

Pengaruh Suplementasi Fe-Anorganik Terhadap Gambaran Sel Darah Kerapu *Cromileptes altivelis* Terinfeksi Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*

Mia Setiawati¹⁾, Arry¹⁾, Sri Nuryati¹⁾, Ing Mokoginta¹⁾, Muhamad Agus Suprayudi¹⁾ & Wasmen Manalu²⁾

¹⁾ Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB Darmaga, Bogor 16680 Indonesia

²⁾ Fakultas Kedokteran Hewan, IPB Darmaga, Bogor 16680, Indonesia

Email: miasetia@ipb.ac.id

ABSTRACT

The Effect of Anorganic- Iron Supplementation on The Blood Cell of Humpback Grouper Fish (*Cromileptes altivelis*) Infected by *Vibrio parahaemolyticus* This experiment was conducted to find the immunity response of humpback grouper (*Chromileptes altivelis*) correlated to the anorganic-iron supplement in feed. The blood cell was analyzed as the infection response of *Vibrio parahaemolyticus*. The fish weight 6.9 ± 0.22 g/ind. was cultured in 60x40x50 cm aquarium and stocked at density 10 ind. / aquarium. After the fish fed by inorganic-iron supplementation at 0, 25, 50 and 100 mg/kg for 68 days, then infected by *V. parahaemolyticus*. The blood cell showed the 50 and 100 mg Fe/kg inorganic-iron supplement enhanced erythrocytes, hematocrite, hemoglobin, lymphocytes and neutrophil after the 24th and the 72nd hour's infection. Total leucocytes backed to normal after the 72nd infection and the index of phagocytic was higher with the 100 mg Fe/kg of iron supplementation.

Key words: iron (Fe), humpback grouper, feed, bacteria and blood cell.

PENDAHULUAN

Ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*), merupakan ikan karang yang berhasil dibudidayakan di jaring apung dan termasuk ikan konsumsi bernilai ekonomi tinggi. Kendala yang dihadapi dalam usaha budidaya ikan kerapu bebek adalah resiko kondisi stres yang disebabkan oleh menurunnya kualitas air (*stressor* lingkungan). Kondisi ini mengakibatkan rendahnya nafsu makan dan daya tahan tubuh ikan sehingga pertumbuhan menjadi lambat, ikan lebih mudah terserang penyakit dan pada

akhirnya terjadi kematian. Tingkat mortalitas yang tinggi berdampak kerugian besar dalam usaha budidaya ikan. Berdasarkan hasil penelitian Taufik (2001), wabah penyakit pada ikan kerapu di jaring apung teridentifikasi disebabkan oleh bakteri *Vibrio alginolyticus* dan *V. parahaemolyticus*. Bakteri tersebut mampu menyebabkan infeksi pada ikan apabila berada dalam intensitas tinggi dan jumlah berlimpah pada perairan laut saat musim panas (Anonim 2006).

Suatu strategi yang dapat dilakukan untuk meningkatkan produktivitas

budidaya ikan yaitu memanfaatkan respons imunitas ikan (Rijkers 1981), upaya proteksi tubuh ikan terhadap stres. Unsur Fe merupakan salah satu nutrisi yang berpengaruh terhadap fungsi sistem imunitas dan meningkatkan sistem pertahanan tubuh terhadap infeksi (Brock & Mulero 2000; Calder *et al.* 2002; Webster & Lim 2002). Zat besi (Fe) sebagai mikromineral sangat penting dalam pembentukan sel darah merah, proses respirasi selular, aktivitas oksidasi-reduksi dan transportasi elektron. Gatlin (2002) mengemukakan bahwa lama waktu pemberian dan konsentrasi yang diberikan perkilogram pakan dapat mempengaruhi respon imun yang ditimbulkan.

Menurut Rehulka & Ademec (2004) test haematology memberikan informasi tentang status erythropoiesis yang dipengaruhi oleh kondisi nutrisi, penyakit infeksi, polusi dan berbagai macam sumber stres. Berdasarkan pertimbangan tersebut, maka penelitian ini mencoba mengkaji pemberian dosis suplementasi zat besi (Fe) dalam pakan buatan terhadap gambaran sel darah ikan kerapu bebek (*C. altivelis*), terhadap respon imunitas karena ikan terinfeksi bakteri *Vibrio parahaemolyticus*.

BAHAN DAN CARA KERJA

Lokasi penelitian di Stasiun Lapang Pusat Studi Ilmu Kelautan (PSIK), Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan-Institut Pertanian Bogor (IPB), Ancol, Jakarta. Ikan uji yang digunakan kerapu bebek (*C. altivelis*) berbobot awal $6,9 \pm 0,22$ gram, berasal dari hasil pembenihan

Balai Budidaya Laut (BBL) Lampung. Penelitian diawali dengan pemeliharaan ikan uji selama 68 hari yang diberi pakan buatan dengan penambahan level Fe berbeda untuk mengamati status kesehatan ikan. Selanjutnya dilakukan pengujian respons imunitas ikan uji melalui infeksi bakteri *V. parahaemolyticus* menggunakan isolat dari Laboratorium Penyakit Ikan Universitas Gadjah Mada.

