

**BIOAVAILABILITY FE-TEPUNG DARAH UNTUK PERTUMBUHAN
DAN PENINGKAT DAYA TAHAN TUBUH IKAN KERAPU BEBEK,
*Cromileptes altivelis***

(The Iron-Bioavailability of Blood Meal for The Fish Growth and
Immunity Enhancer of Humpback Grouper Fish, *Cromileptes altivelis*)

Mia Setiawati, Sri Nuryati, I. Mokoginta, Irzal Effendi
Dep. Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB

ABSTRAK

Ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) rentan terhadap stres, menyebabkan pertumbuhan rendah, kematian dan penurunan produksi. Zat besi (Fe) merupakan salah satu mikro nutrisi yang mampu meningkatkan daya tahan tubuh. Penggunaan tepung darah yang mengandung Fe dan protein tinggi dapat diterima sebagai pakan ikan, namun *bioavailabilitasnya* masih rendah. Upaya peningkatan absorpsi Fe-tepung darah sudah dilakukan melalui penambahan vitamin C, mineral Zn dan antioksidan sebagai nutrisi penyeimbang. Penelitian ini bertujuan menentukan jumlah maksimal tepung darah yang sudah diperkaya mikro nutrisi penyeimbang, sebagai sumber Fe dalam pakan ikan yang mampu meningkatkan pertumbuhan dan vitalitas kerapu bebek saat diinfeksi bakteri. Ikan yang digunakan berbobot awal rata-rata $11,6 \pm 0,2$ g, dipelihara pada akuarium berukuran 50x40x35 cm dengan kepadatan 10 ekor/akuarium. Pemeliharaan ikan dilakukan 40 hari dengan pemberian pakan tiga kali sehari secara *at-satiation*. Hasil penelitian menunjukkan tepung darah dapat digunakan sebanyak 120 g/kg pakan sebagai sumber Fe-organik, dengan memberikan retensi protein tertinggi $42,1 \pm 12,9\%$, peningkatan kandungan Fe di serum, hati, usus dan tubuh ikan, performa pertumbuhan ikan sama dengan penggunaan Fe-sulfat dan nilai indeks fagositik sel darah ikan sesudah diinfeksi bakteri *vibrio alginolyticus* lebih tinggi dibandingkan perlakuan lainnya.

Kata kunci : Tepung darah, zat besi (Fe), ikan kerapu bebek, pakan dan gambaran sel darah.

ABSTRACT

Humpback grouper (*Chromileptes altivelis*) is sensitive to stress that cause low growth rate, mortality, and harvest. Iron is micro-nutrient that can enhance the immunity. The use of blood-meal which contain of high Fe and protein in the fish feed can be accepted as food supplement; however the bioavailability of Fe is still low. To increase the absorption of Fe in blood-meal, the fish feed was supplemented vitamin C, Zn and attractant as a micro nutrient balancing. This experiment was conducted to determine the maximal volume of the enriched blood meal as Fe source for fish growth and vitality increase at infected by bacteria. The fish weight $11,60 \pm 0,2$ g/ind and was cultured in 50x40x35 cm aquarium and stocked at a density of 10 ind./aquarium. Reared for 40 days, the fish was fed by diet three times daily at a satiation. The results showed that the fish fed by 120 g/kg diet of blood meal as Fe source gave the best for protein retention $42,1 \pm 2,9\%$, increased concentration of Fe in liver, intestine and body tissue. The growth performance of fish was not significant different with the fish fed by Fe-sulfat supplementation. The index of phagocytic after infecting of *vibrio alginolyticus* was higher compare to the other experiment diet.

Keywords: Blood meal, iron (Fe), humpback grouper, feed and blood cell.

PENDAHULUAN

Budidaya kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) sering mengalami kendala, karena kerapu mudah stres sehingga mengakibatkan ikan rentan terserang bakteri atau virus. Tingkat mortalitas yang tinggi berdampak kerugian besar dalam usaha budidaya ikan. Suatu strategi yang dapat dilakukan untuk meningkatkan produktivitas budidaya ikan yaitu memanfaatkan respons imunitas ikan (Rijkers 1981), upaya proteksi tubuh ikan melalui pemberian pakan berkualitas. Sedangkan lebih dari 60% biaya produksi budidaya ikan berasal dari pakan.

