

PENGARUH PENAMBAHAN MINERAL Fe PADA PAKAN IKAN TERHADAP STATUS KESEHATAN IKAN KERAPU BEBEK (*Cromileptes altivelis*)

MIA SETIAWATI¹⁾, ING MOKOGINTA¹⁾, M.A. SUPRAYUDI¹⁾ dan W. MANALU²⁾

¹⁾ Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.

²⁾ Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor

Diterima Tanggal : 2 Maret 2007 Disetujui Tanggal : 17 Mei 2007

ABSTRACT

This study was conducted to find out the health status of humpback grouper fish (*Chromileptes altivelis*) that are fed on inorganic-iron supplement. Both, the treatment and the control was tested in anoxia condition. The fish (average weight 4.18 ± 0.13 g/ind) was cultured in $60 \times 40 \times 50$ cm³ aquarium and stocked by 10 ind/aquarium. The fish was reared for 10 weeks; and they were fed three times/day at satiation. Results shown that the fish fed by non-iron supplement was more susceptible than the normal condition; base on the index of leucocytes, monocytes, phagocytic and MCHC distribution. However, 25 mg Fe/kg supplement in the diet was increased concentration of Fe by 35% - 100% in liver, intestine, body tissue and enhance fish vitality at anoxia condition. The survival rate of fish increased by 1.3 times compare to the non-iron supplementation.

Key words: iron (Fe), humpback grouper, feed, health

PENDAHULUAN

Upaya peningkatan produktivitas pembesaran ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) telah dilakukan, salah satunya melalui perbaikan mutu pakan. Manajemen pakan telah berhasil meningkatkan pertumbuhan, namun ternyata kerapu bebek masih rentan menghadapi perubahan lingkungan dan mudah stres, sehingga mengalami kematian dan akibatnya menurunkan produksi.

Suatu strategi yang dapat dilakukan untuk meningkatkan produktivitas budidaya ikan yaitu memanfaatkan respon imunitas ikan (Rijkers, 1981), yaitu upaya proteksi tubuh ikan terhadap stres. Nutrien yang berperan penting terhadap daya imunitas menurut Brock dan Mulero (2000) dan Calder *et al.* (2002) salah satunya adalah unsur Fe, karena Fe sangat erat kaitannya dengan nilai *haematology*. Mineral Fe (zat besi) merupakan unsur esensial yang berperan dalam transport oksigen dan respirasi seluler melalui aktivitas oksidasi-reduksi dan transfer elektron, serta berposisi dalam haemoglobin, yang berkemampuan

meningkatkan pengangkut oksigen dalam darah. Fe juga dibutuhkan oleh semua sel hidup pada beberapa reaksi biokimia, khususnya metabolisme energi aerob dan anaerob serta sel proliferasi. Lebih lanjut dikatakan Carriquiriborde *et al.* (2004), peningkatan Fe dalam pakan di atas normal dapat menyebabkan akumulasi Fe pada beberapa jaringan tubuh ikan dan aktivitas ferrireduktase berkorelasi positif terhadap kejenuhan transferrin pada darah ikan.

Perubahan kondisi lingkungan fisik maupun kimia perairan dapat mempengaruhi status sel darah merah ikan serta *erythropoiesis* (Rehulka dan Adamec, 2004). Selanjutnya menurut Maynard *et al.* (1979); Gatlin dan Wilson (1986) menurunnya sirkulasi sel darah merah dapat digambarkan oleh nilai hematokrit dan hemoglobin dari Fe yang masuk ke dalam tubuh ikan. Sehubungan dengan permasalahan ini, maka dilakukan pengkajian pengaruh penambahan mineral Fe dan tanpa Fe pada pakan ikan terhadap status kesehatan ikan kerapu bebek, berdasarkan karakteristik darah melalui evaluasi kondisi lingkungan ekstrim tanpa oksigen (*anoxia*).

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Pusat Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan-IPB, Ancol, Jakarta Utara, pada bulan November 2005 sampai Februari 2006.

Ikan uji yaitu kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) berasal dari hasil pembenihan Balai Budidaya Lampung (BBL), berbobot awal $4,18 \pm 0,13$ g. Ikan uji terlebih dahulu diadaptasikan selama 10 hari dengan pemberian pakan komersial. Selama pengujian, ikan dipelihara menggunakan sistem resirkulasi, dalam wadah akuarium berukuran $60 \times 40 \times 50$ cm³ dengan kepadatan 10 ekor/wadah. Selain itu juga disediakan stok ikan uji pada setiap perlakuan sebanyak 20 ekor/wadah khusus untuk diambil sampel darahnya. Sebagai media pemeliharaan adalah air laut bersalinitas 30 ppt, dengan kandungan zat besi (Fe) 0,0065 ppm. Kualitas air selama penelitian yaitu suhu air 28-29°C, kandungan oksigen terlarut 5,4-6,8 ppm, pH 7,5, TAN 0,049-0,214 ppm dan NH₃ 0,002-0,02 ppm. Kondisi air pemeliharaan cukup menunjang pertumbuhan ikan.