Selama pengujian, ikan dipelihara menggunakan sistem resirkulasi, dalam wadah akuarium berukuran 60x40x50 cm dengan kepadatan 10 ekor/wadah. Sebagai media pemeliharaan adalah air laut bersalinitas 30-32 ppt, dengan kandungan zat besi (Fe) 0.048 ppm. Kualitas air selama penelitian yaitu suhu air 28-30°C, kandungan oksigen terlarut 5.86-6.23 ppm, total amonia-nitrogen (TAN) 0.079-0.233 ppm dan alkalinitas 112-128.17 ppm dan kualitas air tersebut layak untuk kehidupan ikan.

Pakan uji yang digunakan berupa pellet *isonitrogenous* dan *isocalory*. Pelet mengandung protein 45-46% dan energi protein rasio 7-8 kkal/g protein pakan, tersusun dari bahan-bahan alami sumber protein, seperti tepung ikan, tepung udang, tepung kedele dan tepung tulang-daging, sedangkan sumber lemak yaitu minyak ikan dan minyak cumi, serta pollard sebagai sumber karbohidrat. Sebagai perlakuan yaitu penambahan *ferro sulfat* sebanyak 0, 25, 50 dan 100 mg/kg pakan. Ikan diberi pakan sampai kenyang, tiga kali sehari. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap, 4 perlakuan dan 3 ulangan (4x3).

Setelah pemeliharaan 68 hari dilakukan penimbangan bobot ikan dan

pengambilan sampel darah pada 3 ekor ikan per perlakuan, untuk melihat kinerja pertumbuhan dan mengetahui status kesehatan ikan akibat suplementasi Fe berbeda dalam pakan. Selanjutnya dilakukan ujiantang terhadap infeksi bakteri *V. parahaemolyticus* dengan konsentrasi 10^5 CFU/ml untuk mengetahui tingkat daya tahan tubuh ikan. Pengamatan kesehatan ikan dilakukan melalui pengambilan sampel darah ikan pada jam ke-24, jam ke-72 serta jam ke-120 pasca infeksi. Parameter karakteristik darah yang diamati meliputi total leukosit, diferensial leukosit, total eritrosit, kadar hemoglobin, hematokrit dan indeks fagositik.

Guna pengujian gambaran sel darah ikan, sampel darah ikan $\pm 0,3$ ml diambil dari vena caudalis dengan menggunakan *syringe* yang telah diberi antikoagulan (Na-sitrat 3.8%). Sampel darah kemudian disimpan dalam tabung *eppendorf* untuk dilakukan pengamatan selanjutnya di laboratorium. Pengukuran hematokrit dilakukan menurut metode Anderson & Siwicki (1993). Tabung mikrohematokrit yang telah berisi darah *dicentrifuge* dengan kecepatan putaran 6000 rpm selama 5 menit. Hematokrit dihitung berdasarkan perbandingan volume endapan terhadap volume seluruh darah. Pengukuran hemoglobin menurut Wedemeyer & Yasutake (1977), dilakukan dengan metode Sahli. Darah dihisap menggunakan pipet Sahli sampai skala 20 mm^3 , ujung pipet yang telah digunakan dibersihkan dengan kertas tissue. Darah kemudian dipindahkan ke dalam tabung hemoglobin yang berisi

HCl 0.1 N sampai skala 10 (warna kuning), lalu didiamkan 3-5 menit, diaduk dan ditambahkan akuades hingga warna sama dengan warna standar. Pembacaan skala dilakukan dengan melihat tinggi permukaan larutan yang dicocokkan dengan skala lajur Gr %, yang berarti banyaknya hemoglobin dalam gram per 100 ml darah.

Penghitungan sel darah merah (eritrosit) menurut Nabib & Pasaribu (1989), dilakukan dengan mengencerkan darah dengan larutan Hayem. Darah yang telah teraduk diteteskan ke dalam hemasitometer tipe *Neubauer Improved*. Penghitungan dilakukan di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali pada 10 kotak kecil hemasitometer. Sedangkan penghitungan sel darah putih (leukosit) menurut Nabib & Pasaribu (1989) dilakukan dengan mengencerkan darah dengan larutan Turk's di dalam pipet pencampur berskala maksimum 11. Penghitungan dilakukan di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali pada 5 kotak besar hemasitometer. Diferensial leukosit dilakukan melalui pembuatan preparat ulas darah (Amlacher 1970). Penghitungan dilakukan untuk mengetahui persentase tiap macam leukosit yang ada dalam darah, dengan mengamati bentuk dan warna sel darah putih pada preparat ulas di bawah mikroskop.