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). Bahan baku pakan yang dapat digunakan sebagai pakan ikan dan mengandung mineral Fe tinggi sampai 2700 mg/kg yaitu tepung darah (Bureau, 1999; Johnson and Summerfelt, 2000). Penggunaan tepung darah yang kaya akan unsur Fe dan sebagai sumber protein substitusi tepung ikan, ternyata dapat diterima oleh kerapu bebek, namun *bioavailability* Fe nya masih rendah, sehingga hanya 3% sampai 6% tepung darah yang dapat digunakan dalam formulasi pakan ikan (Setiawati, dkk, 2007). Namun demikian upaya peningkatan absorpsi Fe-tepung darah, sudah dilakukan melalui penambahan 1000 mg Vitamin C, 50 mg Zn/kg pakan dan 3% antioksidan sebagai nutrisi penyeimbang (Setiawati, dkk, 2007 dan 2008). Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menentukan jumlah penggunaan tepung darah maksimal sebagai sumber protein sekaligus sumber mineral Fe dalam pakan ikan yang mampu meningkatkan pertumbuhan dan vitalitas kerapu bebek saat diinfeksi bakteri.

METODE PENELITIAN

Lokasi penelitian di Stasiun Lapangan Pusat Studi Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor (PSIK IPB) – Ancol, Jakarta Utara. Ikan uji yang digunakan kerapu bebek (*C. altivelis*) berbobot awal $11,6 \pm 0,3$ gram, berasal dari hasil pembenihan Balai Riset Budidaya Air Payau Situ Bondo, Jawa Timur. Penelitian diawali dengan pemeliharaan ikan uji selama 40 hari yang diberi pakan buatan

berbasis tepung darah sebagai sumber protein dan mineral Fe terhadap kinerja pertumbuhan ikan. Selanjutnya dilakukan pengujian respons imunitas ikan uji melalui infeksi bakteri *V. alginolyticus* dengan konsentrasi 10^7 CFU/ml.

Pakan uji yang digunakan berupa pellet *isonitrogenous* dengan C/P rasio $9,5 \pm 0,1$ kkal/kg pakan (Tabel 1). Sebagai perlakuan yaitu penggunaan tepung darah sebanyak 0, 90, 120 dan 150 mg/kg pakan.

Tabel 1. Formulasi pakan uji ikan kerapu bebek (*Cromileptes alitivelis*)

Bahan Pakan	Perlakuan Pakan / Tepung darah (%)			
	0	9	12	15
Tepung ikan	48,0	35,0	32,0	28,0
Tepung darah ¹⁾	0,0	9,0	12,0	15,0
Protein nabati	30,9	29,9	28,5	28,9
Minyak	12,0	13,0	13,4	14,0
Vitamin mix	0,5	0,5	0,5	0,5
Mineral mix ²⁾	3,0	3,0	3,0	3,0
Feed additive	0,0	1,5	1,5	1,5
Atraktan + vit.C + Zn ³⁾	0,0	3,1	3,1	3,1
Karbohidrat + binder	6,0	6,0	6,0	6,0
Komposisi Proksimat (%)				
Protein	55,3	55,3	55,3	54,9
Lemak	17,7	15,9	17,2	15,2
BETN	11,8	12,7	13,9	15,8
Energi (kal/kg)	5272,1	5144,2	5311,4	5168,5
Zn (ppm)	106,4	281,8	310,7	284,1
Fe (ppm)	240,2	417,9	461,6	529,8

¹⁾ Tepung darah dengan metode *spray-dried*

²⁾ Mineral mix tanpa Fe

³⁾ Zn 150 ppm, 1000 mg vitamin C dan 3% atraktan (Setiawati, dkk. 2007 dan 2008)

Ikan diberi pakan sampai kenyang, tiga kali sehari. Selama pengujian, ikan dipelihara menggunakan sistem resirkulasi, dalam wadah akuarium berukuran 50x40x35 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, pH 8, kandungan oksigen terlarut 5,86-6,23 ppm, total amonia-nitrogen (TAN) 0,079-0,233 ppm dan alkalinitas 112-128,17 ppm (layak untuk kehidupan ikan).

Rancangan Penelitian Acak Lengkap, dengan 4 perlakuan dan masing-masing perlakuan 3 ulangan (4 x 3).

Setelah pemeliharaan 40 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 pemberian jumlah tepung darah berbeda dalam pakan. Performans ikan dilakukan dengan menimbang bobot ikan pada awal dan akhir penelitian, menghitung jumlah pakan yang dikonsumsi serta menganalisa proksimat tubuh ikan. Sehingga diperoleh laju pertumbuhan harian, efisiensi pakan, nilai retensi protein dan retensi lemak pakan. Status kesehatan ikan juga dianalisis dengan mengamati karakteristik darahnya. Sampel darah diambil dari artery caudalis dengan menggunakan *syringe* yang telah diberi antikoagulan, kemudian disimpan dalam tabung ependorf untuk pengamatan selanjutnya di laboratorium.