Pakan uji yang digunakan tersusun dari bahan-bahan alami seperti tepung ikan, tepung udang, tepung tulang dan daging, tepung kedele, minyak ikan dan minyak cumi, serta binder (*carboxy methyl cellulose*) dan bahan *feed additive* lainnya, sehingga membentuk pelet yang mengandung protein 49,8%, C/P ratio 7 kkal DE/g pakan dan energi dapat dicerna 3377 kkal DE/100 g pakan.

Pada penelitian ini terdapat dua perlakuan yaitu Pakan A: tanpa penambahan mineral Fe dan Pakan B: penambahan 125 ppm mineral FeSO₄·7H₂O (25 mg Fe/kg). Komposisi mineral merupakan modifikasi dari Watanabe (1988). Berdasarkan hasil analisa kandungan mineral Fe dalam Pakan A sebesar 463 mg Fe/kg pakan dan Pakan B sebesar 553,5 mg Fe/kg pakan. Ikan diberi pakan sampai kenyang, tiga kali sehari: pagi, siang dan sore.

Pada penelitian tahap satu dilakukan pengambilan sampel darah ikan di awal

penelitian, minggu ke 3, 5, 8 dan 10 setelah pemeliharaan ikan dengan pemberian pakan uji, untuk mengamati status kesehatannya. Data pertumbuhan ikan dan efisiensi pakan diambil setelah satu bulan pemeliharaan ikan uji, melalui penimbangan bobot ikan serta penghitungan jumlah pakan yang diberikan. Penelitian tahap dua dilakukan untuk mengetahui vitalitas tubuh ikan kerapu bebek terhadap stres lingkungan buruk (kondisi *anoxia*). Pengujian stres dilakukan setelah dua bulan pemeliharaan ikan dengan pemberian pakan uji. Ikan dikeluarkan dari media air selama 15 menit (*anoxia*), setelah itu dikembalikan ke media semula. Untuk melihat status kesehatan ikan dilakukan pengambilan sampel darah ikan sebelum dan sesudah *anoxia*.

Haematology dan Analisis Trace Mineral

Ikan uji sebanyak 3-5 ekor pada setiap perlakuan dianestesi menggunakan MS-222, lalu ditimbang bobotnya. Guna pengujian gambaran darah ikan, sampel darah diambil dari vena caudalis dengan menggunakan *syringe* yang telah diberi antikoagulan. Sampel darah kemudian disimpan dalam tabung *ependorf* untuk dilakukan pengamatan selanjutnya di laboratorium. Prosedur pengamatan dan penghitungan jumlah sel darah merah, sel darah putih, hematokrit dan diferensial leukosit menggunakan metode Anderson dan Swicki (1993), sedangkan pengukuran kadar haemoglobin menurut Wedermeyer dan Yasutake (1977). Status mineral Fe, dianalisa pada tubuh dan organ hati dan usus ikan uji. Metode analisa mineral menggunakan pengabuan basah menurut AOAC (1990) untuk kemudian dibaca pada AAS (*Atomic Absorption Spectrometry*).

Analisis Data

Respon pertumbuhan ikan uji dan efisiensi pakan dengan dan tanpa *supplement* Fe dianalisis keragamannya dengan ANOVA. Sedangkan respon gambaran darah seperti sel darah merah, sel darah putih, hematokrit, hemoglobin, deferensial leukosit dan indeks fagositosis, serta status Fe pada tubuh dan organ hati serta usus ikan uji ditampilkan

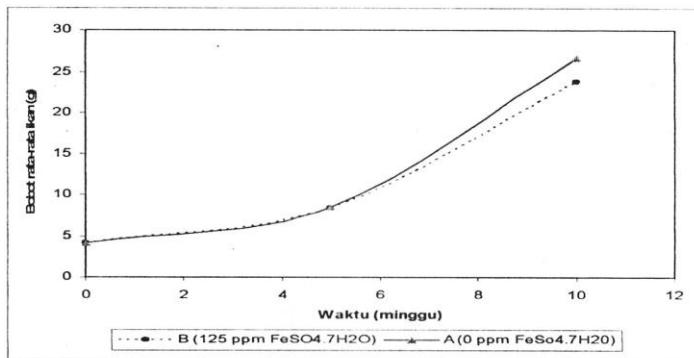
secara deskriptif. Rasio bobot organ hati/seluruh tubuh merupakan nilai *Hepatosomatic Index* (HSI) dan konsentrasi Fe seluruh tubuh dihitung dari konsentrasi Fe tubuh \times bobot ikan. Retensi *net*-tubuh dihitung dari kumulatif asupan pakan dan perubahan mutlak konsentrasi Fe seluruh tubuh selama penelitian.