Pengukuran Indeks Fagositik berdasarkan modifikasi dari Anderson & Siwicki (1993). Sebanyak $50 \mu\text{l}$ darah dimasukkan ke dalam *eppendorf*, ditambahkan $50 \mu\text{l}$ suspensi *Staphylococcus aureus* dalam PBS (10^8 sel/ml), kemudian dihomogenkan dan diinkubasi dalam suhu ruang selama 20 menit.

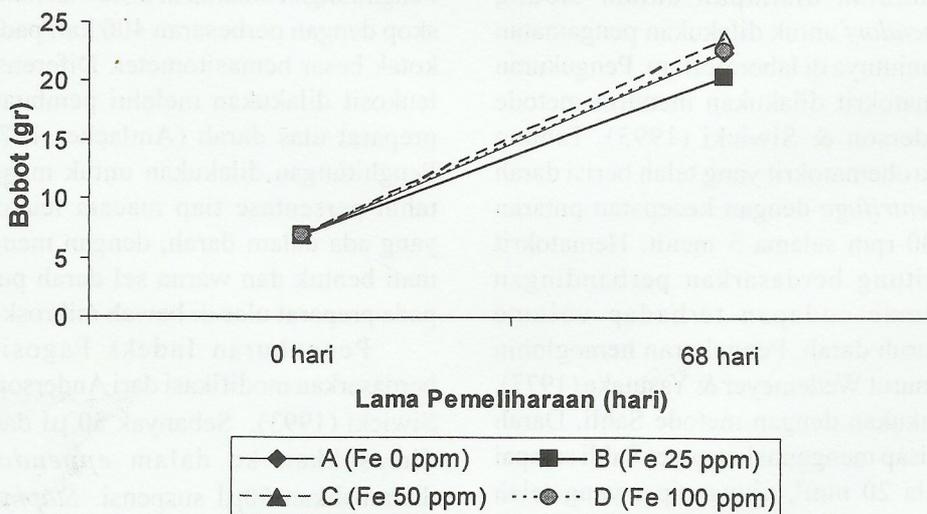
Sebanyak 5µl dibuat preparat ulas dan dikeringkan di udara, kemudian difiksasi dengan metanol selama 5 menit dan dikeringkan. Preparat direndam dalam pewarna Giemsa selama 15 menit kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan dengan tisu. Dihitung jumlah sel yang menunjukkan proses fagositosis dihitung dari 100 sel fagosit yang teramati

Respons pertumbuhan ikan uji pada setiap level suplemen Fe dianalisis keragamannya dengan analisis varians, sedangkan respons gambaran darah seperti sel darah merah, sel darah putih, hematokrit dan hemoglobin ditampilkan secara deskriptif. Untuk melihat respons perlakuan tertentu pada suatu waktu, maka dilakukan pengujian deskriptif antar perlakuan pada waktu yang sama disetiap parameter

HASIL

Pada akhir pemeliharaan ikan selama 68 hari dengan perlakuan pemberian pakan suplementasi zat besi sebesar 0, 25, 50 dan 100 mg Fe/kg pakan, didapat rata-rata bobot ikan kerapu *C. altivelis* berkisar 21,30–23,82 gram (Gambar 1). Hasil pengukuran terhadap pertumbuhan ikan tidak menunjukkan adanya perbedaan antar perlakuan ($P>0.05$).

Pengamatan pengaruh suplementasi Fe terhadap gambaran sel darah kerapu bebek yang terinfeksi bakteri *V. parahaemolyticus*, pada jam ke-0 sebelum terinfeksi dan jam ke-24, jam ke-72 serta jam ke-120 pasca infeksi, berdasarkan total nilai rata-rata antar perlakuan (Gambar 2).



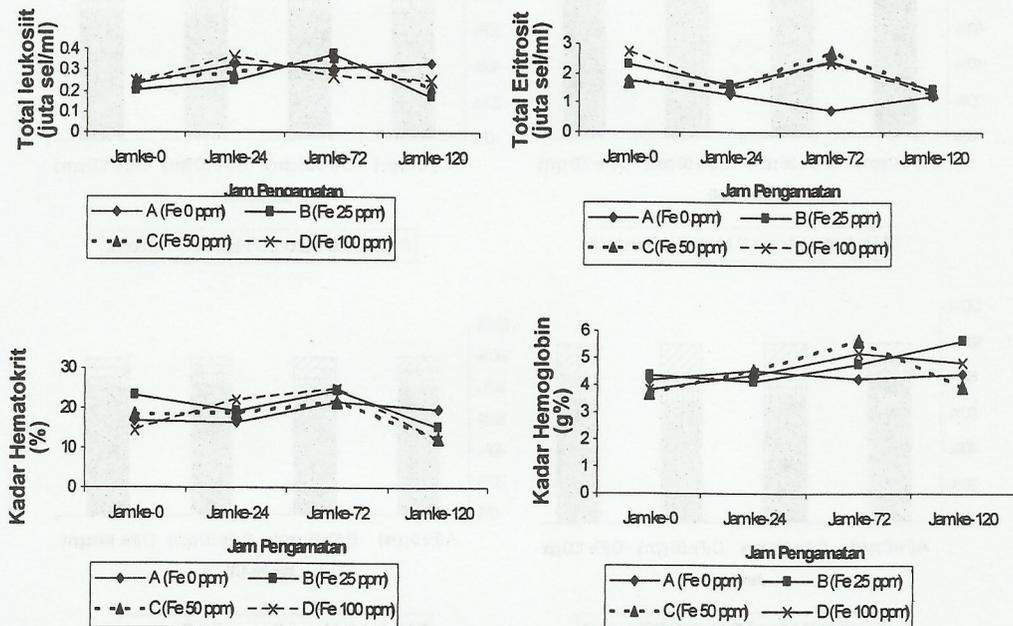
Gambar 1. Grafik pertumbuhan bobot rata-rata individu ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) yang diberi pakan suplementasi Fe berbeda