Pengamatan dan penghitungan jumlah sel darah merah, sel darah putih, hematokrit dan diferensial leukosit menggunakan metode Anderson dan Swicki (1993), sedangkan pengukuran kadar hemoglobin mengikuti Wedermeyer dan Yasutake (1977). Selanjutnya ikan dibedah, diambil usus dan hatinya untuk dianalisa kandungan Fe organ dan tubuhnya menggunakan pengabuan basah (AOAC 1990) yang kemudian dibaca pada *Atomic Absorption Spectrometry*.

Penelitian dilanjutkan dengan melakukan ujiantang terhadap infeksi bakteri *V. alginolyticus* dengan konsentrasi 10^7 CFU/ml untuk mengetahui tingkat daya tahan tubuh ikan. Pengamatan kesehatan ikan dilakukan melalui pengambilan sampel darah ikan pada hari ke-3, hari ke-5 serta hari ke-9 pasca infeksi. Parameter karakteristik darah yang diamati meliputi total leukosit, total eritrosit, kadar hemoglobin, hematokrit dan indeks fagositik. Pengukuran Indeks Fagositik berdasarkan modifikasi dari Anderson & Siwicki (1993). Fagositosis dihitung dari 100 sel fagosit yang teramati.

Respons pertumbuhan ikan uji pada setiap perlakuan dianalisa keragamannya dengan analisis varians, sedangkan respons gambaran darah ditampilkan secara deskriptif. Untuk melihat respons perlakuan tertentu pada suatu waktu, maka dilakukan pengujian deskriptif antar perlakuan pada waktu yang sama disetiap parameter, yang menunjukkan adanya perbedaan/mulai terjadi perubahan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kinerja Pertumbuhan dan Status Mineral

Pemakaian sumber zat besi organik yaitu tepung darah sebagai pengganti sumber anorganik (ferrosulfat) memberikan pengaruh nyata terhadap respons kinerja pertumbuhan kerapu bebek (Tabel 2).

Tabel 2. Konsumsi pakan (KP), retensi protein (RP), retensi lemak (RL), laju pertumbuhan harian (LPH), pertumbuhan panjang relatif (PR), efisiensi pakan (EP) dan kelangsungan hidup (KH) kerapu bebek yang diberi pakan berbasis tepung darah sebagai sumber Fe-organik

Parameter	Perlakuan/ Penggunaan Tepung Darah (%)			
	0	9	12	15
SR (%)	96,7 ± 5,8 ^a	83,9 ± 11,6 ^{ab}	86,7 ± 11,6 ^{ab}	73,3 ± 5,8 ^b
KP (gr)	237,8 ± 13,8 ^a	209,2 ± 11,7 ^b	224,8 ± 28,1 ^{ab}	236,4 ± 24,1 ^{ab}
LPH (%)	1,7 ± 0,2 ^a	1,7 ± 0,3 ^a	1,7 ± 0,2 ^a	1,8 ± 0,2 ^a
EP (%)	43,4 ± 5,8 ^a	39,6 ± 5,5 ^{ab}	40,5 ± 5,7 ^a	31,9 ± 2,6 ^b
RP (%)	39,2 ± 3,6 ^{ab}	40,2 ± 12,2 ^{ab}	42,1 ± 12,9 ^a	23,1 ± 7,7 ^b
RL (%)	19,1 ± 1,9 ^{ab}	22,9 ± 8,9 ^a	18,7 ± 8,9 ^{ab}	10,0 ± 5,1 ^b

Ket: Huruf superscript dibelakang nilai standar deviasi pada baris yang sama menunjukkan pengaruh perlakuan berbeda nyata ($p < 0.05$) dengan selang kepercayaan 95%.