Untuk melihat respon perlakuan tertentu pada suatu waktu yang menunjukkan adanya perbedaan/mulai terjadi perubahan, maka dilakukan penghitungan terhadap peningkatan atau penurunan yang terjadi. Respon fisiologis terhadap vitalitas tubuh ikan dianalisis berdasarkan persentase kelangsungan hidup ikan selama pengujian, kemudian dihubungkan dengan kondisi kesehatan ikan berdasarkan *haematology*nya sebelum dan sesudah pengujian.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Selama masa penelitian 10 minggu, ikan kerapu bebek mengalami pertumbuhan seperti tampak pada Gambar 1. Bobot ikan uji selama 10 minggu mengalami peningkatan sebesar 468-539% dari bobot awal. Adapun kinerja pertumbuhan ikan

kerapu bebek yang diberi pakan dengan dan tanpa tambahan 125 ppm $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (25 mg Fe/kg pakan) selama 33 hari tidak berbeda antar perlakuan atau tidak berpengaruh terhadap kinerja pertumbuhan (Tabel 1). Hal ini sama dengan hasil penelitian Sakamoto dan Yone (1976) pada ikan red sea bream; Shim dan Ong (1999) pada ikan guppy; Andersen *et al.* (1998) pada ikan *Salmo salar*, yang menyatakan bahwa *level* Fe pakan yang diberikan, tidak mempengaruhi pertumbuhan ikan dan konversi pakan. Fe berperan sebagai *metalloenzym*, sehingga berbagai aktivitas metabolik tidak terlalu dipengaruhinya, sedangkan pertumbuhan merupakan hasil kombinasi berbagai aktivitas metabolik. Disamping itu, Pakan A yang tidak ditambahkan mineral Fe-anorganik, setelah dianalisa mengandung Fe sebanyak 463 ppm, berasal dari bahan-bahan alami seperti tepung ikan, tepung rebon, tepung tulang dan daging, sehingga penambahan mineral Fe tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan. Hal ini sama seperti pada ikan *Salmo salar* (Andersen *et al.*, 1998).



Gambar 1. Grafik pertumbuhan bobot rata-rata individu ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*), pada setiap perlakuan selama masa penelitian

Berdasarkan pengamatan sampel darah ikan kerapu bebek selama pemberian pakan dengan dan tanpa penambahan Fe pada

minggu ke 0, 3, 5, 8 dan 10 (Tabel 2), tampak bahwa hemoglobin (Hb), hematokrit (Htc), jumlah sel darah merah (eritrosit) dan

jumlah sel darah putih (leukosit) mengalami fluktuasi, namun tidak berbeda antar minggu. Kisaran karakteristik darah ikan kerapu bebek ini masih dalam taraf normal. Nilai Hemoglobin, hematokrit, eritrosit dan leukosit ikan mempunyai kisaran yang berbeda untuk setiap spesies, ukuran, kondisi fisiologis dan lingkungan, yaitu Hb: 3,45-13,65 g% (Hall dan Gray, 1929), eritrosit: $0,5-6,1 \times 10^6$ sel/mm³ (Angel dan Davis, 1964), leukosit: $2-15 \times 10^4$ sel/mm³ (Rastogi, 1977) dan Htc: 5-60% (Snieszko *et al.*, 1960).

Pada akhir pemeliharaan (minggu ke-10) tampak rata-rata nilai hematokrit dan eritrosit ikan yang diberi pakan dengan penambahan 25 mg Fe/kg (Perlakuan B) lebih rendah (Htc: 16,62% dan leukosit: $4,41 \times 10^4$ sel/mm³) dibandingkan dengan ikan yang tanpa penambahan Fe (Perlakuan A: Htc: 27,5% dan leukosit: $7,52 \times 10^4$ sel/mm³, $p < 0,05$). Hal ini dapat menunjukkan status kesehatan ikan selama 10 minggu pemberian pakan uji.

