannya seperti daun talas, ampas tahu dan dedak halus yang banyak terdapat di masyarakat. Bahan baku lokal tersebut bisa dibuat pakan buatan sendiri sebagai substitusi pakan pabrikan (pellet) yang harganya cukup mahal. Sedangkan untuk meningkatkan imunitas diberikan imunostimulan yang berasal dari ekstraksi ragi roti *Saccharomyces cerevisiae* sebagai β -glucan yang diketahui dapat meningkatkan imunitas ikan. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui tingkat efektivitas pemberian diet suplemen β -glucan terhadap imunitas non-spesifik ikan tawes dan ikan mas. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan β -glucan dicampur kedalam pakan masing-masing dengan dosis 2,5; 5; 7,5 dan 10 g kg⁻¹ pakan. Hasil penelitian menunjukkan β -glucan lebih efektif diterapkan pada budidaya ikan tawes yang ditandai dengan besarnya nilai persentase monosit dan neutrofil serta nilai aktivitas aglutinasi dibanding ikan mas. Sedangkan ikan mas hanya unggul pada parameter aktivitas fagositosis dibanding ikan tawes. Hal ini menunjukkan β -glucan dapat digunakan untuk meningkatkan imunitas pada budidaya ikan, namun efektivitasnya lebih baik pada ikan tawes dibanding ikan mas.

Kata Kunci: β -glucan, Imunitas Non-Spesifik, Ikan Tawes dan Ikan Mas

ABSTRACT

Tawes fish (*Barbonymus gonionotus*) is a type of herbivorous fish that still has the potential to be developed. Herbivore fish feed can come from plants and their derivatives such as taro leaves, tofu dregs and fine bran which are widely available in the community. These local raw materials can be made into homemade feed as a substitute for manufactured feed (pellets) which are quite expensive. Meanwhile, to increase immunity, immunostimulants are given which come from the extraction of bread yeast *Saccharomyces cerevisiae* as β -glucan which is known to increase fish immunity. The research used a Completely Randomized Design (CRD) with 4 treatments and 3 replications. The β -glucan treatment was mixed into the respective feed at a dose of 2.5; 5; 7.5 and 10 g kg⁻¹ feed. The results of the research showed that β -glucan was more effectively applied in cultivating tawes fish compared to goldfish as indicated by the value of the percentage of monocytes and

neutrophils as well as agglutination activity values, while goldfish were only superior in phagocytosis activity parameter compared to tawes fish. This shows that β -glucan can be used to increase immunity in fish farming, but its effectiveness is better in tawes fish than goldfish.

Keywords: β -glucan, Non-specific immunity, Tawes fish and Goldfish

1. PENDAHULUAN

Banyak komoditas ikan air tawar yang selama ini sudah dibudidayakan baik untuk penghasil utama maupun sambilan. Namun secara umum keuntungan yang mereka dapat masih relatif kecil. Beberapa kendala misalnya harga pakan yang relatif mahal, pertumbuhan yang masih rendah dan adanya ancaman dan terserang penyakit infeksi. Beberapa kendala tersebut menyebabkan dinamikan dan iklim usaha perikanan kurang berkembang pesat.

Berdasar komoditas, cukup banyak dan beragam jenis ikan yang dapat dibudidayakan untuk penyediaan pangan asal protein hewani dari ikan, namun penting juga untuk mencari komoditas mana yang lebih memberikan keuntungan secara ekonomi. Hal ini mengingat kendala pakan pabrikan (pellet) yang relatif mahal, perlu mempertimbangkan jenis ikan yang dibudidayakan serta didukung dengan *feed additive* (pakan tambahan) yang dapat meningkatkan pertumbuhan dan imunitas ikan agar tidak mudah terserang penyakit. Ikan dari jenis herbivora maupun omnivore masih mungkin dilakukan penghematan pakan melalui substitusi bahan baku pakan lokal yang banyak ditanam masyarakat tani atau produk lokal sederhana yang tersedia di lingkungan seperti ampas tahu dan dedak halus.

Ikan tawes merupakan salah satu komoditas air tawar yang masih berpotensi dikembangkan, disamping bersifat herbivora sehingga pakannya dapat disubstitusi dengan bahan pakan lokal, namun juga di dalam pakannya dapat diberikan imunostimulan untuk meningkatkan imunitas. Bahan pakan lokal seperti daun talas, serta pakan buatan sendiri dari ampas tahu, dedak serta limbah rumah tangga dapat dibuat sebagai pakan lokal yang dicampur imunostimulan untuk ketahanan terhadap penyakit. Salah satu imunostimulan yang mudah dibuat adalah β -glucan yang diekstraksi dari ragi roti *Saccharomyces cerevisiae* (Vermipan®) yang

banyak tersedia di pasaran (toko roti) dengan harga terjangkau bagi petani.

β -glucan merupakan salah satu jenis imunostimulan yang dapat digunakan dalam budidaya perikanan. Berbagai cara dilakukan untuk mendapatkan metode yang tepat dalam aplikasi β -glucan untuk budidaya ikan. Pemberian β -glucan secara suntikan melalui intraperitoneal masih lebih baik dari pemberian secara oral dan perendaman pada ikan nila (Sado *et al.*, 2016). β -glucan mempunyai efektifitas yang lebih unggul karena kapasitas pengikatan terhadap reseptor yang berbeda pada leukosit lebih luas dan beragam yang mengarah pada stimulasi respon imun termasuk aktivitas bakterisida dan kemampuan bertahan hidup pada tingkat sel. β -glucan memberikan sinyal yang pada akhirnya merangsang sel imunokompeten seperti monosit, makrofag, dan neutrofil untuk membunuh patogen melalui fagositosis, ledakan oksidatif, dan aktivitas pembunuhan sitotoksik. Selain itu β -glucan mampu menginduksi ingatan imunologis dan produksi antibodi spesifik secara optimal melalui aktivasi limfosit T dan B (Hadiuzzaman *et al.*, 2022)

Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa perbedaan dosis diet β -glucan berpengaruh nyata terhadap aktivitas fagositosis dan total protein plasma darah ikan nila, tetapi tidak berpengaruh terhadap aktivitas NBT (ledakan pernafasan). Aktivitas fagositosis terbaik dicapai pada dosis β -glucan 10 ppm kg^{-1} pakan dengan nilai aktivitas fagositosis sebesar 37,67 (Hastuti, 2012). Hal yang sama dilaporkan oleh (Hadiuzzaman *et al.*, 2022), β -glucan dapat memodulasi aktivitas fagositik yang dilakukan oleh sel makrofag dan neutrofil untuk meningkatkan profil kekebalan yang lebih kompeten. β -glucan berpotensi meningkatkan resistensi penyakit, angka kelangsungan hidup selama transportasi dan akibat paparan kualitas air yang buruk serta meningkatkan degranulasi neutrofil (Palić *et*

al., 2006). Hal tersebut membuktikan peran dan fungsi β -glukan sebagai imunostimulan yang bersifat imunomodulator dalam meningkatkan imunitas khususnya yang bersifat non-spesifik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh suplementasi diet β -glukan terhadap imunitas non-spesifik ikan tawes dan dibandingkan efektivitasnya terhadap ikan mas.

2. METODE PENELITIAN

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah β -glukan yang berasal dari ragi roti *Saccharomyces cerevisiae* dan ikan tawes (*Barbonymus gonionotus*). Bahan lainnya adalah EDTA, metanol, Giemsa 10%, dan bakteri *Aeromonas hydrophila* 10^8 sel mL^{-1} . β -glukan diperoleh dari ekstraksi ragi roti *Saccharomyces cerevisiae* (Vermipan®). Penelitian ini menggunakan metode eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 ulangan, yaitu:

P0= pakan tanpa diberi β -glukan (kontrol)

P1= penambahan 2,5 g kg^{-1} β -glukan pada pakan

P2= penambahan 5 g kg^{-1} β -glukan pada pakan

P3= penambahan 7,5 g kg^{-1} β -glukan pada pakan

P4= penambahan 10 g kg^{-1} β -glukan pada pakan

2.1 Ekstraksi β -glukan

Ragi roti sebanyak 100 g ditambahkan 600 mL NaOH, dicampur sampai rata. Selanjutnya dipanaskan menggunakan autoclave pada suhu 115°C selama 45 menit dan dibiarkan selama 3 jam. Setelah 3 jam disentrifuse pada 2000 rpm selama 15 menit, disuspensikan dalam air destilasi sebanyak 600 mL, selanjutnya dicuci sebanyak 3 kali. Kemudian ditambahkan 500 mL HCl (3 %), disentrifuse selama 15 menit dan dicuci kembali dengan menggunakan air destilasi sebanyak 3 kali. Endapan pellet yang terakhir dicuci dengan 120 mL H_2O_2 (3%) sebanyak 3 kali dengan menggunakan sentrifuse dingin pada suhu 20°C . Selanjutnya pellet dicuci kembali menggunakan acetone 100 % sebanyak 2 kali. Endapan terakhir kemudian dikeringkan dengan cara dioven pada suhu 56°C . β -glukan

yang sudah kering kemudian disimpan pada lemari es sampai saatnya digunakan. Sebelum digunakan, β glukan terlebih dahulu disuspensikan menggunakan air.

2.2 Formulasi pakan perlakuan

Ekstrak β -glukan masing-masing sesuai dosis perlakuan disuspensikan terlebih dahulu dengan cara dilarutkan dalam 100 mL air pada beaker glass. Campuran yang sudah homogen tersebut kemudian dimasukkan ke dalam sprayer dan disemprotkan pada 1 kg pakan sesuai dengan dosis masing-masing. Pakan tersebut kemudian dikeringanginkan, apabila sudah kering kemudian disimpan pada suhu kamar sampai saatnya digunakan.

2.3 Aklimatisasi Ikan

Aklimatisasi ikan dilakukan selama 7 hari di dalam wadah ember, bertujuan agar ikan beradaptasi terlebih dahulu dengan lingkungan baru maupun dengan pakan pelet yang diberikan.

2.4 Pengambilan Sampel Darah

Pengambilan sampel darah dilakukan pada hari ke-0 (sebelum perlakuan), serta hari ke-6 dan 12 setelah ikan diberi perlakuan melalui vena caudalis. Ikan dibius terlebih dahulu menggunakan minyak cengkeh dengan dosis 1 mL/ 8L air sampai ikan pingsan. *Syringe* dibasahi dengan EDTA sebagai antikoagulan, darah dihisap perlahan sebanyak 1 mL, kemudian dipindahkan ke dalam tabung eppendorf.

2.5 Pengukuran imun non-spesifik

2.5.1 Aktivitas fagositosis

Darah yang diambil dari vena caudalis dimasukkan dalam tabung hematokrit, disentrifuse pada kecepatan 1000 rpm selama 5 menit. Tabung hematokrit dipotong pada batas eritrosit dan leukosit, kemudian bagian leukosit ditampung pada tabung eppendorf. Leukosit sebanyak 100 μL dimasukkan pada sumuran mikropate, kemudian ditambah dengan *Aeromonas hydrophila* (kepadatan 10^8 sel mL^{-1}) dengan volume yang sama, dicampur dengan cara pipeting, kemudian diinkubasi selama 30 menit. Selanjutnya 5 μL sampel diambil dan

diletakkan diatas obyek glas, dibuat preparat ulas dan didiamkan hingga kering angin. Selanjutnya difiksasi dengan ethanol absolut selama 5 menit dan dikering anginkan. Setelah kering angin, selanjutnya diwarnai dengan Giemsa 10% selama 10 menit dan diamati dibawah mikroskop perbesaran 400x. Aktivitas fagositosis dinyatakan dengan jumlah sel yang memfagosit bakteri dibagi 100 sel fagosit yang diamati dikalikan 100%.

