

Respons pertumbuhan dan fisiologis ikan bawal *Colossoma macropomum* yang diberi pakan mengandung minyak cengkeh dosis tinggi

The growth and physiological responses of tambaqui *Colossoma macropomum* fed on the high dose of clove oil-supplemented diet

Andi Tiara Eka Diana Puteri, Dedi Jusadi*, Sri Nuryati

Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor
Kampus IPB Dramaga Bogor, Jawa Barat 16680

*Email: dedidj@ipb.ac.id

ABSTRACT

In this study, tambaqui *Colossoma macropomum* juvenile were given feed supplemented with clove oil *Syzygium aromaticum* at a dose of 0 and 100 mg/100 g diet. This study purposed to assessment the effect of clove oil supplementation at high dose (100 mg/100 g diet) on growth performance and health status of freshwater tambaqui. As many as 25 fishes with initial body weight 7.62 ± 0.44 g maintained in 15 aquariums for 45 days. Each treatment consisted of three replications. Data were analyzed by t-test. The results showed that tambaqui growth performance on both treatments were not significantly different. However, supplementation of high doses 100 mg clove oil/100 g diet showed reduce on the blood parameters and declining the abundant of intestinal microflora in tambaqui gut, but the types seen more diverse. The observation of fish liver histology showed that hepatocyte cells in the treatment of 100 mg clove oil become smaller and dense compared with 0 mg clove oil treatment. The use of high doses of clove oil does not interfere with the tambaqui growth performance despite the downturn in the physiological responses were observed.

Keywords: clove oil, *Syzygium aromaticum*, *Colossoma macropomum*, growth performance

ABSTRAK

Di dalam penelitian ini, benih ikan bawal tawar *Colossoma macropomum* dipelihara dengan pemberian pakan yang ditambah minyak cengkeh *Syzygium aromaticum* pada kadar 0 dan 100 mg/100 g pakan. Tujuannya untuk melihat pengaruh penambahan minyak cengkeh di dalam pakan pada dosis tinggi (100 mg/100 g pakan) terhadap performa pertumbuhan dan respons fisiologis ikan bawal. Sebanyak 25 ekor ikan bawal dengan bobot individu awal $7,62 \pm 0,44$ g dipelihara pada 15 akuarium selama 45 hari. Data yang diperoleh dianalisis dengan uji komparasi t-test antar dua perlakuan dengan tiga ulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh dari kedua perlakuan terhadap parameter pertumbuhan. Namun, pemberian pakan yang mengandung minyak cengkeh dosis tinggi 100 mg/100 g pakan mempengaruhi respons fisiologis berupa rendahnya kisaran nilai gambaran darah serta menurunnya jumlah mikroflora di usus ikan bawal, meski jenisnya lebih beragam. Hasil pengamatan histologi hati ikan pada perlakuan 100 mg minyak cengkeh menunjukkan bahwa sel hepatosit berukuran lebih kecil dan terlihat rapat dibandingkan dengan perlakuan 0 mg minyak cengkeh. Penggunaan minyak cengkeh dosis tinggi tidak mengganggu performa pertumbuhan ikan bawal meskipun terjadi penurunan pada respons fisiologis yang diamati.

Kata penting: minyak cengkeh, *Syzygium aromaticum*, *Colossoma macropomum*, performa pertumbuhan

PENDAHULUAN

Minyak cengkeh memiliki potensi sebagai *growth promoter* pada unggas jenis broiler pada dosis 400 ppm (Dalkilic & Güler, 2009). Penelitian pada ikan menyebutkan bahwa penambahan minyak cengkeh pada dosis 8 mg/100 g dalam pakan yang diberikan pada ikan nila memperlihatkan efek positif terhadap kinerja

pertumbuhan. Bobot tubuh ikan meningkat sebesar 261% dengan konversi pakan (FCR) 2,2 sedangkan pakan kontrol hanya sebesar 128,2%, dengan FCR 3,6. Nilai total eritrosit meningkat dari 0,93 juta sel/mm³ (kontrol) menjadi 1,62 juta sel/mm³, diikuti peningkatan nilai hemoglobin dari 6,3 g% (kontrol) menjadi 7,7 g%. Selain itu, nilai hematokrit juga meningkat dari 37,03% (kontrol) menjadi 45,58% (Gaber, 2000).