Tabel 1. Kinerja pertumbuhan ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*), pada setiap perlakuan selama 33 hari masa pemeliharaan

No.	Parameter Uji	Perlakuan/Supplement FeSO ₄ .7H ₂ O	
		A (0 ppm FeSO ₄ .7H ₂ O)	B (125 ppm FeSO ₄ .7H ₂ O)
1.	Konsumsi pakan (g)	86,79 ± 7,15 ^a	83,31 ± 13,23 ^a
2.	Laju pertumbuhan harian (%)	2,13 ± 0,40 ^a	2,13 ± 0,45 ^a
3.	Efisiensi pakan (%)	49,23 ± 9,06 ^a	49,18 ± 7,00 ^a
4.	Kelangsungan hidup (%)	85 ± 7,07 ^a	75 ± 21,2 ^a

Keterangan : a – huruf *superscript* dibelakang nilai standar deviasi menunjukkan tidak berbeda antar perlakuan ($p > 0,05$, pada selang kepercayaan 95%)

Hasil pengamatan terhadap status kesehatan ikan melalui gambaran darahnya (Tabel 2), memperlihatkan bahwa jumlah eritrosit ikan kerapu bebek pada minggu ke 3, 5, 8 dan 10 lebih kecil dibandingkan minggu ke-0 (awal pemeliharaan). Namun hematokrit (Htc) minggu ke 3, 5, 8 dan 10 lebih besar dibandingkan minggu ke-0. Hal ini diduga telah terjadi pembesaran ukuran sel darah dengan meningkatnya umur ikan. Karena peningkatan nilai Htc diperoleh dari perbandingan volume keping darah dengan volume seluruh darah, sedangkan jumlah eritrosit lebih sedikit dibandingkan ikan awal. Berdasarkan penghitungan jumlah eritrosit antara Perlakuan A dan B tidak berbeda dan relatif sama, maka perbedaan nilai Htc pada minggu ke-10 akibat perbedaan jumlah sel darah putih ($p < 0,05$). Sehingga peningkatan Htc pada kondisi ini diduga juga akibat peningkatan aktivitas pembentukan atau pemecahan leukosit.

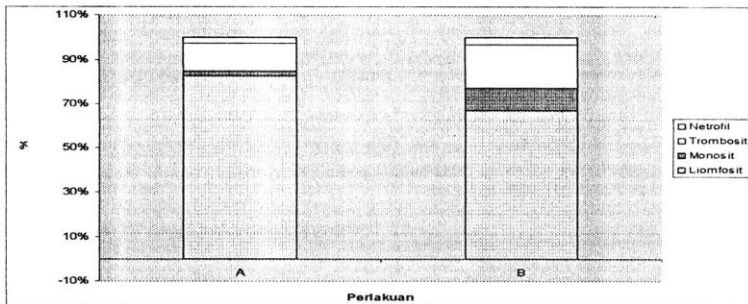
Sel darah putih (minggu ke-5 dan ke-10) Perlakuan A berbeda dan mempunyai nilai

lebih tinggi dibandingkan sel darah putih Perlakuan B. Hal ini menunjukkan bahwa pada kondisi lingkungan yang layak (normal), ikan yang diberi pakan tanpa mineral Fe (Perlakuan A) diduga lebih labil dan mudah stres. Menurut Barton dan Iwama (1991); Bonga (1997) dalam Barcellos *et al.* (2004) parameter karakteristik darah ikan teleost dapat dipengaruhi oleh stres. Kondisi stres diduga menyebabkan migrasi leukosit dari limpa ke sirkulasi darah atau mobilisasi segmen neutrofil dari cadangan sumsum tulang. Sedangkan menurut Munoz dan Olivares (1999), penyebaran Fe dimediasi oleh *transferrin* yang merupakan *glycoprotein*, yang dapat mensekresi TNF- α sebagai salah satu kualitas sel fungsi imun dan diproduksi untuk merespon rangsangan perubahan lingkungan. Kenyataan ini mengindikasikan bahwa ikan yang diberi pakan dengan penambahan mineral Fe (Perlakuan B) diduga akan mempunyai daya tahan dan vitalitas tubuh lebih baik.

Tabel 2. Hemoglobin, hematokrit, jumlah sel darah merah dan sel darah putih ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*), yang diberi pakan dengan dan tanpa penambahan Fe, selama beberapa minggu penelitian.