2.5.2 Diferensial leukosit

Pengamatan diferensial leukosit dilakukan melalui preparat ulas darah. Setetes darah dituangkan pada gelas obyek dan diulas (digeser) dengan sudut 45° sehingga darah menyebar. Preparat ulas darah dibiarkan kering udara, kemudian difiksasi dengan methanol selama 10-15 menit. Selanjutnya pereparat diwarnai Gieamsa 10% selama 30 menit, dicuci, kemudian dikeringkan. Preparat ulas darah yang telah diwarnai kemudian diamati dan dihitung di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x sampai jumlah 100 sel leukosit.

2.5.3 Aktivitas aglutinasi

Darah ikan yang diambil dari kontrol maupun perlakuan melalui *vena caudalis* dibiarkan mengendap dan kemudian serumnya diambil. Pada mikropate yang telah disiapkan untuk uji, dimasukkan 20 μ L *Phosphat Buffer Saline* (PBS) pada semua sumuran. Pada sumuran pertama ditambahkan 20 μ L serum dan kemudian diencerkan secara berseri ke sumuran 2 dan seterusnya. Pada sumuran terakhir diambil suspensi sebanyak 20 μ L dan dibuang. Selanjutnya pada semua sumuran ditambahkan 20 μ L suspensi bakteri, microplate digoyang-goyangkan hingga tercampur homogen dan dibiarkan selama 1 jam pada suhu ruang. Titer aglutinasi dapat dibaca langsung namun apabila proses

aglutinasi belum terbentuk endapan dapat diinkubasi pada suhu 4°C semalam. Titer antibodi positif ditandai dengan terdapat endapan atau gumpalan pada dasar sumuran (Hastuti, 2012).

2.6 Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis menggunakan *Analysis of variance* (ANOVA) pada tingkat kepercayaan 95% dengan menggunakan program SPSS. Apabila terdapat perlakuan yang signifikan maka dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan (DMRT).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian mengenai pengaruh pemberian immunostimulan β -glucan melalui pakan terhadap respon imun non-spesifik pada ikan mas dan tawes (*Barbonymus gonionotus*) bertujuan untuk meningkatkan imunitas serta efektivitasnya. Parameter utama yang digunakan pada penelitian ini yaitu parameter pemeriksaan aktivitas fagositosis, hematologi diferensial leukosit dan aglutinasi. Diferensial leukosit yang diamati adalah komponen sel-sel leukosit yang meliputi persentase monosit dan neutrofil.

3.1 Aktivitas fagositosis

Aktivitas fagositosis terlibat dalam membersihkan dan mengelimanisi pathogen dalam tubuh ikan maupun krustasea. Pembersihan dilakukan oleh sel-sel fagosit makrofag dan neutrofil dengan melakukan ledakan respirasi (*respiratory burst*). Ledakan respirasi difokuskan untuk membunuh pathogen atau benda yang dianggap asing. Tabel berikut menunjukkan nilai rerata aktivitas fagositosis ikan mas dan tawes setelah diberi pakan dengan penambahan β -glucan selama 12 hari.

Tabel 1. Aktivitas fagositosis (%) pada hari ke-0, 6 dan 12 setelah suplementasi β -glucan

Perlakuan	Penelitian hari ke-					
	0 (awal)		6		12	
	Ikan mas*	Tawes	Ikan mas	Tawes	Ikan mas	Tawes
P0	13,00 $\pm$ 2,64 ^a	5,00 $\pm$ 5,29 ^a	11,33 $\pm$ 3,05 ^a	10,33 $\pm$ 10,11 ^a	20,33 $\pm$ 6,51 ^a	18,33 $\pm$ 2,08 ^a

P1	23,00 $\pm$ 4,58 ^b	1,33 $\pm$ 0,57 ^a	20,33 $\pm$ 4,51 ^b	11,00 $\pm$ 3,60 ^a	22,00 $\pm$ 6,00 ^a	21,67 $\pm$ 6,42 ^a
P2	18,67 $\pm$ 4,16 ^{ab}	7,33 $\pm$ 2,51 ^a	22,67 $\pm$ 6,03 ^b	18,00 $\pm$ 2,64 ^a	24,67 $\pm$ 6,03 ^a	24,67 $\pm$ 2,51 ^a
P3	19,67 $\pm$ 7,02 ^{ab}	2,33 $\pm$ 1,15 ^a	19,00 $\pm$ 4,36 ^{ab}	12,00 $\pm$ 5,00 ^a	25,33 $\pm$ 3,51 ^a	33,00 $\pm$ 11,53 ^a
P4	19,33 $\pm$ 5,50 ^{ab}	5,33 $\pm$ 4,50 ^a	15,00 $\pm$ 4,36 ^{ab}	13,00 $\pm$ 2,64 ^a	25,00 $\pm$ 2,00 ^a	32,00 $\pm$ 11,26 ^a

Keterangan: P0: Kontrol, P1: 2,5 g kg⁻¹ pakan, P2: 5 g kg⁻¹ pakan, P3: 7,5 g kg⁻¹ pakan, P4: 10 g kg⁻¹ pakan. Nilai dengan superscript yang sama pada kolom menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji DMRT dengan kepercayaan 5% (P>0,05). *(Purbomartono *et al.*, 2021).

Berdasarkan hasil penelitian (Tabel. 1), suplementasi β -glucan terhadap aktivitas fagositosis hari ke-6 berpengaruh signifikan dengan dosis 2,5 (P1) dan 5 g kg⁻¹ (P2) pada ikan mas. Sedangkan hari ke-6 pada ikan tawes aktivitas fagositosis tidak signifikan namun nilainya lebih tinggi dibanding kontrol mulai dosis 2,5 g kg⁻¹ (P1). Pada hari ke-12 aktivitas fagositosis mempunyai pola yang sama dengan hari ke-6 yang ditunjukkan adanya kenaikan sekalipun tidak signifikan baik pada ikan mas maupun tawes mulai dosis 2,5 g kg⁻¹ (P1). Pola kenaikan aktivitas yang sama pada ikan mas dan tawes diduga kuat karena pengaruh suplementasi β -glucan sekalipun besaran nilai aktivitasnya berbeda namun lebih tinggi pada ikan mas dengan dosis optimal 5 g kg⁻¹ pakan (P2).