Nilai total leukosit untuk seluruh perlakuan mengalami peningkatan pada jam ke-24 pasca infeksi bakteri *V. parahaemolyticus*. Pada jam ke-72 untuk perlakuan pakan dengan dosis 25 dan 50 mg Fe/kg pakan, nilai total leukosit terus meningkat, berbeda dengan perlakuan 100 mg Fe/kg pakan yang sudah mengalami penurunan.

Pada pengamatan jam ke-0, ikan yang diberi perlakuan pakan uji dengan suplementasi Fe 100 ppm mempunyai nilai total eritrosit tertinggi, yaitu sebesar $2,72 \times 10^6$ sel/mm³. Nilai total eritrosit mengalami penurunan untuk seluruh perlakuan pada jam ke-24 pasca infeksi. Nilai total eritrosit yang didapat berkisar $1,29 \times 10^6 - 1,61 \times 10^6$ sel/mm³. Pada

jam ke-72 pasca infeksi, ikan yang diberi pakan dengan suplementasi Fe 25, 50 dan 100 mg/kg memiliki kemampuan untuk meningkatkan kembali nilai total eritrositnya. Berbeda dengan ikan yang diberi pakan tanpa penambahan Fe yang terus mengalami penurunan total eritrosit. Sedangkan pada jam ke-120 pasca infeksi nilai total rata-rata eritrosit kembali normal.

Pengukuran kadar hemoglobin dan hematokrit (Gambar 2) pada jam ke-24 dan jam ke-72 pasca infeksi bakteri, mengalami peningkatan. Peningkatan nilai hematokrit terbesar pada jam ke-24 terdapat pada perlakuan pakan dengan suplementasi 100 mg Fe/kg pakan, yaitu sebesar 52,13 %. Pada jam ke-72 pasca



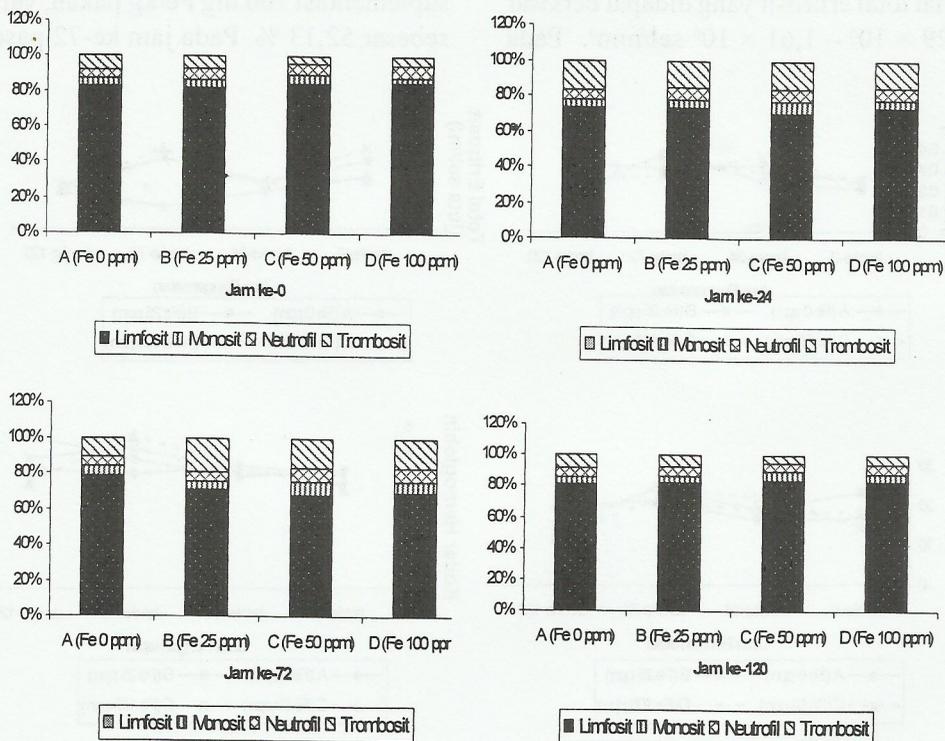
Gambar 2. Nilai rata-rata total leukosit, total eritrosit, kadar hematokrit dan kadar hemoglobin ikan kerapu bebek yang diberi pakan suplementasi Fe berbeda pada 0 jam, 24, 72 dan 120 jam pasca infeksi bakteri *Vibrio parahaemolyticus*.