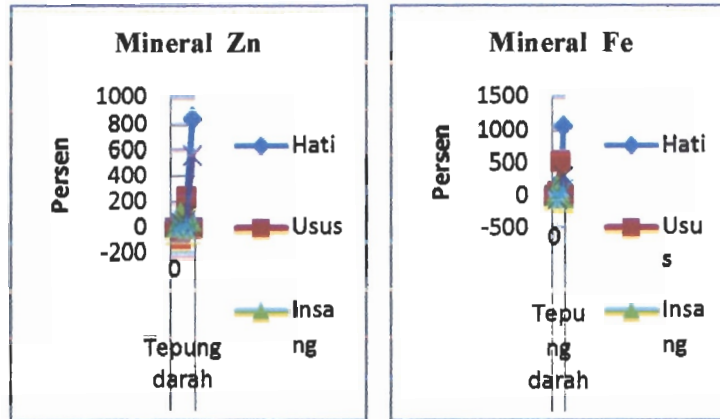
Berdasarkan Tabel 2, tampak bahwa ikan yang diberi pakan mengandung tepung darah sampai 15% mengkonsumsi jumlah pakan yang relatif sama dengan ikan yang diberi pakan tanpa tepung darah. Hal ini menunjukkan bahwa palatabilitas pakan dengan pemakaian tepung darah sampai 150g/kg pakan dapat diterima ikan. Berbeda dengan penelitian sebelumnya, maksimal penggunaan tepung darah dalam formulasi pakan kerapu bebek hanya 6% (Setiawati, dkk., 2007). Namun dengan dilakukan penambahan atraktan, vitamin C dan mineral Zn pada pakan berbasis Fe-tepung darah (Tabel 1), terbukti dapat meningkatkan penggunaan tepung darah sampai 2,5 kali lebih banyak dari jumlah yang disarankan sebelumnya. Banyaknya pakan yang dimakan berpengaruh pada asupan nutrisi pakan secara langsung (*food intake*). Setelah 40 hari pemberian pakan berbasis Fe-tepung darah, hasil menunjukkan bahwa peningkatan laju pertumbuhan ikan sama pada semua perlakuan. Hal ini menunjukkan tepung darah sebanyak 15% dan tepung ikan 35,5% memberikan respons laju

pertumbuhan ikan sama dengan penggunaan tepung ikan 51,5% dalam formulasi pakan. Tepung darah dapat mensubstitusi penggunaan tepung ikan dalam formulasi pakan kerapu bebek dan berfungsi sebagai asupan sumber protein dan energi. Penggunaan tepung darah lebih ekonomis dalam pembuatan pakan ikan, karena merupakan bahan *by product*, bahan limbah yang selalu tersedia di RPH (rumah pemotongan hewan).

Konsumsi pakan yang tinggi dan tidak diiringi dengan laju pertumbuhan ikan yang tinggi, menyebabkan terjadinya perbedaan efisiensi pakan (Tabel 2). Hal ini terkait dengan kemampuan ikan dalam mencerna pakan yang diberikan kemudian menyimpannya di dalam tubuh. Hasil menunjukkan retensi protein terbaik pada penggunaan 12% tepung darah, yaitu $42,1 \pm 12,9$ %. Sedangkan retensi lemak pada ikan yang diberi pakan sumber mineral Fe-tepung darah 15% paling rendah. Retensi lemak yang rendah ini menunjukkan bahwa lemak dalam pakan sebagai sumber energi dapat dimanfaatkan secara efisien dalam metabolisme tubuh ikan dengan ketersediaan Fe yang cukup dalam tubuh. Hal ini juga dikemukakan oleh Webster dan Lim (2002), bahwa Fe berpengaruh pada metabolisme energi (lemak, protein dan karbohidrat).

Status mineral Fe dan Zn pada beberapa organ dan tubuh ikan, jika dibandingkan kontrol, yaitu pemberian pakan 0% tepung darah disajikan pada Gambar 1. Kandungan mineral di hati dan serum terus menunjukkan peningkatan pada penggunaan tepung darah 15%, namun akumulasi di usus terdapat pada ikan yang diberi pakan mengandung tepung darah 12%. Hal ini menunjukkan bahwa tepung darah juga berperan sebagai sumber mineral Fe dalam pakan dan *bioavailability* Fe-tepung darah lebih baik dibandingkan ikan yang tidak diberi tepung darah dalam pakannya. Hati merupakan tempat penyimpanan dan regulasi metabolisme Fe, sedangkan darah merupakan tempat transportasi nutrisi bagi sel. Usus merupakan tempat penyerapan mineral divalen (Fe dan Zn) dari asupan pakan. Demikian pula dengan kandungan mineral Zn, akibat suplementasi Zn dalam pakan sebagai mikro nutrisi penyeimbang asupan Fe, maka tidak terjadi penurunan kadar Zn dengan meningkatnya jumlah Fe sampai 529,8 ppm dalam pakan (Tabel 1). Hasil penelitian ini telah memberikan solusi dan membantah