Parameter darah	Perlakuan	Waktu (Minggu)				
		0	3	5	8	10
Hemoglobin (g%)	A	4,2	4 ± 1,31	4,55 ± 0,79 ^a	4,8 ± 0,4	4,52 ± 0,93 ^a
	B	4,2	4,55 ± 0,49	3,25 ± 1,04 ^a	4,3 ± 0,42	3,52 ± 1,34 ^a
Hematokrit (%)	A	10	14,73 ± 3,96	19,00 ± 1,41 ^a	22,76 ± 9,11	27,50 ± 5,48 ^b
	B	10	17,46 ± 5,40	18,56 ± 0,27 ^a	22,94 ± 1,09	14,35 ± 6,96 ^a
Sel darah merah (x 10 ⁹ sel/mm ³)	A	5,76	2,15 ± 0,56	1,98 ± 0,19 ^a	2,56 ± 0,90	2,51 ± 1,02 ^a
	B	5,76	3,27 ± 0,05	2,19 ± 0,45 ^a	2,38 ± 0,11	2,08 ± 0,84 ^a
Sel darah putih (x 10 ⁴ sel/mm ³)	A	9,12 ± 0,75	6,12 ± 1,71	7,89 ± 0,92 ^b	9,70 ± 2,79	7,52 ± 2,01 ^b
	B	9,12 ± 0,75	10,55 ± 0,19	5,93 ± 0,65 ^a	6,14 ± 1,29	4,41 ± 2,00 ^a

Keterangan : A (0 ppm FeSO₄.7H₂O) B (125 ppm FeSO₄.7H₂O)
 : a - huruf *superscript* dibelakang nilai standar deviasi menunjukkan tidak berbeda antar perlakuan (p>0,05), pada selang kepercayaan 95%



Gambar 2. Diferensial leukosit ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) yang diberi pakan buatan dengan dan tanpa penambahan Fe, setelah 10 minggu masa penelitian.

Pengamatan diferensial leukosit seperti prosentase limfosit, monosit, trombosit dan neutrofil (Gambar 2) tidak sama antara ikan yang diberi pakan dan tanpa tambahan mineral Fe. Prosentase sel trombosit yang dapat berperan sebagai pembekuan darah dan sel monosit yang dapat berperan sebagai fagositosis bila ada serangan, pada ikan uji yang diberi pakan dengan penambahan Fe lebih tinggi dibandingkan dengan yang tidak. Hasil uji indeks fagositosis pada Perlakuan B tampak meningkat 12,28% dibandingkan Perlakuan A, yang menunjukkan tingginya

kemampuan ikan dalam meningkatkan aktivitas sel-sel fagosit. Berdasarkan diferensial leukosit minggu ke-10 (Gambar 2), walaupun tampak penurunan prosentase limfosit 1,2 kali pada ikan yang diberi penambahan 25 mg Fe/kg pakan, namun terjadi peningkatan monosit 4,6 kali. Menurut Sadikin (2001), sel monosit mempunyai kemampuan menyusup dan masuk ke jaringan serta berdiferensiasi menjadi sel makrofag. Brock dan Mulero (2000) juga menyatakan bahwa makrofag berperan dalam metabolisme Fe dan fungsi imun. Sehingga ikan kerapu yang diberi

penambahan 25 mg Fe/kg pakan diduga lebih resisten, karena mempunyai cadangan sel berkemampuan fagositosis lebih banyak. Hasil penghitungan indeks fagositosis (Gambar 3), pada ikan Perlakuan B ($39,67 \pm 1,53$ %) lebih tinggi dibandingkan ikan Perlakuan A ($35,33 \pm 3,21$ %) ($p < 0,05$). Pemberian pakan dengan penambahan Fe 125 ppm, ternyata tidak mempengaruhi kondisi hemoglobin (Hb) darah ($p > 0,05$) selama pengamatan minggu ke 3, 5, 8 dan 10. Berbeda dengan hasil penelitian Sakamoto dan Yone (1976); Andersen *et al.* (1998); Shim dan Ong (1999) yang menyatakan bahwa telah terjadi peningkatan Hb akibat meningkatnya asupan Fe melalui pakan. Sedangkan menurut Hahn dan Whipple (1936) dalam Shim dan Ong (1999), Fe merupakan bentuk kompleks yang bukan hanya terikat sebagai senyawa heme seperti hemoglobin darah atau ikatan protein-porphyrin dan myoglobin di jaringan, juga sebagai senyawa non-heme seperti *ferritin* dan *transferrin*. Oleh karena itu fluktuasi Hb namun tidak signifikan (Tabel 2), diduga

berkaitan dengan proses pembentukan senyawa Fe dalam bentuk ikatan senyawa yang lain.