infeksi bakteri, nilai kadar hematokrit seluruh perlakuan terus mengalami peningkatan dan kembali menurun pada pengamatan jam ke-120. Sedangkan nilai hemoglobin pada ikan uji yang diberi pakan suplementasi Fe meningkat hingga jam ke-72 pasca infeksi bakteri, yang berbeda dengan ikan yang diberi pakan tanpa suplementasi Fe.

Data mengenai diferensial leukosit disajikan pada Gambar 3. Ikan yang diberi perlakuan pakan dengan suplementasi 100 mg Fe/kg pakan memiliki nilai limfosit paling tinggi, yaitu sebesar 85,33%. Nilai limfosit sebagian besar perlakuan mengalami

penurunan hingga jam ke-72 pasca infeksi bakteri. Selanjutnya kembali mengalami peningkatan nilai pada jam ke-120, yaitu limfosit berkisar 76–79 %.

Sedangkan nilai rataan monosit pada jam ke-24 dan jam ke-72 pasca infeksi bakteri (Gambar 3) umumnya mengalami peningkatan. Peningkatan terbesar terjadi pada perlakuan pakan dengan dosis 100 mg Fe/kg pakan. Nilai monosit tiap perlakuan menurun saat jam ke-120. Untuk nilai rataan neutrofil, masing-masing perlakuan mengalami peningkatan pada jam ke-24 dan umumnya terjadi hingga jam ke-72 pasca infeksi. Berbeda dengan deferensial leukosit



Gambar 3. Jumlah limfosit, monosit, neutrofil dan trombosit (%) ikan kerapu bebek yang diberi pakan bersuplementasi Fe berbeda pada 0 jam, 24, 72 dan 120 jam pasca infeksi bakteri *Vibrio parahaemolyticus*.

lainnya, nilai trombosit mengalami fluktuatif untuk masing-masing perlakuan.

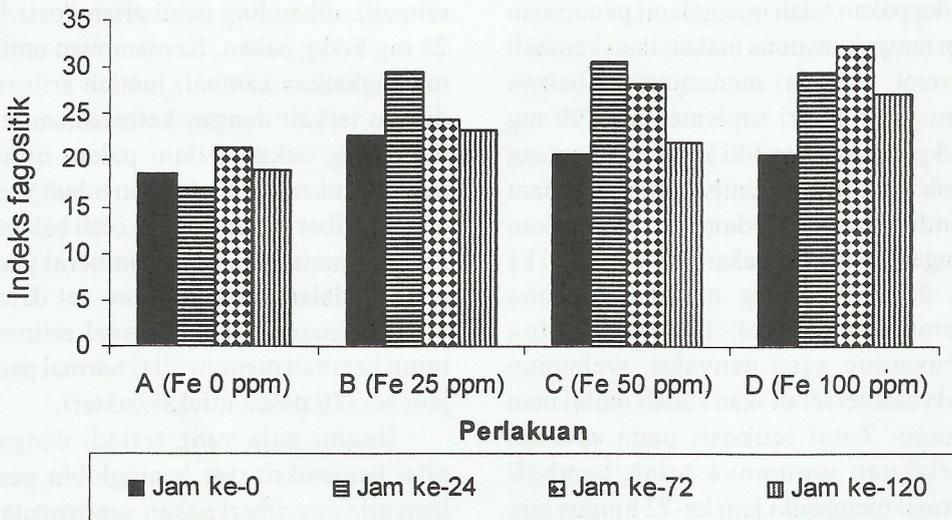
Nilai indeks fagositik ikan yang diberi perlakuan pakan suplementasi Fe meningkat sebesar 30,88–48,38%, pada jam ke-24 pasca infeksi (Gambar 4). Sedangkan pada jam ke-72, aktivitas fagositik perlakuan pakan dengan suplementasi 100 mg Fe/kg pakan terus meningkat, yaitu 20,67 % menjadi 32,33%.

PEMBAHASAN

Selama 68 hari pemberian suplementasi Fe berbeda dalam pakan menunjukkan bahwa ikan kerapu bebek (*C. altivelis*) mengalami pertumbuhan 200-245% dari bobot awal, namun tidak ada perbedaan laju pertumbuhan antar perlakuan (0, 25, 50 dan 100 mg Fe/kg

pakan). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Sakamoto & Yone (1976) pada ikan red sea bream (*Pagrus major*); Shim & Ong (1999) pada ikan guppy (*Poecilia reticulata*); Andersen *et al.* (1998) pada ikan *Salmo salar*, yang menyatakan bahwa kadar Fe pakan yang diberikan tidak mempengaruhi pertumbuhan ikan, karena zat besi (Fe) berperan sebagai *metalloenzym*, sehingga berbagai aktivitas metabolik tidak terlalu dipengaruhinya, sedangkan pertumbuhan merupakan hasil kombinasi berbagai aktivitas metabolik.