Minyak cengkeh yang diaplikasikan pada konsentrasi 75 ppm tidak mengindikasikan adanya perubahan hematologi ikan mas koki *Carassius auratus* sehingga minyak cengkeh tergolong sebagai anastesi alami yang aman meskipun masih diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kemungkinan toksisitasnya (Abdolazizi *et al.*, 2011). Penambahan minyak cengkeh konsentrasi 3% pada pakan ikan nila, tidak menunjukkan terjadinya kematian ketika diinfeksi dengan bakteri *Lactococcus garvieae*. Hal ini menunjukkan peranan minyak cengkeh sebagai antibakteri. Hasil yang sama juga ditunjukkan pada perlakuan pakan yang ditambahkan *oxytetracycline*, sehingga minyak cengkeh dikatakan memiliki potensi sebagai alternatif pengganti antibiotik (Rattanachaiakunsopon & Phumkhachorn, 2009). Minyak cengkeh diketahui memiliki spektrum yang luas sebagai antifungal terhadap jenis fungi *Candida*, *Aspergillus* dan dermatophyta (Pinto *et al.*, 2008). Sementara itu, kombinasi penggunaan minyak cengkeh dan minyak kayu manis dalam bentuk uap (*vapour*) maupun kontak langsung menunjukkan efek sinergis sebagai antibakterial terhadap bakteri Gram negatif maupun positif yang diujikan (Goñi *et al.*, 2009).

Penggunaan minyak cengkeh yang mengandung salah satu bahan aktif berupa metil eugenol telah diatur kadar maksimum kandungannya pada produk-produk perikanan sebesar 10 mg/kg (setara dengan 1 mg/100 g), sementara pada produk daging unggas batas maksimumnya sebesar 15 mg/kg (FSAI, 2012). Minyak cengkeh telah ditetapkan aman (*Generally regarded as safe*) oleh *United States Food and Drug Administration* (USFDA) pada penggunaan tidak lebih dari 1500 ppm untuk kategori zat aditif pada makanan (USFDA, 2007).

Produk olahan cengkeh memiliki potensi yang besar untuk digunakan sebagai *feed additive* yang bersumber dari bahan alami karena terbukti efektif (Cortes-Rojas *et al.*, 2014). Selain itu, menurut Tekeli *et al.* (2007), bahan aktif minyak cengkeh (eugenol) diketahui mampu menjadi stimulus pencernaan serta meningkatkan nafsu makan (*appetite*) pada ruminansia. Zeppenfeld *et al.* (2015) memperoleh dosis optimal penambahan minyak esensial dari tanaman lemon verbena *Aloysia triphylla* yang diberikan pada pakan ikan lele silver *Rhamdia quelen* sebesar 2 mL/kg pakan (setara dengan 200 mg/100 g pakan). Dosis tersebut merupakan dosis tertinggi yang pernah digunakan sebagai *feed additive* untuk

memacu pertumbuhan pada ikan. Informasi lain mengenai penggunaan minyak cengkeh dalam pakan ikan pada dosis tinggi yang mendekati ketentuan maksimal 150 mg/100 g (USFDA, 2007) belum banyak diteliti. Oleh karena itu, melalui penelitian ini ingin diketahui pengaruh penambahan minyak cengkeh di dalam pakan ketika diberikan tanpa minyak cengkeh (0 mg/100 g pakan) maupun pada dosis tinggi 100 mg/100 g pakan terhadap performa pertumbuhan dan respons fisiologis ikan bawal *Collossoma macropomum*. Respons fisiologis ditinjau dari pengamatan gambaran darah sebagai gambaran respons stres, kelimpahan mikroflora alami dalam saluran pencernaan untuk melihat respons mikroflora terhadap kemampuan beradaptasi dengan kandungan pakan dan kondisi organ hati yang berhubungan dengan metabolisme.