Disamping itu terjadinya peningkatan dan penurunan Hb yang tidak signifikan, diduga juga akibat peningkatan dan penurunan ukuran sel darah, dan hal ini dapat menunjukkan kondisi *normochromic* (Benjamin, 1962). Berdasarkan hasil perhitungan terhadap nilai MCHC (*mean corpuscular hemoglobin concentration*) yaitu rasio konsentrasi Hb dalam rata-rata eritrosit atau hematokrit (Benjamin, 1962), pada ikan yang diberi pakan tanpa penambahan Fe mempunyai kisaran nilai lebih luas (16,4 % - 27 %), dibandingkan ikan yang diberi pakan dengan penambahan Fe (17,5% - 26 %). Sedangkan Rehulka dan Ademic (2004) menyatakan bahwa kisaran kondisi fisiologis ditentukan oleh batas atas dan batas bawah untuk setiap parameter utama penentu kesehatan ikan. Sehingga pada penelitian ini dapat dikatakan bahwa penambahan Fe dalam pakan ikan memberikan kondisi fisiologis ikan lebih stabil.

Tabel 3. Status Fe pada organ hati, usus dan tubuh dan hepato somatik indeks ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) yang diberi pakan dengan dan tanpa penambahan Fe, pada akhir masa pemeliharaan.

Konsentrasi dan indeks	Perlakuan/Penambahan $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	
	A (0 ppm $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	B (125 ppm $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)
Fe organ hati (ppm)	295.577	592.207
Fe organ usus (ppm)	20.012	26.938
Fe jaringan tubuh (ppm)	96.21	166.84
[Fe] total tubuh (g)	2.569	3.964
Hepato somatik indeks (%)	$1,79 \pm 0,27^a$	$2,00 \pm 0,25^a$
Rataan Retensi Fe net-tubuh (%)	2,86	4,30

Berdasarkan Tabel 3, secara umum terjadi peningkatan 35%-100% konsentrasi Fe pada organ hati, usus dan tubuh ikan kerapu bebek setelah masa pemeliharaan 10 minggu. Nilai hepato somatik indeks (HSI) ikan yang diberi penambahan 25 mg Fe/kg pakan (Perlakuan B) lebih tinggi 0,21% dibandingkan ikan yang tanpa diberi penambahan Fe dalam pakannya (Perlakuan A). Terlihat juga akumulasi Fe diberbagai jaringan tubuh ikan uji setelah hampir 10 minggu pemeliharaan. Menurut Lal (2002), proses penyerapan Fe

pada jaringan tubuh ikan, sangat dipengaruhi oleh kondisi ikan, status Fe, jumlah dan bentuk kimiawi Fe *intake*, serta proporsi komponen inorganik dan organik yang ada dalam pakan.

Pengamatan kondisi Anoxia

Hasil pengujian *anoxia* selama 15 menit dan respon pemulihan ikan sampai kondisi normal kembali untuk berenang, tampak bahwa ikan uji yang diberi pakan dengan penambahan 125 ppm $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ mempunyai kelangsungan hidup 72%

terkoreksi lebih tinggi 1,3 kali dibandingkan dengan ikan yang diberi pakan tanpa tambahan mineral Fe (56%). Status kesehatan ikan uji dilakukan pengamatan terhadap gambaran darah sebelum dan sesudah pengujian kondisi stres anoxia, seperti tampak pada Tabel 4, dan deferensial

leukosit (limfosit, monosit, trombosit dan netutrofil) yang disajikan pada Gambar 3. Terjadi peningkatan semua komponen darah (Hb, Htc, eritrosit dan leukosit) setelah pengujian *anoxia* (*pasca-anoxia*), yang merupakan respon atau reaksi tubuh ikan uji terhadap stres lingkungan.

Tabel 4. Hemoglobin, hematokrit, jumlah sel darah merah dan sel darah putih ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) yang diberi pakan dengan dan tanpa penambahan Fe, dan kelangsungan hidup ikan sebelum dan setelah dilakukan pengujian *anoxia*

Gambaran darah	Perlakuan	<i>Præ-anoxia</i>	<i>Pasca-anoxia</i>	Perubahan (relatif)
Hemoglobin (gr %)	A	4,52 ± 0,93	5,3 ± 0,99	17,26 %
	B	3,52 ± 1,34	5,3 ± 1,56	50,57 %
Hematokrit (%)	A	27,50 ± 5,48	29,91 ± 5,64	8,77 %
	B	14,35 ± 6,96	24,67 ± 9,6	71,92 %
Sel darah merah (10 ⁶ sel/mm ³)	A	2,51 ± 1,02	3,18 ± 0,62	26,69 %
	B	2,08 ± 0,84	3,14 ± 0,97	50,96 %
Sel darah putih (10 ⁴ sel/mm ³)	A	7,52 ± 2,01	7,01 ± 0,47	(-) 6,78 %
	B	4,41 ± 2,00	6,56 ± 3,75	48,75 %
Kelangsungan hidup (%)	A	85 ± 7,07	30,8 ± 0	(-) 63,76%
	B	75 ± 21,2	40 ± 0	(-) 46,67%