Berdasarkan pengamatan gambaran darah (Gambar 2) pada jam ke-24 pasca infeksi bakteri *V. parahaemolyticus*, meningkatnya nilai total leukosit setiap perlakuan menandakan bahwa kerapu telah terinfeksi bakteri. Leukosit merupakan sel untuk pertahanan tubuh. Peningkatan total leukosit diperoleh



Gambar 4. Indeks fagositik (%) ikan kerapu bebek yang diberi pakan suplemen Fe berbeda pada 0, 24, 72 dan 120 jam pasca infeksi bakteri *Vibrio parahaemolyticus*

pada perlakuan suplementasi 100 mg Fe/kg pakan, yaitu sebesar 48,96 %. Ikan kerapu bebek yang diberi pakan uji dosis Fe 100 mg/kg diduga memiliki cadangan Fe lebih banyak dalam jaringan tubuhnya (Linder 1992). Ketersediaan Fe dapat menyebabkan intensitas aktivitas leukosit menjadi meningkat apabila terjadi infeksi, karena ferritin sebagai cadangan Fe selain terdapat dalam plasma darah, juga terdapat dalam butir-butir darah merah dan butir-butir darah putih (Piliang & Djojosoebagio 2006). Sehingga diduga pula ikan yang diberi suplementasi 100 mg Fe/kg pakan mampu memanfaatkan kandungan zat besi yang tersedia dalam tubuh sebagai komponen penting dalam fungsi sistem imunitas dan meningkatkan sistem pertahanan tubuh.

Pada jam ke-72 pasca infeksi bakteri, nilai leukosit pada ikan kerapu bebek yang diberi suplementasi 100 mg Fe/kg pakan telah mengalami penurunan dan tampak respons makan ikan kembali normal. Hal ini menunjukkan bahwa ikan yang diberi suplementasi 100 mg Fe/kg pakan memiliki kemampuan yang lebih baik untuk kembali berada dalam kondisi stabil. Sedangkan pada ikan dengan perlakuan pakan suplementasi Fe 25 dan 50 mg/kg masih berusaha memproduksi sel leukosit untuk menyerang agen penyakit, walaupun pada saat tersebut ikan sudah mulai mau makan. Total leukosit pada seluruh perlakuan umumnya telah kembali normal memasuki jam ke-72 hingga jam ke-120 pasca infeksi.

Pengamatan terhadap jumlah eritrosit yang menurun pasca infeksi

(Gambar 2), disebabkan adanya kondisi stres oleh infeksi bakteri (Nabib & Pasaribu 1989). Berdasarkan hasil penelitian Yamamoto *et al.* (1995), bakteri *V. parahaemolyticus* memiliki kemampuan untuk memanfaatkan hemin dan hemoglobin sebagai sumber utama zat besi. Selanjutnya, Payne & Richards (1977) menjelaskan bahwa kemampuan potensial dari suatu patogen untuk mendapatkan zat besi dalam tubuh inangnya sangat penting untuk sifat virulensi dan infeksi yang dihasilkan oleh patogen tersebut.

Pada jam ke-72 pasca infeksi, ikan yang diberi pakan dengan suplementasi Fe memiliki kemampuan untuk meningkatkan kembali nilai total eritrositnya dibandingkan dengan ikan yang diberi pakan tanpa suplementasi Fe. Pemberian suplementasi Fe 50 mg/kg dan 100 mg/kg mampu dengan baik meningkatkan 61,22%-77,78% total eritrosit, dibanding pemberian dosis Fe 25 mg Fe/kg pakan. Kemampuan untuk meningkatkan kembali jumlah eritrosit diduga terkait dengan ketersediaan zat besi yang cukup dalam pakan untuk menggantikan zat besi dalam tubuh yang hilang akibat dimanfaatkan oleh bakteri. Zat besi merupakan mikromineral yang penting dalam pembentukan sel darah merah. Namun demikian total eritrosit turun kembali menuju nilai normal pada jam ke-120 pasca infeksi bakteri.

Begitu pula yang terjadi dengan nilai hematokrit dan hemoglobin pada ikan uji yang diberi pakan suplementasi Fe 50 mg/kg dan 100 mg/kg meningkat hingga jam ke-72 pasca infeksi bakteri. Hemoglobin sebagai pembawa Fe dan

pengikat oksigen di darah, pada umumnya mengalami peningkatan pada jam ke-24 dan jam ke-72 pasca infeksi bakteri. Hal ini seiring dengan peningkatan eritrosit, diduga merupakan upaya peningkatan ketersediaan oksigen yang dibutuhkan untuk metabolisme tubuh.