(Jamal *et al.*, 2013) dalam laporannya menunjukkan, pemberian β -glucan melalui injeksi berpengaruh signifikan terhadap aktivitas fagositosis dengan dosis optimal 10 g kg⁻¹. β -glucan terbukti dapat menguatkan sistem imun non-spesifik yang ditunjukkan oleh kemampuan ikan dalam aktivitas aglutinasi, peningkatan resistensi, ketahanan terhadap penyakit dan meningkatnya jumlah leukosit. Selain pada ikan, suplementasi β -glucan juga dapat meningkatkan respon imun non-spesifik pada avertebrata melalui mekanisme aktivitas hemosit yang serupa dengan aktivitas aglutinasi pada vertebrata.

Hasil penelitian (Novriadi & Ibtisam, 2014), membuktikan avertebrata dari kelompok artemia yang direndam dengan larutan β -glucan mampu melindungi artemia dari infeksi mikroorganisme patogen, aktivasi komponen *Prophenoloxidase* (proPO) dan *Phenoloxidase* (PO). ProPO dan PO merupakan bagian sistem pertahanan tubuh yang sangat penting pada artemia dan avertebrata pada

umumnya serta terbukti mampu membangkitkan sistem pertahanan tubuh. Beberapa aplikasi *immune priming* dengan menggunakan senyawa pembangkit sistem imun seperti β -glucan mampu meningkatkan aktivitas sistem imun non-spesifik avertebrata baik komponen selular maupun humoral.

Selanjutnya (Hadiuzzaman *et al.*, 2022) melaporkan, pemberian β -glucan berperan dalam *signaling* sel imunokompeten yang menginduksi aktivitas fagositosis dan ledakan oksidatif yang menunjukkan respon leukosit seperti monosit, makrofag, dan neutrofil untuk membunuh patogen. Konsekuensi aktivitas fagositosis menyebabkan pengenalan pola antigen yang menghasilkan ingatan imunologis dan antibodi spesifik melalui aktivasi limfosit T dan B. Hal ini membuktikan bahwa β -glucan dapat memodulasi jumlah hemosit total, aktivitas fagositik, aktivitas dan ledakan oksidatif yang memberikan profil imunitas lebih kompeten untuk organisme akuatik. Hasil penelitian serupa menunjukkan, suplementasi 0,05% β -1,3/1,6 glucan memberikan efek imunostimulasi yang lebih besar selama 4 minggu perlakuan. Aktivitas fagositosis leukosit meningkat signifikan (p < 0,05) seiring dengan pengujian ledakan oksidatif menggunakan *nitroblue tetrazolium* (Nbt). Hal ini membuktikan penggunaan 0,05% β -1,3/1,6 glucan yang ditambahkan kedalam pellet dapat meningkatkan sistem kekebalan non-spesifik ikan lele *I. punctatus* (Sánchez-Martínez *et al.*, 2017).

3.2 Persentase monosit

Monosit merupakan komponen dari leukosit yang beredar dalam sirkulasi darah perifer. Pada kondisi infeksi patogen dan kerusakan jaringan, monosit melakukan marginasi dan diapedesis menuju daerah

kerusakan jaringan akibat tarikan *chemotaxis* neutrofil dan butiran kerusakan sel atau jaringan. Diapedesis monosit kedalam daerah kerusakan berubah menjadi makrofag untuk menjalankan tugas Aktivitas fagositosis dalam membunuh pathogen. Bersamaan dengan neutrofil, makrofag menjadi andalan utama

dalam mempertahankan daerah infeksi dari serangan pathogen. Patogenesis wilayah infeksi sangat tergantung pada kemampuan aktivitas fagositosis makrofag yang berasal dari monosit serta infiltrasi neutrofil.

Tabel 2. Persentase monosit (%) pada hari ke-0, 6 dan 12 setelah suplementasi β -glucan

Perlakuan	Penelitian hari ke-					
	0 (awal)		6		12	
	Ikan mas*	Tawes	Ikan mas	Tawes	Ikan mas	Tawes
P0	3,70 $\pm$ 0,10 ^{ab}	2,10 $\pm$ 0,98 ^a	3,63 $\pm$ 0,78 ^a	5,66 $\pm$ 5,99 ^a	2,00 $\pm$ 0,55 ^a	2,63 $\pm$ 0,90 ^a
P1	4,03 $\pm$ 0,25 ^{ab}	2,90 $\pm$ 0,60 ^a	2,20 $\pm$ 0,00 ^a	2,10 $\pm$ 0,69 ^a	1,63 $\pm$ 0,20 ^a	3,23 $\pm$ 2,15 ^a
P2	3,87 $\pm$ 0,21 ^{ab}	4,00 $\pm$ 2,40 ^a	2,30 $\pm$ 1,56 ^a	4,20 $\pm$ 0,75 ^a	2,33 $\pm$ 0,65 ^a	3,26 $\pm$ 2,38 ^a
P3	4,30 $\pm$ 0,46 ^b	2,23 $\pm$ 0,65 ^a	1,67 $\pm$ 0,55 ^a	1,93 $\pm$ 0,15 ^a	1,53 $\pm$ 0,23 ^a	1,86 $\pm$ 0,72 ^a
P4	3,43 $\pm$ 0,50 ^a	1,86 $\pm$ 0,55 ^a	2,57 $\pm$ 1,53 ^a	1,60 $\pm$ 0,36 ^a	1,60 $\pm$ 0,17 ^a	5,60 $\pm$ 2,00 ^a

Keterangan: P0: Kontrol, P1: 2,5 g kg⁻¹ pakan, P2: 5 g kg⁻¹ pakan, P3: 7,5 g kg⁻¹ pakan, P4: 10 g kg⁻¹ pakan. Nilai dengan superscript yang sama pada kolom menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji DMRT dengan kepercayaan 5% (P>0,05). *(Purbomartono *et al.*, 2021).