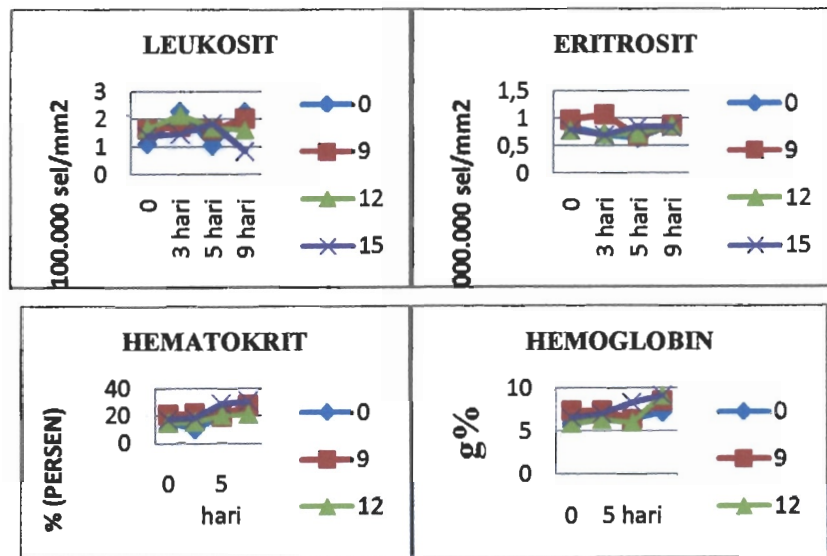
pendapat Otubosin (1987) bahwa penggunaan tepung darah dalam formulasi pakan tidak dapat dalam jumlah besar.



Gambar 1. Status mineral Fe dan Zn pada beberapa jaringan tubuh ikan kerapu bebek, (*Cromileptes altivelis*) setelah diberi jumlah pakan berbasis Fe-tepung darah berbeda terhadap pakan kontrol (0% tepung darah)

Respons Imunitas

Respons imunitas dilakukan untuk mengetahui *bioavailability* Fe-tepung darah terhadap daya tahan tubuh ikan kerapu bebek diinfeksi bakteri *Vibrio alginolyticus* dosis 10^7 CFU/ml. Pada pengamatan pasca infeksi, hasil menunjukkan total leukosit ikan kerapu bebek mengalami fluktuasi pada hari ke-3, 5 dan 9 (Gambar 2). Hasil analisa gambaran darah yang dilakukan pada hari ke-3 menunjukkan jumlah leukosit dan persen hematokrit, berubah cukup tinggi hampir pada semua perlakuan. Kondisi ini menandakan ikan mengalami stres akibat diinfeksi bakteri. Ikan meningkatkan kinerja pertahanan tubuhnya dengan memproduksi leukosit lebih banyak. Peningkatan terbesar terjadi pada ikan yang diberi pakan tidak mengandung tepung darah, yaitu sampai 100% dibandingkan kondisi normal. Demikian pula kadar hematokritnya mengalami penurunan terbesar. Kadar hematokrit sebagai gambaran kelimpahan sel-sel darah merah dalam darah. Perubahan jumlah hematokrit menunjukkan respons ikan terhadap stres melalui produksi sel darah seperti eritrosit. Menurut Satchell (1970) kelimpahan sel darah merah ditentukan oleh jumlah hematokrit, sedangkan menurut Nabib dan Pasaribu (1989) peningkatan eritrosit merupakan respons terhadap stres.



Gambar 2. Nilai Rataan Total Leukosit (TL), Total Eritrosit (TE), Kadar Hematokrit (Ht) dan Kadar Hemoglobin (Hb) pada 0, 3, 5 dan 9 hari pasca infeksi bakteri *Vibrio alginolyticus*

Pada hari ke-5 pasca infeksi bakteri, nilai parameter gambaran darah ikan tampak mengalami perubahan cukup besar dibandingkan dengan nilai sebelumnya. Jumlah leukosit mengalami penurunan pada ikan yang tidak diberi tepung darah dan yang diberi Fe-tepung darah 9 dan 12%. Penurunan ini menunjukkan bahwa ikan dalam kondisi lemah karena jumlah sel darah putih yang berperan sebagai sel fagosit sangat sedikit. Persentase hematokrit terus mengalami peningkatan, tertinggi pada ikan yang diberi pakan tanpa tepung darah dan yang diberi pakan dengan Fe-tepung darah 15%. Peningkatan hematokrit ini menunjukkan bahwa ikan stres dan berusaha meningkatkan partikel darahnya (eritrosit dan leukosit) untuk mengatasi virulensi bakteri yang diduga mulai menyerang organ. Payne *et al.* (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. Namun demikian, ikan yang diberi pakan mengandung Fe-tepung darah, merespons memberikan ketersediaan Fe pada jaringan cukup memadai (Gambar 1) dan menyebabkan kadar hemoglobin serta jumlah eritrosit relatif stabil.