BAHAN DAN METODE

Rancangan percobaan

Penelitian ini menggunakan uji komparasi t-test antar dua perlakuan dan tiga ulangan. Perlakuannya adalah penambahan minyak cengkeh ke dalam pakan pada dosis 0 dan 100 mg/100 g pakan. Ikan bawal diberi pakan yang ditambah minyak cengkeh pada dosis sesuai perlakuan tersebut. Penelitian ini mengacu pada dosis optimal penambahan minyak cengkeh yaitu 8 mg/100 g pakan menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan terhadap kinerja pertumbuhan dan kesehatan ikan nila (Gaber, 2000). Sementara itu, penelitian ini menggunakan dosis yang lebih tinggi untuk dibandingkan dan dilihat pengaruhnya pada ikan bawal. Dosis tersebut mendekati ketentuan maksimal penggunaan minyak cengkeh sebagai zat aditif dalam makanan yaitu 150 mg/100 g (USFDA, 2007).

Pakan uji

Minyak cengkeh diperoleh dari salah satu penyedia minyak atsiri di kota Bogor. Tabel 1 memperlihatkan formulasi pakan uji yang digunakan memiliki kadar protein pakan berkisar 29,14–31,20% dan *gross energy* 418,551–420,327 kkal/GE. Minyak cengkeh yang ditambahkan pada pakan uji sebelumnya diemulsikan dengan 2% telur (20 g/100 g pakan) serta 200 mL air. Adonan pakan uji dicetak pada mesin pencetak pelet berdiameter 1–2 mm kemudian dikeringkan pada oven bersuhu 40 °C selama 24 jam. Pakan yang sudah jadi dikemas dalam plastik kemudian disimpan pada tempat yang tidak lembab.

Tabel 1. Formulasi dan hasil analisis proksimat pakan uji

Bahan baku	Perlakuan (mg minyak cengkeh/100 g pakan)	
	0	100
Tepung ikan	15,00	15,00
Tepung tulang dan daging	10,00	10,00
Tepung kedelai	25,00	25,00
Pollard	39,75	38,75
Tapioka	3,00	3,00
Vitamin dan mineral	3,00	3,00
Minyak jagung	1,00	1,00
Minyak ikan	2,00	2,00
Metionin	0,25	0,25
Lisin	0,50	0,50
NaCl	0,50	0,50
Minyak cengkeh	0,00	0,10
Jumlah (%)	100,00	100,00
Komposisi proksimat (%)		
Kadar air	3,14	2,92
Kadar abu	10,79	12,02
Protein	29,14	31,20
Lemak	8,09	7,93
Serat kasar	4,67	4,64
BETN	44,17	41,29
GE (kkal/100 g)	420,327	418,551

Pemeliharaan ikan

Pemeliharaan ikan dilakukan di dalam enam akuarium ukuran 100×50×45 cm³ yang ditempatkan di dalam Laboratorium Produksi, Kolam Percobaan Departemen Budidaya Perairan, Institut Pertanian Bogor. Setiap akuarium dilengkapi dengan aerasi untuk menjaga kelarutan oksigen, *thermostat* agar suhu stabil serta *top filter* untuk sirkulasi air dan mengurangi kekeruhan akibat bahan organik di dalam akuarium. Ikan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan bawal yang diperoleh dari salah satu pembudidaya ikan di Ciseeng, Tugu Lele, Parung, Kabupaten Bogor.

Sebanyak lima ekor ikan dibius, lalu disimpan ke dalam *freezer* untuk keperluan analisis proksimat. Kemudian 25 ekor ikan bawal dengan bobot individu awal 7,62±0,44 g ditebar ke dalam setiap akuarium yang diisi air 180 L untuk dipelihara selama 45 hari. Sepanjang masa pemeliharaan, ikan diberi pakan sesuai perlakuan

sebanyak tiga kali sehari (jam 08.00, 12.00, dan 16.00 WIB) secara *at satiation*. Jumlah pakan yang dikonsumsi dicatat untuk perhitungan jumlah konsumsi pakan, efisiensi pakan dan retensi protein.