Hasil pengamatan diferensial leukosit menunjukkan bahwa pasca infeksi bakteri, umumnya limfosit mengalami penurunan hingga jam ke-72 (Gambar 3). Namun memasuki pengamatan jam ke-120, jumlah limfosit meningkat. Setelah melakukan aktivitas fagositik, diduga limfosit kembali memproduksi zat antibodi untuk meningkatkan sistem imun. Peningkatan produksi limfosit pada perlakuan dosis Fe 50 mg/kg dan 100 mg/kg pakan, yaitu sebesar 10,33 % dan 9,33 % lebih tinggi dibandingkan suplementasi 25 mg Fe/kg pakan yaitu 7,33 %. Menurut Brock & Mulero (2000) fase proliferasi dan aktivitas limfosit membutuhkan Fe, terutama karena Fe esensial untuk beberapa enzim seperti ribonukleat reduktase pada sintesis DNA. Penemuan ini menguatkan adanya keterkaitan penurunan proliferasi fungsi sel-T pada individu defisiensi Fe. Secara normal Fe dalam tubuh diperoleh dari transferrin melalui mekanisme interaksi permukaan sel reseptor transferrin. Sehingga defisiensi Fe dapat menurunkan tingkat kejenuhan transferrin dan konsekwensinya adalah kegagalan proliferasi sebagai langkah aktivitas limfosit. Selanjutnya Brock & Mulero (2000) mengatakan bahwa limfosit berguna untuk penyimpanan Fe intraselluler.

Fujaya (2002) mengemukakan bahwa monosit dapat memfagositasi partikel lebih besar (makrofag) dan akan diproduksi lebih banyak apabila ada sel asing atau tanda-tanda adanya agen penyakit masuk ke dalam tubuh ikan. Hal ini dapat terlihat dari nilai rataan monosit yang cenderung meningkat pada sebagian besar perlakuan hingga jam ke-72 pasca infeksi bakteri. Pada perlakuan suplementasi Fe 50 mg/kg dan 100 mg/kg pakan, terlihat aktivitas monosit meningkat sebesar 1,67% pada jam ke-24 pasca infeksi.

Beberapa penelitian memperlihatkan adanya interaksi antara kebutuhan zat besi dalam pakan dengan respons imunitas dan perlawanan terhadap adanya agen penyakit. Sealey, Lim & Klesius dalam Webster & Lim (2002) menjelaskan bahwa proses fagositik maksimum oleh makrofag terhadap adanya bakteri *Edwardsiella ictaluri* dalam ikan channel catfish (*Ictalurus punctatus*), didapat pada perlakuan suplementasi 60 mg Fe/kg pakan. Pola nilai neutrofil pun menyerupai monosit. Pada ikan teleost, neutrofil memiliki kekuatan penting dalam sistem pertahanan aktif dan dalam peredarannya diangkut oleh darah menuju tempat terjadinya luka atau serbuan patogen. Setelah penyuntikkan bakteri, aktivitas neutrofil meningkat pada jam ke-24 (Gambar 3). Sebagai respons terhadap infeksi, neutrofil mampu keluar dari pembuluh darah menuju daerah infeksi untuk membunuh bakteri (Dellman & Brown 1989). Menurut Fujaya (2002), satu neutrofil dapat memfagosit 5 sampai 20 bakteri sebelum neutrofil itu menjadi

tidak aktif dan mati. Ikan yang diberi pakan dengan suplementasi Fe 50 mg/kg dan 100 mg/kg memiliki kemampuan untuk menghasilkan neutrofil hingga jam ke-72 pasca infeksi bakteri *V. parahaemolyticus*.

Trombosit penting dalam hemostatis karena berperan menjaga kebocoran pembuluh darah. Bila terjadi sesuatu yang mengejutkan, jumlah trombosit akan meningkat tajam (Fujaya 2002). Hal ini terjadi pada pengamatan jam ke-24 pasca infeksi untuk tiap perlakuan (Gambar 2). Kemampuan meningkatkan produksi trombosit menunjukkan proses pembekuan darah masih berlangsung.

Berdasarkan Gambar 4, nilai indeks fagositik pada jam ke-24 mengalami peningkatan untuk masing-masing perlakuan, hal ini membuktikan bahwa sel fagositik memberikan respons terhadap adanya infeksi. Meningkatnya ketahanan tubuh dapat diketahui dengan meningkatnya aktivitas sel-sel fagosit. Sel-sel fagositik ini berfungsi untuk melakukan fagositosis terhadap benda asing yang masuk ke dalam tubuh inang. Nilai indeks fagositik untuk seluruh perlakuan menurun pada jam ke-120 pasca infeksi, namun pada ikan yang diberi suplementasi 100 mg Fe/kg pakan mempunyai nilai relatif lebih tinggi dibanding perlakuan lainnya.