Berdasarkan data hasil perhitungan rerata persentase monosit pada Tabel 2, mulai hari ke-6 setelah penambahan β -glucan baik pada ikan mas dan tawes persentase monosit meningkat. Aktivitas fagositosis pada ikan mas persentasenya lebih tinggi dari ikan tawes, sebaliknya besaran nilai persentase monosit lebih tinggi pada ikan tawes dibanding ikan mas. Namun demikian pola kenaikan persentase monosit sama, makin tinggi dosis β -glucan yang diberikan maka persentase monosit semakin besar juga pada kedua ikan. Hal ini membuktikan β -glucan pada ikan mas dan tawes berpengaruh terhadap besaran nilai persentase monosit dengan dosis optimal 5 g kg⁻¹ pakan (P2). Menurut (Rodrigues *et al.*, 2020), pemberian β -glucan melalui berbagai cara seperti perendaman, melalui pakan (oral) dan injeksi, terbukti merangsang berbagai aspek respons imun non-spesifik.

β -glucan mampu menginduksi mekanisme resistensi terhadap ancaman, infeksi dan tekanan lingkungan. Hal ini membuktikan β -glucan yang diberikan melalui berbagai cara bersifat imunomodulator, terbukti meningkatkan imunitas pada

budidaya perikanan komersial melalui kenaikan jumlah hemosit pada avertebrata (Muahiddah & Diamahesa, 2023), jumlah eritrosit (sel darah merah), dan jumlah leukosit seperti persentase monosit (Rachmawati *et al.*, 2021). Hal ini diperkuat oleh (Anjani *et al.*, 2021), penambahan 3 g kg⁻¹ ragi tempe melalui pakan memberikan efek positif terhadap imunitas non-spesifik ikan gabus yang ditandai dengan peningkatan gambaran darah eritrosit dan leukosit yang tersusun atas persentase monosit.

Selanjutnya (Hadiuzzaman *et al.*, 2022) menyatakan, peningkatan aktivitas fagositosis berkorelasi dengan ledakan oksidatif yang meningkat. Aktivitas fagositosis dilakukan oleh sel-sel makrofag yang berasal dari monosit pada sistem sirkulasi darah perifer. (Kühlwein *et al.*, 2014) membuktikan suplementasi β -glucan 1 dan 2% (MacroGard 1% dan 2%) melalui pakan dapat meningkatkan fraksi monosit darah secara signifikan. Selain itu menyebabkan peningkatan leukosit intraepitel di usus anterior yang mengindikasikan terjadinya respon imun lokal. Hasil penelitian ini menunjukkan penguatan imunitas setelah

penambahan inklusi β -glucan melalui pakan serta dapat meningkatkan kinerja pertumbuhan tanpa dampak negatif pada indikator kesehatan. Pendapat serupa disampaikan oleh (Şahan & Duman, 2010), ikan yang diberi β -glucan ($p < 0,05$) persentase monosit, neutrofil, hematocrit (Hct) dan leukosit (sel darah putih/WBC) meningkat namun tidak ada perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) untuk jumlah hemoglobin (Hb) dan sel darah merah (eritrosit/RBC).

3.3 Persentase neutrofil

Neutrofil merupakan jenis sel darah putih atau leukosit yang berperan melakukan fagositosis bersama leukosit lain seperti makrofag dan eosinofil. Fagositosis merupakan barisan terdepan dalam melawan infeksi patogen sebelum berlanjut pada mekanisme imunitas spesifik. Aktivitas fagositosis sangat menentukan pathogenesis infeksi, apakah penyakitnya dapat berhenti atau berlanjut. Tabel 3 memperlihatkan nilai rerata persentase neutrofil ikan mas dan tawes setelah diberi pakan dengan penambahan β -glucan selama 12 hari berturut-turut.

Tabel 3. Persentase neutrofil (%) pada hari ke-0, 6 dan 12 setelah suplementasi β -glucan

Perlakuan	Penelitian hari ke-					
	0 (awal)		6		12	
	Ikan mas*	Tawes	Ikan mas	Tawes	Ikan mas	Tawes
P0	11,60 $\pm$ 1,85 ^a	5,30 $\pm$ 2,68 ^a	20,77 $\pm$ 6,04 ^b	3,73 $\pm$ 2,01 ^a	7,90 $\pm$ 0,43 ^a	19,30 $\pm$ 1,90 ^a
P1	13,96 $\pm$ 0,55 ^{ab}	10,86 $\pm$ 0,47 ^{ab}	19,40 $\pm$ 2,36 ^b	7,00 $\pm$ 0,72 ^{bc}	11,43 $\pm$ 2,81 ^a	29,40 $\pm$ 8,37 ^{bc}
P2	12,60 $\pm$ 2,35 ^{ab}	18,73 $\pm$ 4,47 ^b	15,63 $\pm$ 1,65 ^{ab}	14,63 $\pm$ 4,55 ^d	19,40 $\pm$ 5,14 ^b	30,60 $\pm$ 8,06 ^c
P3	14,16 $\pm$ 1,40 ^{ab}	14,50 $\pm$ 7,76 ^b	9,13 $\pm$ 1,40 ^a	10,66 $\pm$ 4,04 ^{cd}	19,90 $\pm$ 2,50 ^b	20,46 $\pm$ 2,75 ^{bc}
P4	14,60 $\pm$ 0,45 ^b	15,36 $\pm$ 4,46 ^b	15,50 $\pm$ 4,15 ^{ab}	10,96 $\pm$ 3,61 ^{cd}	22,87 $\pm$ 1,95 ^b	48,26 $\pm$ 4,18 ^d

Keterangan: P0: Kontrol, P1: 2,5 g kg⁻¹ pakan, P2: 5 g kg⁻¹ pakan, P3: 7,5 g kg⁻¹ pakan, P4: 10 g kg⁻¹ pakan. Nilai dengan superscript yang sama pada kolom menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji DMRT dengan kepercayaan 5% ($P > 0,05$). *(Purbomartono *et al.*, 2021).