Kualitas air dijaga agar tetap baik dengan cara pergantian air secara bertahap setiap hari dengan volume 30–70%. Kualitas air yang diukur meliputi oksigen terlarut, pH, amonia total dan alkalinitas dilakukan pada awal serta pertengahan masa pemeliharaan ikan (hari ke-25), sedangkan pengamatan suhu air dilakukan setiap hari. Kisaran nilai oksigen terlarut adalah 3,2–3,8 mg/L, pH 7,2–7,3, TAN 0,08–0,12 mg/L, alkalinitas 82,8–117,5 mg/L dan suhu 30–31 °C. Pada hari ke-45, ikan di seluruh akuarium dibius dengan menggunakan *Ocean free special arowana stabilizer* sebanyak 0,6 ppm (2 mL/3L air), lalu ditimbang bobotnya untuk mendapatkan data parameter pertumbuhan. Sebanyak dua ekor ikan dari setiap akuarium diambil darahnya

dan dijadikan satu untuk dilakukan analisis sel darah merah, sel darah putih, haemoglobin dan hematokrit. Dua ekor ikan diambil lalu dimasukkan ke dalam *freezer* untuk keperluan analisis proksimat, serta dua ekor lainnya diambil untuk analisis kelimpahan mikroflora dan histologi organ hati.

Parameter uji

Evaluasi hasil penelitian dilakukan di akhir penelitian. Parameter uji sebagai bahan evaluasi antara lain laju pertumbuhan harian, jumlah konsumsi pakan, efisiensi pakan, efisiensi protein, sintasan, gambaran darah, kelimpahan bakteri di saluran pencernaan dan histologi hati. Pengamatan parameter gambaran darah berupa sel darah merah, sel darah putih, kadar hemoglobin dan kadar hematokrit mengikuti Nikolov *et al.* (2010) serta Rohani *et al.* (2013). Kelimpahan bakteri diperoleh dari pembedahan ikan lalu organ usus bagian depan diambil dan ditimbang sebanyak 0,1 g. Usus digerus dengan mortar steril sambil ditambahkan larutan fisiologis sebanyak 1 mL. Larutan fisiologis ditambahkan sebanyak 9 mL dan diencerkan secara berseri hingga didapatkan konsentrasi 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} . Tahap selanjutnya dari masing-masing seri pengenceran diambil sebanyak 50 μ L dan disebar pada media agar TSA (*Tryptic Soy Agar*) lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam (Balaji *et al.*, 2012). Koloni tunggal yang tumbuh di media dihitung jumlah totalnya dan dikarakterisasi berdasarkan bentuk, Gram, uji O/F, SIM, oksidase, dan katalase mengikuti Tabel Cowan (1974). Histologi hati mengikuti prosedur Kiernan (1999). Perhitungan jumlah sel hepatosit pada organ hati dilakukan dengan *software ImageJ*.

Analisis data

Data parameter pertumbuhan yang diperoleh diolah menggunakan *Microsoft Excel 2007* kemudian dilakukan t-test dengan taraf kepercayaan 95% menggunakan SAS. Pengamatan gambaran darah serta identifikasi jenis bakteri pada saluran pencernaan dianalisis secara deskriptif. Kelimpahan jumlah bakteri yang ditemukan dalam saluran pencernaan dihitung menggunakan metode cawan sebar sesuai dengan hasil TPC (*total plate count*). Banyaknya jumlah sel hepatosit pada organ hati dihitung dengan perangkat lunak *ImageJ* pada luasan area pengamatan (mm^2) yang ditetapkan. Berikut merupakan perhitungan parameter pertumbuhan mengacu pada NRC (2011):

Sintasan

Kelangsungan hidup (SR) ikan dapat diketahui dengan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Sintasan} = \text{Nt} / \text{No} \times 100$$

Keterangan :

SR = *survival rate* (%)

Nt = jumlah ikan akhir pemeliharaan (ekor)

No = jumlah ikan awal pemeliharaan (ekor)

Jumlah konsumsi pakan (JKP)

Pengukuran JKP ditentukan dengan menghitung selisih jumlah pakan yang diberikan dikurangi jumlah pakan yang tidak dimakan.