Keterangan : A = 0 ppm FeSO₄.7H₂O B = 125 ppm FeSO₄.7H₂O (-) = mengalami penurunan

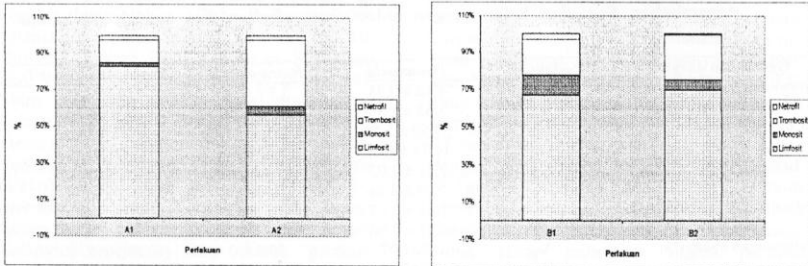
Hasil pengujian kondisi anoxia selama 15 menit memperlihatkan tingkat kelangsungan hidup ikan uji yang diberi pakan penambahan mineral Fe, melalui penyetaraan dan secara terkoreksi lebih tinggi 1,3 kali dibandingkan dengan ikan yang diberi pakan tanpa penambahan Fe (Gambar 3). Berdasarkan analisa sampel darah (Tabel 4) terlihat bahwa pada ikan yang diberi pakan dengan penambahan Fe (Perlakuan B) setelah *pasca-anoxia* mengalami peningkatan nilai komponen darah (hemoglobin, hematokrit, sel darah merah dan sel darah putih) yang lebih tinggi 1,2 - 1,7 kali dibandingkan ikan uji Perlakuan A. Perubahan peningkatan karakteristik darah akibat penambahan Fe-anorganik diduga menyebabkan ikan uji Perlakuan B mempunyai kemampuan ±50% lebih cepat meregulasi metabolisme nutrisi lebih baik untuk menuju keseimbangan dibandingkan Perlakuan A (Tabel 4). Hal ini membuktikan bahwa kondisi kesehatan tubuh ikan uji B lebih baik dibandingkan ikan uji A. Seperti pendapat Kawatsu

(1972) dalam Sakamoto dan Yone (1976), bahwa ikan hidup di air rendah oksigen akan mengalami *hematopoiesis* dan *microcytotic*, sehingga eritrosit-nya mengalami peningkatan sebagai upaya penyesuaian penambahan oksigen.

Regulasi metabolisme yang cukup baik pada Perlakuan B, diduga juga akibat retensi Fe yang cukup di jaringan tubuh ikan (Tabel 3) sebagai respon asupan penambahan Fe dalam pakannya. Seperti dikemukakan Philip (1976) dalam Shim dan Ong (1999), bahwa proses penyerapan Fe dapat terjadi secara aktif dan pasif. Menurut Carriquiriborde *et al.* (2004), walaupun asupan Fe rendah dalam pakan, namun total Fe di serum relatif konstan dan telah menunjukkan adanya transfer aktif dengan tingkat aktivitas *ferrireduktase* cukup tinggi. Jadi pada kasus ini, diduga berbagai jaringan penyimpan Fe yang terikat sebagai *ferritin/transferrin* dapat digunakan sebagai sumber Fe saat dibutuhkan dalam kondisi stres.

Presentase limfosit *pasca-anoxia* pada ikan uji yang diberi pakan tanpa penambahan Fe (A) mengalami penurunan hingga 27%, hal ini menunjukkan bahwa ikan uji A tidak mempunyai kemampuan mempertahankan mekanisme pertahanan tubuhnya (Sadikin, 2001). Demikian pula dengan peningkatan presentase trombosit sampai 23,5% pada

ikan uji A, menunjukkan bahwa sel trombosit terstimulasi dan pecah untuk mengatasi sel yang mengalami kerusakan, *bleeding* atau *hemorrhage* akibat stres *anoxia*, walaupun pengamatan secara kasat mata tidak tampak adanya pendarahan pada permukaan tubuh ikan.



Keterangan : A1. Perlakuan tanpa penambahan Fe 0 ppm, *Pra Anoxia*
 A2. Perlakuan tanpa penambahan Fe 0 ppm, *Pasca Anoxia*
 B1. Perlakuan penambahan Fe 125 ppm, *Pra Anoxia*
 B2. Perlakuan penambahan Fe 125 ppm, *Pasca Anoxia*

Gambar 3. Deferensial leukosit ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) sebelum dan setelah dilakukan pengujian *anoxia*.