Mulai hari ke-6 setelah suplementasi β -glucan persentase neutrofil signifikan pada ikan tawes namun sebaliknya tidak signifikan pada ikan mas dan bahkan nilainya menurun (Tabel 3). Namun pada hari ke-12 mulai terlihat pola yang serupa, dengan dosis suplementasi β -glucan yang meningkat juga menyebabkan persentase neutrofil meningkat pula secara signifikan baik pada ikan mas dan tawes dengan dosis optimalnya 5 g kg⁻¹ pakan (P2). Sebagaimana dilaporkan (Şahan & Duman, 2010), membuktikan ikan mas yang terinfeksi ektoparasit dan kemudian diberi pakan pelet yang mengandung β -glucan 0,3% selama 30 hari menyebabkan persentase neutrofil meningkat di antara jenis sel leukosit lainnya. Peningkatan persentase neutrofil menyumbang pada kenaikan jumlah leukosit secara signifikan dibanding kontrol ($p < 0,05$)

dan besarnya sintasan 91,12% dibanding kontrol yang hanya 77,78%.

Menurut hasil penelitian (Palić *et al.*, 2006), penambahan β -glucan terbukti menjadi stimulan degranulasi yang kuat dan cepat (80%, 2 menit). β -glucan meningkatkan degranulasi neutrofil leukosit ikan serta mencegah pathogenesis infeksi. Degranulasi yang efisien dan efektif menyebabkan sekresi zat antimikroba sehingga proses dan mekanisme imunitas non-spesik menjadi lebih baik setelah 3 hari pemberian diet β -glucan. Diet β -glucan ikan sebelum dan selama stres kronis dapat meningkatkan fungsi neutrofil, resistensi penyakit, tingkat kelangsungan hidup selama transportasi dan pada kondisi kualitas air yang buruk. Hal ini ditunjukkan pada ikan yang terpapar pada tekanan lingkungan namun respon imunitas leukosit

neutrofil tetap baik setelah diberikan beberapa jenis imunomodulator yang berbeda.

Para peneliti telah membuktikan bahwa β -glucan dapat memodulasi aktivitas fagositik yang memberikan profil kekebalan yang lebih kompeten (Hadiuzzaman *et al.*, 2022). Aktivita fagositik dilakukan oleh sel makrofag dan neutrofil yang mengindikasikan peningkatan persentase neutrofil disamping makrofag. β -glucan terbukti meningkatkan pembentukan perangkap ekstraseluler neutrofil (NETs) yang diisolasi dari ginjal untuk meningkatkan jebakan *A. hydrophila* (Palić *et al.*, 2006). Peningkatan NETs membutuhkan jumlah neutropil yang meningkat melalui induksi β -glucan. Neutrofil juga memodulasi pelepasan zat antimikroba dan sitotoksik degranulasi neutrofil di dalam fagosom atau ke dalam ruang ekstraseluler (Xiong *et al.*, 2021). Zat antimikroba akibat degranulasi neutrofil mampu menekan infiltrasi mikroorganisme dan pathogenesis infeksi agar tidak menimbulkan kerusakan yang lebih besar (Drescher & Bai, 2013).

3.4 Aktivitas aglutinasi

Aktivitas aglutinasi merupakan aktivitas yang terjadi akibat reaksi antigen dengan antibodi *compatible* alami sehingga menimbulkan endapan. Reaksi yang sama bisa terjadi akibat pola respon imun non-spesifik yang konsisten/lestari seperti misalnya setelah diberikan suplementasi β -glucan yang kemudian menginduksi respon spesifik untuk memenuhi kenerja imunitas lanjutan (spesifik). Bagian dari β -glucan yang berikatan dengan reseptor pada limfosit T memberikan sinyal induksi yang mengarah pada pengaturan sistim imun non-spesifik menuju spesifik

melalui mediator sitokin (interleukin = IL) yang pada akhirnya bisa memproduksi antibodi dan sel memori.

Hasil penelitian menunjukkan (Tabel 4), aglutinasi sudah terjadi saat sebelum diberikan β -glucan. Hal ini bisa terjadi karena adanya infeksi alami terhadap pathogen tertentu sehingga dalam plasma atau serum terjadi aglutinasi. Suplementasi β -glucan menurut (Ahsani, 2014) tidak hanya menginduksi imun non-spesifik namun memfasilitasi respon imun spesifik dengan cara menstimuli limfosit B menjadi sel plasma dan sel memori. Sel plasma inilah yang menghasilkan antibodi sesuai pengiduksinya dalam hal ini β -glucan sehingga meningkatkan aktivitas terjadinya aglutinasi. Pada penelitian ini, aglutinasi terjadi pada semua perlakuan dengan titer yang meningkat seiring naiknya dosis β -glucan.

Selanjutnya (Goodridge *et al.*, 2009) menyatakan, dalam fungsi utamanya β -glucan berperan sebagai imunitas non-spesifik (*innate immune system*), namun demikian pada kondisi patogenesis lanjutan dapat menginduksi imun spesifik (*acquired immunity*) untuk menghasilkan antibodi. Antibodi dibutuhkan sebagai predisposisi pada keadaan infeksi yang mengharuskan terjadi aglutinasi untuk memudahkan fagositosis. Dalam mekanisme dan prosesnya, antibodi dapat berikatan secara kompatibel dengan antigen yang ada dan menghasilkan gumpalan yang mengedap. Hal ini bisa terlihat pada dosis β -glucan yang lebih tinggi menghasilkan titer antibodi atau terbentuknya gumpalan atau endapan yang lebih besar.