Pada hari ke-9 pasca infeksi tampak adanya peningkatan karakteristik darah dan status kesehatan ikan mulai membaik. Eritrosit meningkat pada seluruh perlakuan. Kemampuan ikan untuk meningkatkan jumlah eritrosit diduga terkait dengan ketersediaan zat besi yang cukup dalam jaringan untuk menggantikan zat besi dalam tubuh yang hilang akibat dimanfaatkan oleh bakteri. Begitu pula yang terjadi dengan nilai hematokrit dan hemoglobin pada ikan uji yang diberi pakan berbasis Fe-tepung darah, mengalami peningkatan menuju kondisi stabil. Namun demikian sampai hari ke-9 pasca infeksi, ikan tampak masih berusaha memproduksi sel leukosit untuk menyerang agen penyakit. Tidak seperti eritrosit yang bersifat pasif dan melaksanakan fungsinya dalam pembuluh darah, leukosit mampu bergerak keluar dari pembuluh dan menuju jaringan dalam melaksanakan fungsinya (Delman dan Brown, 1989). Hasil perhitungan sel fagosit, memberikan nilai tertinggi pada ikan yang diberi pakan Fe-tepung darah 12%, yaitu $19 \pm 2\%$.

KESIMPULAN

Maksimal penggunaan tepung darah yang diperkaya dengan mikro nutrien penyeimbang dalam pakan kerapu bebek dapat mencapai 150 mg/kg pakan. Namun *bioavailability* Fe-tepung darah optimum pada penggunaan 120 mg/kg pakan dapat meningkatkan pertumbuhan dan imunitas kerapu bebek, *Cromileptes altivelis* diinfeksi bakteri *V. alginoliticus*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh DIPA IPB, Nomor: 4/13.24.4/SPK/BG-PD/2009, Tanggal 30 Maret 2009, melalui dana Penelitian Hibah Bersaing, diucapkan terima kasih kepada LPPM IPB yang telah memfasilitasinya.

Terima kasih kepada sdr. Bayu dan Fatwa (S1- Budidaya Perairan-FPIK, IPB) atas kerjasamanya, sehingga penelitian ini terlaksana.

DAFTAR PUSTAKA

- 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.
- Bureau, D. P. , A. M. Harris, C. Y. Cho. 1999. Apparent digestibility of rendered animal protein ingredients for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 180 : 345-358
- 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.
- Johnson, J. A. and R. C. Summerfelt. 2000. Spray-dried blood cells as a partial replacement in diets for rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of the world aquaculture society*, 31 (1) : 96-117.
- Nabib, R., & FH. Pasaribu. 1989. *Patologi dan Penyakit Ikan*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. IPB. Bogor.
- Otubusin, S. O. 1987. Effect of different levels of blood meal in pelleted feeds on tilapia, *Oreochromis niloticus*, production in floating bamboo Net-Cages. *Aquaculture*, 65: 263-266.
- Rijkers, GT. 1981. Introduction to fish immunology. *Development and Com.Immunology*, 5:5427-534.
- Satchell, G. H. 1970. *Physiology and form of Fish circulation*. Cambridge University Press. 79p
- Setiawati, M, S. Nuryati dan I. Mokoginta. 2007. Bioavailability Fe-tepung darah untuk pertumbuhan dan peningkat daya tahan tubuh ikan kerapu bebek, *Cromileptes altivelis*. Laporan Penelitian Hibah Bersaing No. 012/SP2H/PP/DP2M/III/2007 (003.1/13.11/PL/2007). Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Institut Pertanian Bogor.
- Setiawati, M, S. Nuryati dan I. Mokoginta. 2008. Bioavailability Fe-tepung darah untuk pertumbuhan dan peningkat daya tahan tubuh ikan kerapu bebek, *Cromileptes altivelis*. Laporan Penelitian Hibah Bersaing No. 318/SP2H/PP/DP2M/III/2008. Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Institut Pertanian Bogor.

- 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.