KESIMPULAN

Berdasarkan karakteristik darah, penambahan mineral Fe 25 mg/kg pakan dapat meningkatkan status kesehatan ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) dan kelangsungan hidup ikan 1.3 kali lebih tinggi pada pengujian *anoxia*.

DAFTAR PUSTAKA

- Andersen, F., B. Lygren, A. Maage, and R. Waagbo. 1998. Interaction Between Two Dietary Levels of Iron and Two Forms of Ascorbic Acid and the Effect on Growth, Antioxidant Status and Some Non-specific Immune Parameters in Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Smolts. *Aquaculture*, 161:437-451.
- Anderson, D.P, and A. Siwick. 1993. Basic Hematology and Serology for Sish Sealth Programs. Second

Symposium on Disease in Asia Aquaculture "Aquatic Animal Health and Environment". Asia Fisheries Society.

AOAC. 1990. Official Methods of Analysis, 15th edition (editor K. Helrich). Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C.

Barcellos, L.J.G., L.C. Kreutz, C. de Souza, L.B. Rodrigues, I. Fioreze, R.M. Quevedo, L. Cericato, A.U. Soso, M. Faguendes, J. Conrad, L. De A. Lacerda, and S. Terra. 2004. Hematological Changes in Jundia (*Rhamdia quelen* Quoy and Gaimard *Pimelodidae*) After Acute and Chronic Stres Caused by Usual Aquacultural Management, with Emphasis on Immunosuppressive effects. *Aquaculture*, 237:229-226.

- Benjamin, M.M. 1962. Outline of Veterinary Clinical Pathology. The Iowa State University Press. Bury, N., and Grosell, M. 2003. Iron Acquisition by Teleost Fish. Comparative Biochemistry and Physiology Part C, 135:97-105.
- Brock, J.H., and V. Mulero. 2000. Cellular and Molecular Aspects of Iron and Immune Function. Proceedings of the Nutrition Society, 59:537-540.
- Calder, P.C., C.J. Field, and H.S. Gill. 2002. Nutrition and Immune Function. CAB International.
- Carriquiriborde, P., R.D. Handy, and S.J. Davies. 2004. Physiological Modulation of Iron Metabolism in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fed Low and High Iron Diets. J. Experimental Biology, 207:75-86.
- Gatlin, D.M., and R.P. Wilson. 1986. Characterization of Iron Deficiency and the Dietary Iron Requirement of Fingerling Channel Catfish. Aquaculture, 52:191-198.
- Hall, F.G., and I.E. Gray. 1929. The Hemoglobin Concentration of the Blood of Marine Fishes. J. Biology Chemistry, 81(3):589-594.
- Munoz, C., and M. Olivares. 1999. Transferrin Modulates Tumor Necrosis Factor- α Secretion by Cultured Human Mononuclear cells: Influences of Iron Status. PII S0899-9007(99)00277-4
- Maynard, L.A., J.K. Loosli, H.F. Hintz, and R.G. Warner. 1979. Animal Nutrition. McGraw-Hill Book Co., New York, 602 pp.
- Rehulka, J., and V. Adamec. 2004. Red Blood Cell Indices for Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) Reared in Cage and Raceway Culture. ACTA VET, BRNO, 73:105-114.
- Rijkers, G.T. 1981. Introduction to Fish Immunology. Development and Com. Immunol., 5:5427-534.
- Sadikin, M.H. 2001. Biokimia Darah. Widya Medika. 127 hal.
- Sakamoto, S., and Y. Yone. 1976. Requirement of Red Sea Bream to Dietary Fe-I. Report of Fishery Research Laboratory, Kyushu University, 3:53-58.
- Shim, K.F., and Ong, S.I. 1999. Iron Requirement of the Guppy (*Poecilia reticulata* Peters). J. of Aquaculture & Aquatic Sciences, 6(2). <http://go.compuserve.com/fishnet> (4 September 2005)
- Snieszko, S.F. 1960. Microhematocrite as a Tool in Fishery Research and Management. U.S. Wildl. Serv. Sci. Rep. Fish, 341:15
- Watanabe, T. 1988. Fish Nutrition and Mariculture. JICA Textbook. The General Aquaculture Course. Kanagawa International Fisheries Training Centre. JICA.
- Wedemeyer, G.A, Yasutake, W.T. 1977. Clinical Methods for Assessment of the Effect Environmental Stress on the Fish Health. Technical papers of The U.S. Fish and Wildlife Service. Fish and Wildlife Service, 89:1-7.