Laju pertumbuhan harian (LPH)

Pengukuran LPH ikan uji dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$\text{LPH} = [(\text{Wt} / \text{Wo})^t - 1] \times 100$$

Keterangan:

Wt = Bobot rata-rata pada akhir pemeliharaan (g)

Wo = Bobot rata-rata pada awal pemeliharaan (g)

T = lama waktu pemeliharaan (hari)

Efisiensi pakan (EP)

Efisiensi pakan dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut (NRC, 2011):

$$\text{EP} = (\text{Bt} + \text{Bd} - \text{Bo}) / \text{F} \times 100$$

Keterangan:

EP = efisiensi pakan (%)

F = jumlah pakan yang diberikan selama pemeliharaan (g)

B = biomassa ikan akhir pemeliharaan (g)

Bo = biomassa ikan awal pemeliharaan (g)

Bd = biomassa ikan mati selama pemeliharaan (g)

Retensi protein (RP)

Nilai retensi protein dapat dihitung melalui persamaan berikut:

$$\text{RP} = (\text{Fp} - \text{Ip}) / \text{P} \times 100$$

Keterangan:

RP = retensi protein (%)

Fp = jumlah protein tubuh ikan pada akhir pemeliharaan (g)

- Ip = jumlah protein tubuh ikan pada awal pemeliharaan (g)
 P = jumlah protein yang dikonsumsi ikan selama pemeliharaan (g)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Penelitian ini dilakukan dengan memberikan pakan perlakuan berupa penambahan minyak cengkeh pada dosis 0 dan 100 mg/100 g pakan. Pakan diberikan selama 45 hari untuk melihat efeknya pada kinerja pertumbuhan ikan. Pengaruh pakan perlakuan memperlihatkan hasil seperti yang ditampilkan pada Tabel 2. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kinerja pertumbuhan ikan yang diberi pakan yang ditambahkan minyak cengkeh pada kadar 100 mg/100 g pakan nilainya tidak berbeda nyata dengan perlakuan tanpa penambahan minyak cengkeh.

Hasil pengamatan gambaran darah ditampilkan pada Tabel 3. Sel darah merah dan sel darah putih ikan bawal di perlakuan 100 mg minyak cengkeh/100 g pakan memiliki kisaran nilai yang cenderung lebih rendah dari ikan pada perlakuan tanpa penambahan minyak cengkeh. Kisaran nilai yang lebih rendah pada perlakuan yang sama juga ditemukan untuk kadar hemoglobin dan hematokrit.

Data pada Tabel 4 menunjukkan kelimpahan jumlah dan jenis mikroflora alami yang dominan dalam usus ikan bawal. Selain itu, juga diperoleh hasil perhitungan jumlah sel hepatosit pada histologi organ hati. Jumlah sel hepatosit diperlakukan tanpa minyak cengkeh adalah 9.503 sel/mm² sedangkan pada perlakuan minyak cengkeh, jumlah sel hepatosit meningkat jumlahnya menjadi 1,7 kali lipat. Kelimpahan banyaknya jumlah bakteri yang ditemukan

pada perlakuan 0 mg/100 g pakan lebih besar dibandingkan dengan perlakuan 100 mg/100 g pakan. Sementara itu, pendugaan jenis mikroflora berdasarkan Tabel Cowan, didominasi oleh *Enterobacteriaceae* (perlakuan 0 mg/100 g pakan) sedangkan pada perlakuan 100 mg/100 g pakan menunjukkan dugaan mikroflora yang lebih bervariasi yaitu jenis *Streptobacillus*, *Mycoplasma*, dan *Corynebacterium*.