Tabel 4. Aktivitas aglutinasi pada hari ke-0, 6 dan 12 setelah suplementasi β -glucan

Perlakuan	Penelitian hari ke-					
	0 (awal)		6		12	
	Ikan mas	Tawes	Ikan mas	Tawes	Ikan mas	Tawes
P0	+2	+6	+4	+8	+4	+7
	+3	+5	+3	+3	+3	+8
	+3	+5	+2	+8	+2	+8

Perlakuan	Penelitian hari ke-					
	0 (awal)		6		12	
Rerata	2,67	5,33	3	6,33	3	7,67
P1	+2	+5	+2	+7	+2	+8
	+3	+5	+3	+7	+3	+9
	+2	+8	+3	+7	+3	-
Rerata	2,33	6	2,67	7	2,67	5,67
P2	+2	+9	+5	+5	+5	+8
	+2	+9	+5	-	+3	+9
	+4	+7	+2	+9	+3	+8
Rerata	2,67	8,33	4	4,67	3,67	8,33
P3	+2	+7	+5	-	+5	+8
	+2	+7	+5	+4	+5	+7
	+2	+11	+2	+4	+4	+8
Rerata	2	8,33	4	2,67	3	7,67
P4	+2	+11	+5	+5	+5	-
	+4	+11	+5	+6	+6	+10
	+3	+8	+4	-	+5	+9
Rerata	3	10	4,67	3,67	5,33	6,33

Keterangan: P0: Kontrol, P1: 2,5 g kg⁻¹ pakan, P2: 5 g kg⁻¹ pakan, P3: 7,5 g kg⁻¹ pakan, P4: 10 g kg⁻¹ pakan. Nilai dengan superscript yang sama pada kolom menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji DMRT dengan kepercayaan 5% (P>0,05). *(Purbomartono *et al.*, 2021).

Proses pembentukan antibodi distimulasi adanya pathogen yang masuk atau karena pemberian imunostimulan. β -glucan sebagai imunostimulan dapat meningkatkan beberapa parameter imun non-spesifik seperti total protein plasma yang terdiri dari protein globulin atau immunoglobulin yang merupakan antibodi spesifik. Antibodi yang terbentuk sebagai respon imunostimulan dari bahan alami tersebut (β -glucan) mampu menahan serangan penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila* maupun penyakit Vibriosis yang disebabkan oleh *Vibrio parahaemolyticus*. Hal ini ditunjukkan dengan meningkatkan *survival rate* dibanding dengan ikan yang tidak diberikan imunostimulan

(Muahiddah & Diamahesa, 2023). Selanjutnya (Hastuti, 2012) melaporkan, suplementasi β -glucan dapat meningkatkan respon pembentukan antibodi yang ditandai dengan tingkat aglutinasi yang lebih tinggi terhadap penggumpalan bakteri secara in vitro.

Selain pada ikan, β -glucan juga dapat digunakan untuk meningkatkan pertahanan krustasea (anvertebrata). Meskipun krustasea umurnya relatif singkat dan kompleksitasnya lebih rendah namun dapat mendeteksi benda asing. Krustasea mampu mengenali karakteristik dinding sel jamur seperti β -glucan yang dapat mengaktifkan fungsi seluler defensif seperti enkapsulasi, koagulasi atau aglutinasi. β -glucan pengikat protein (BGBP) berikatan dengan β -glucan dapat menginduksi

degranulasi dan aktivasi profenoloksidase (proPO). BGBP menstimulasi fungsi seluler hanya setelah bereaksi dengan β -glucan, menyerupai aktivitas sekunder antibodi dan aglutinasi pada vertebrata (Vargas-Albores & Yepiz-Plascencia, 2000)

4. KESIMPULAN

Suplementasi β -glucan dapat meningkatkan imunitas non-spesifik pada ikan tawes dan ikan mas. Suplementasi β -glucan lebih efektif pada budidaya ikan tawes yang ditandai dengan persentase monosit, persentase neutrofil dan nilai aktivitas aglutinas yang lebih tinggi dibanding pada ikan mas. Sebaliknya pada ikan mas hanya lebih baik pada aktivitas fagositosis dibanding ikan tawes. β -glucan dapat digunakan untuk budidaya ikan melalui peningkatan imunitas, namun lebih efektif pada ikan tawes dibanding ikan mas.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada LPPM UMP yang telah mendanai penelitian ini. Terimakasih juga disampaikan kepada Ketua Program Studi Pendidikan Biologi FKIP yang telah memberikan ijin dan fasilitas penelitian, laboratorium termasuk mahasiswa, yaitu Mas Arief Prihandoko dan Mas Yusuf Aditya. Tidak lupa kepada Pak Suwarno dan para mahasiswa lainnya yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu namanya atas segala bantuan teknis di laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahsani, D. N. (2014). Respon Imun Pada Infeksi Jamur. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan Indonesia*, 6(2), 55.
- Anjani, T. P., Wahjuningrum, D., Nuryati, S., & Khasani, I. (2021). The Evaluation of the Addition of Commercial Yeast with β - Glucan Content in Feed on the Immunity of Snakehead Fish *Channa striata* Infected by *Aeromonas hydrophila* Bacteria. *Journal of Aquaculture and Fish Health*, 10(2), 155. <https://doi.org/10.20473/jafh.v10i2.22766>
- Barera, A., Buscemi, S., Monastero, R., Caruso, C., Caldarella, R., Ciaccio, M., & Vasto, S.

(2016). β -glucans: Ex vivo inflammatory and oxidative stress results after pasta intake. *Immunity and Ageing*, 13(1), 1–6. <https://doi.org/10.1186/s12979-016-0068-x>

- Cornet, V., Khuyen, T. D., Mandiki, S. N. M., Betoulle, S., Bossier, P., Reyes-López, F. E., Tort, L., & Kestemont, P. (2021). GAS1: A New β -Glucan Immunostimulant Candidate to Increase Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Resistance to Bacterial Infections With *Aeromonas salmonicida* achromogenes. *Frontiers in Immunology*, 12(July), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.693613>
- Dou, X., Huang, H., Li, Y., Deng, J., & Tan, B. (2023). Effects of dietary β -glucan on growth rate, antioxidant status, immune response, and resistance against *Aeromonas hydrophila* in genetic improvement of farmed tilapia (GIFT, *Oreochromis niloticus*). *Aquaculture Reports*, 29(January), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2023.101480>
- Drescher, B., & Bai, F. (2013). Neutrophil in viral infections, Friend or foe? *Virus Research*, 171(1), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2012.11.002>
- Goodridge, H. S., Wolf, A. J., & Underhill, D. M. (2009). B-Glucan Recognition By the Innate Immune System. *Immunological Reviews*, 230(1), 38–50. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2009.00793.x>
- Hadiuzzaman, M., Moniruzzaman, M., Shahjahan, M., Bai, S. C., Min, T., & Hossain, Z. (2022). β -Glucan: Mode of Action and Its Uses in Fish Immunomodulation. *Frontiers in Marine Science*, 9(July), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.905986>
- Hastuti, S. D. (2012). Suplementasi β -glucan dari ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*) dalam pakan terhadap aktivitas fagositosis, aktivitas NBT, total protein plasma dan aktivitas aglutinasi darah

- ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Depik*, 1(3), 149–155.
- Hermans, L., De Pelsmaeker, S., Denaeghel, S., Cox, E., Favoreel, H. W., & Devriendt, B. (2021). β -Glucan-Induced IL-10 Secretion by Monocytes Triggers Porcine NK Cell Cytotoxicity. *Frontiers in Immunology*, 12(February), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.634402>
- Jamal, I. N., Tumbol, R. A., & Mangindaan, R. E. . (2013). The use of β -glucan extracted from baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) to increase non-specific immune system and resistance of tilapia (*Oreochromis niloticus*) to *Aeromonas hydrophila*. *Aquatic Science & Management*, 98(Mei), 92. <https://doi.org/10.35800/jasm.0.0.2013.2288>
- Kühlwein, H., Merrifield, D. L., Rawling, M. D., Foey, A. D., & Davies, S. J. (2014). Effects of dietary β -(1,3)(1,6)-D-glucan supplementation on growth performance, intestinal morphology and haemato-immunological profile of mirror carp (*Cyprinus carpio* L.). *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 98(2), 279–289. <https://doi.org/10.1111/jpn.12078>
- Machuca, C., Méndez-Martínez, Y., Reyes-Becerril, M., & Angulo, C. (2022). Yeast β -Glucans as Fish Immunomodulators: A Review. *Animals*, 12(16), 1–24. <https://doi.org/10.3390/ani12162154>
- Moleko, A., Sinjal, H. J., & Manoppo, H. (2014). Kelangsungan Hidup Larva Ikan Nila yang Berasal Dari Induk yang Diberi Pakan Berimunostimulan. *E-Journal BUDIDAYA PERAIRAN*, 2(3), 17–23. <https://doi.org/10.35800/bdp.2.3.2014.5699>
- Muahiddah, N., & Diamahesa, W. A. (2023). The use of garlic (*Allium sativum*) as an immunostimulant in akuakultur. *Journal of Fish Health*, 3(1), 11–18. <https://doi.org/10.29303/jfh.v3i1.2751>
- Novriadi, R., & Ibtisam. (2014). Aktivasi Sistem Imun Artemia Melalui Suplementasi β -glukan. *Omni-Akuatika*, 13(19), 92–102.
- Palić, D., Andreasen, C. B., Herolt, D. M., Menzel, B. W., & Roth, J. A. (2006). Immunomodulatory effects of β -glucan on neutrophil function in fathead minnows (*Pimephales promelas* Rafinesque, 1820). *Developmental and Comparative Immunology*, 30(9), 817–830. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2005.11.004>
- Purbomartono, C., Aditya, Y., Mulia, D. S., Wuliandari, J. R., & Husin, A. (2021). Respon Imun Non-Spesifik Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.) yang Diberi β -Glukan Melalui Diet Pakan. *Sainteks*, 17(2), 115. <https://doi.org/10.30595/sainteks.v17i2.8970>
- Qiao, Y., Han, F., Lu, K., Zhou, L., Rombenso, A., & Li, E. (2023). Physiological Response , and Gut Microbiota of Pacific White. *Animals*, 13(3778), 2–16.
- Qiao, Y., Zhou, L., Qu, Y., Lu, K., Han, F., & Li, E. (2022). Effects of Different Dietary β -Glucan Levels on Antioxidant Capacity and Immunity, Gut Microbiota and Transcriptome Responses of White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) under Low Salinity. *Antioxidants*, 11(11), 1–16. <https://doi.org/10.3390/antiox11112282>
- Rachmawati, D., Setyobudi, R. H., Burlakovs, J., Elfitasari, T., & Purnomo, A. H. (2021). Impacts of Immunostimulant Yeast (. 14(2), 297–302.
- Rodrigues, M. V., Zanuzzo, F. S., Koch, J. F. A., de Oliveira, C. A. F., Sima, P., & Vetricka, V. (2020). Development of Fish Immunity and the Role of β -Glucan in Immune Responses. *Molecules*, 25(22), 1–33. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES25225378>
- Sado, R. Y., Gimbo, R. Y., & Salles, F. B. (2016). Routes of β -glucan administration affect hematological and immune responses of *Oreochromis niloticus*. *Archivos de Zootecnia*, 65(252), 519–524.
- Şahan, A., & Duman, S. (2010). Effect of β Glucan on Haematology of Common Carp (*Cyprinus Carpio*) Infected by

- Ectoparasites. *Mediterranean Aquaculture Journal*, 3(1), 1–7. <https://doi.org/10.21608/maj.2010.2669>
- Sánchez-Martínez, J. G., Rábago-Castro, J. L., Vázquez-Sauceda, M. de la L., Pérez-Castañeda, R., Blanco-Martínez, Z., & Benavides-González, F. (2017). Effect of β -glucan dietary levels on immune response and hematology of channel catfish *Ictalurus punctatus* juveniles. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 45(4), 690–698. <https://doi.org/10.3856/vol45-issue4-fulltext-5>
- Vargas-Albores, F., & Yepiz-Plascencia, G. (2000). Beta glucan binding protein and its role in shrimp immune response. *Aquaculture*, 191(1–3), 13–21. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(00\)00416-6](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00416-6)
- Vetvicka, V., Vannucci, L., & Sima, P. (2013). The effects of β - Glucan on fish immunity. *North American Journal of Medical Sciences*, 5(10), 580–588. <https://doi.org/10.4103/1947-2714.120792>
- Xiong, S., Dong, L., & Cheng, L. (2021). Neutrophils in cancer carcinogenesis and metastasis. *Journal of Hematology and Oncology*, 14(1), 1–17. <https://doi.org/10.1186/s13045-021-01187-y>