Pada jam ke-120 pasca infeksi bakteri *V. parahaemolyticus*, kondisi darah ikan untuk setiap perlakuan umumnya telah normal kembali. Hal ini diduga bakteri dalam tubuh ikan telah melewati masa inkubasinya, yaitu selama 74 jam (Anonim 2005).

KESIMPULAN

Berdasarkan gambaran sel darah ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) terinfeksi bakteri *Vibrio parahaemolyticus*, suplementasi zat besi anorganik 50 dan 100 mg Fe/kg pakan akan mempengaruhi respon imunitas ikan,

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih diucapkan kepada Lembaga Penelitian dan Pemberdayaan Masyarakat, Institut Pertanian Bogor (LPPM-IPB) berkat dukungan dan bantuan dana yang disalurkan melalui jalur "Penelitian Dosen Muda IPB, Tahun Anggaran 2006".

DAFTAR PUSTAKA

- Amlacher, E. 1970. *Textbook of Fish Disease*. Conroy D.A., R.L. Herman (eds.) TFH Publ. Neptune. New York. 302 hlm.
- Andersen, F., B. Lygren, A. Maage, & 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. Elsevier Science. *Aquaculture*, 161:437-451
- Anderson, DP., & AK. Siwicki. 1993. Basic Haematology and Serology for Fish Health Programs. Paper Presented in second Symposium on Diseases in Asian Aquaculture

- "Aquatic Animal Health and The Environment". Phuket, Thailand. 25-29 th Oktober 1993. 185-202.
- Anonim. 2005. *Vibrio parahaemolyticus*. http://www.cdc.gov/diseaseinfo/vibrioparahaemolyticus_g.htm. 29 Mei 2006, pk. 17.02 WIB.
- Anonim. 2006. *Vibrio parahaemolyticus*. http://en.wikipedia.org/wiki/Vibrio_parahaemolyticus. 1 Juni 2006, pk. 19.58 WIB.
- Brock, JH., & V. Mulero. 2000. Cellular and molecular aspects of iron and immune function. *Proceedings of the Nutrition Society* 59:537-540.
- Calder, PC., CJ. Field & HS. Gill. 2002. *Nutrition and Immune Function*. CAB International: x + 426 hlm.
- Dellman, HD., & EM. Brown. 1989. *Buku Teks Histologi Veteriner I*. Hartono (Penerjemah). UI Press. Jakarta.
- Fujaya, Y. 2002. *Fisiologi Ikan: Dasar Pengembangan Teknologi Perikanan*. Rineka Cipta. Jakarta: xi + 179 hlm.
- Gatlin III, DM. 2002. Nutrition and fish health. Dalam: Halver, J. & RW. Hardy. (eds.). *Fish Nutrition*. Academic Press. New York. London. 672-699.
- Linder, MC. 1992. *Biokimia Nutrisi dan Metabolisme*. Parakkasi, A. (Penerjemah). UI Press. Jakarta: xxi + 781 hlm.
- Nabib, R., & FH. Pasaribu. 1989. *Patologi dan Penyakit Ikan*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. IPB. Bogor.
- Payne, SM. & AF. Richard. 1977. *The Critical Role of Iron in Host-Bacterial Interactions*. Department of Microbiology. The University of Texas Southwestern Medical School, Dallas, Texas 75235.
- Piliang, WG. & SA H. Djojosoebagio. 2006. *Fisiologi Nutrisi* Volume II. IPB Press. Bogor: xvi + 238 hlm.
- Rehulka, J. & 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, GT. 1981. Introduction to fish immunology. *Development and Com. Immunology* 5:5427-534.
- Sakamoto, S., & Y. Yone. 1976. Requirement of red sea bream for dietary Fe-I. *Report of Fishery Research Laboratory, Kyushu University*, 3:53-58.
- Shim, KF., & SI. Ong. 1999. Iron requirement of the guppy (*Poecilia reticulata* Peters). *Journal of Aquaculture & Aquatic Sciences*, 6(2). <http://go.compuserve.com/fishnet>. 4 September 2005.
- Taufik, P. 2001. Bakteri patogen pada ikan kerapu *Epinephelus sp.* dan bandeng *Chanos chanos*. *Teknologi budidaya laut dan pengembangan sea farming di Indonesia*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Eksplorasi Laut dan Perikanan & Japan International Cooperation Agency (JICA). Jakarta. 259-262.
- Webster, D., & C. Lim. 2002. *Nutrient Requirements and Feeding of Finfish for Aquaculture*. British Library. London, UK.

Wedemeyer, GA. & WT. Yatsutake. 1977. Clinical methods for the assessment of the effect environment stress on the fish health. *Technical Pappers of the U.S Fish and Wildlife Service*. US Departemen of The Interior Fish and Wildlife Service.

Yamamoto, S., H. Yoshihiro, T. Ken-ichi & S. Sumino. 1995. Utilization of Hemin and Hemoglobin as Iron Sources by *Vibrio parahaemolyticus* and Identification of an Iron-Repressible Hemin-Binding Protein. *FEMS Microbiology Letters* 128:195-200.