Pemberian pakan yang ditambahkan minyak cengkeh 100 mg/100 g berpengaruh pada kondisi organ hati ikan. Sel hepatosit ikan di perlakuan minyak cengkeh lebih rapat dan berukuran lebih kecil dibandingkan dengan perlakuan tanpa penambahan minyak cengkeh (Gambar 1). Sel hepatosit tampak normal pada perlakuan 0 mg/100 g pakan (tanpa minyak cengkeh) sehingga dapat dikatakan tidak mengalami degenerasi. Hal tersebut berbeda dengan sel hepatosit dengan penambahan minyak cengkeh yang pada dosis tinggi 100 mg/100 g pakan yang diduga mengalami degenerasi.

Pembahasan

Penambahan minyak cengkeh pada pakan perlakuan memperlihatkan tidak ada pengaruh yang berbeda nyata pada parameter pertumbuhan ikan bawal (Tabel 1). Dosis yang digunakan dalam penelitian ini lebih tinggi hingga 12,5 kali lipat dari dosis terbaik Gaber (2000) yaitu sebesar 8 mg/100 g pakan, dimana semakin meningkat dosis penambahan minyak cengkeh yang digunakan (12 mg/100 g pakan) menyebabkan menurunnya parameter pertumbuhan serta gambaran darah ikan nila. Penggunaan minyak cengkeh hingga 100 mg/100 g pakan dikategorikan dosis tinggi yang belum banyak diteliti sehingga penelitian ini dapat menjadi gambaran bahwa dosis 100 mg/100 g pakan tidak menurunkan performa pertumbuhan

Tabel 2. Kinerja pertumbuhan ikan bawal yang diberi pakan mengandung minyak cengkeh setelah 45 hari pemeliharaan

Parameter uji	Perlakuan (mg minyak cengkeh/ 100 g pakan)	
	0	100
Bobot awal biomas (g)	192,00±16,87	188,80±2,63
Bobot biomas akhir (g)	938,8±241,95	945,6±168,88
Sintasan (%)	90,70±16,17	92,00±13,86
Jumlah konsumsi pakan (g)	1307,5±183,08	1190,9±110,76
Laju pertumbuhan harian (%/hari)	3,80±0,07	3,80±0,39
Efisiensi pakan (%)	62,30±1,32	66,70±6,30
Retensi protein (%)	31,87±6,63	35,40±5,43

Tabel 3. Gambaran darah ikan bawal yang dipelihara selama 45 hari dengan pemberian pakan mengandung minyak cengkeh

Parameter uji	Perlakuan (mg minyak cengkeh/100 g pakan)	
	0	100
Sel darah merah ($10^6/\text{mm}^3$)	0,47–0,77	0,14–0,59
Sel darah putih ($10^4/\text{mm}^3$)	4,50–7,00	3,00–6,00
Hemoglobin (g%)	9,00–10,60	8,40–9,60
Hematokrit (%)	25,00–32,50	19,05–27,91

Tabel 4. Kelimpahan jumlah dan jenis mikroflora alami yang dominan pada usus ikan bawal serta jumlah sel hepatosit per mm^2 pada histologi organ hati

Pengamatan	Perlakuan (mg minyak cengkeh/100 g pakan)	
	0	100
Jumlah bakteri (cfu/g)	$1,64 \times 10^7$	$1,8 \times 10^6$
Jenis bakteri	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Streptobacillus</i> <i>Mycoplasma</i> <i>Corynebacterium</i>
Jumlah sel hepatosit/ mm^2	9.503 ± 474	16.506 ± 1679

ikan bawal setelah 45 hari pemeliharaan. Dosis tersebut dapat ditoleransi oleh ikan bawal sehingga tidak berdampak untuk mengganggu pertumbuhan. Penelitian sebelumnya oleh Busquet *et al.* (2006) telah menggunakan dosis 3.000 mg/L atau setara dengan 300 mg/100 g ekstrak tanaman cengkeh untuk fermentasi mikrob rumen secara *in vitro* pada ruminansia terbukti mampu menurunkan konsentrasi N hingga 30–50% tanpa mengganggu pertumbuhannya.

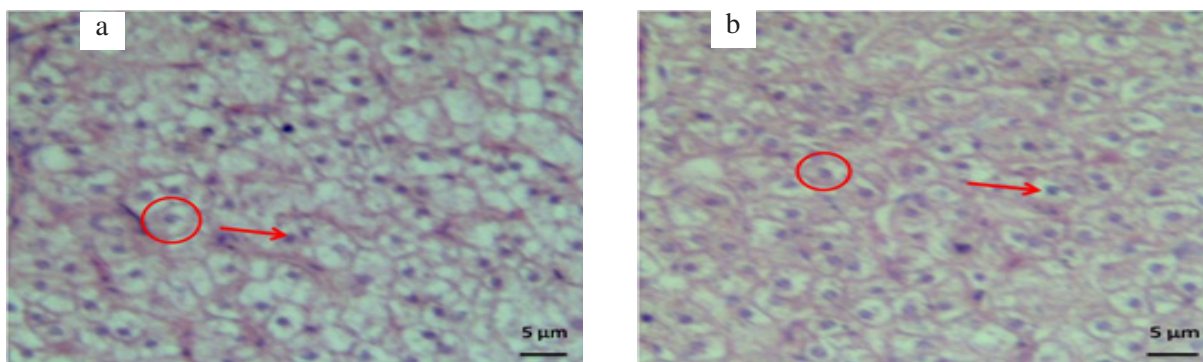
Adapun penelitian Dada (2012) menyebutkan bahwa pemberian zat aditif berupa bubuk herbal Superliv® sebanyak 10 g/kg (1000 mg/100 g) memperlihatkan hasil yang baik pada laju pertumbuhan spesifik dan konversi pakan ikan nila *Oreochromis niloticus*. Pemberian minyak cengkeh dosis 100 mg/100 g pakan sebagai zat aditif pemacu pertumbuhan pada ikan bawal memperlihatkan nilai efisiensi pakan serta retensi protein yang lebih tinggi sehingga berdampak pada peningkatan biomassa akhir yang lebih baik dibandingkan dengan perlakuan 0 mg/100 g pakan. Demikian pula dengan nilai sintasan perlakuan 100 mg/100 g pakan lebih tinggi.

Penelitian Dalkilic dan Güler (2009) menunjukkan pemberian ekstrak minyak cengkeh hingga dosis tinggi yaitu 400 ppm (40 mg/100 g) yang diberikan pada broiler memperlihatkan terjadinya peningkatan pencernaan sehingga pertumbuhan juga meningkat. Sementara itu,

Busquet *et al.* (2006) menggunakan ekstrak tanaman berupa eugenol hingga dosis sangat tinggi 3.000 mg/L atau setara dengan 300 mg/100 g terbukti mampu menurunkan konsentrasi N hingga 30–50% pada fermentasi rumen ruminansia tanpa mengganggu pertumbuhannya.

Status kesehatan, tingkatan stres dan respons fisiologi pada ikan yang diakibatkan oleh faktor tertentu seperti kondisi lingkungan dan serangan penyakit dapat diamati melalui profil gambaran darah (Vázquez & Guerrero, 2007). Pada penelitian ini, dilakukan pengamatan pada empat parameter gambaran darah untuk melihat pengaruh pakan perlakuan yang diberikan. Menurut Gaber (2000), meningkatnya kinerja pertumbuhan ikan nila seiring dengan peningkatan status kesehatannya (parameter gambaran darah) di mana pada dosis terbaik yaitu 8 mg/100 g pakan menunjukkan nilai total eritrosit yang meningkat dari 0,93 juta sel/ mm^3 (kontrol) menjadi 1,62 juta sel/ mm^3 , diikuti dengan peningkatan nilai hemoglobin dari 6,3 g% (kontrol) menjadi 7,7 g%. Selain itu, nilai hematokrit juga meningkat dari 37,03% (kontrol) menjadi 45,58%.

Hasil pengamatan parameter gambaran darah ikan bawal diperoleh kisaran nilai sel darah merah yaitu $0,44\text{--}0,64 \times 10^6$ pangkat 6 sel/ mm^3 , kisaran nilai sel darah putih yaitu $4,83\text{--}6,33 \times 10^4$ pangkat 4 sel/ mm^3 , kadar Hb (hemoglobin) memiliki rentang nilai 9,00–10,13 g%. Sementara



Gambar 1. Tampilan sel hepatosit pada histologi hati ikan bawal (perbesaran 100 kali). Skala bar: 5 µm. (a) perlakuan 0 mg/100 g pakan dan (b) 100 mg/100 g pakan. Pewarnaan hematoksilin-eosin. Gambar yang dilingkari menunjukkan sel hepatosit, tanda panah menunjukkan inti sel hepatosit.

nilai Ht (hematokrit) memiliki kisaran antara 24,08–28,92%. Kisaran nilai gambaran darah pada perlakuan 100 mg/100 g pakan cenderung lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan 0 mg/100 g pakan. Diduga dosis 100 mg/100 g pakan merupakan dosis maksimal yang dapat mempengaruhi gambaran darah ikan bawal. Walaupun demikian, hal tersebut tidak mengganggu performa pertumbuhan ikan bawal setelah 45 hari pemeliharaan dimana terjadi peningkatan biomassa pada kedua perlakuan meski tidak berbeda signifikan.

Menurut Jaffar dan Rani (2009) nilai sel darah merah ikan mujair *O. mossambicus* (famili *Cichlidae*) sebesar $1,7 \times 10^6$ sel/mm³, nilai sel darah putih sebesar $4,2 \times 10^3$ sel/mm³, nilai hemoglobin 8,2 g% dan nilai hematokrit 30%. Sementara itu, Groff dan Zinkl (1999) mengemukakan bahwa nilai sel darah merah ikan mas sebesar $1,67 \times 10^6$ sel/mm³, nilai sel darah putih sebesar $3,78 \times 10^3$ sel/mm³, nilai hemoglobin 8,2 g% dan nilai hematokrit 33,4%. Setiap jenis ikan memiliki rentang nilai hematologi tersendiri, dalam hal ini nilai sel darah merah ikan bawal terlihat rendah dibandingkan dengan ikan mas dan ikan mujair yang lebih tinggi. Selain itu, nilai sel darah putih dan hematokrit ikan bawal yang terlihat lebih tinggi dibandingkan dengan sel darah putih ikan mujair maupun ikan mas menunjukkan adanya pengaruh dari pemberian pakan mengandung minyak cengkeh terhadap perubahan hematologi ikan bawal. Tinggi maupun rendahnya jumlah sel darah merah dan sel darah putih dapat dipengaruhi oleh kebiasaan hidup dan jenis ikan (Vázquez & Guerrero, 2007; Far *et al.*, 2012; Rauf, 2015).

Sel darah merah merupakan indikasi pengaruh stress. Jumlah sel darah merah yang semakin banyak, maka suatu organisme dapat beradaptasi dan bertahan pada kondisi lingkungan yang rendah oksigen. Sementara itu, hemoglobin

berperan dalam transportasi oksigen ke seluruh bagian tubuh organisme. Ikan yang aktif, biasanya memiliki nilai hemoglobin yang tinggi. Sel darah putih pada ikan berperan penting dalam sistem pertahanan (imunitas) akibat dari stres, inflamasi dan infeksi parasit. Dalam kondisi sehat ikan umumnya memiliki jumlah sel darah putih yang rendah (Daneshvar *et al.*, 2012). Penelitian lain menunjukkan bahwa pemberian minyak cengkeh pada tikus albino menunjukkan adanya peningkatan jumlah sel darah putih (Shalaby *et al.*, 2011) sebagai respons pertahanan.

Kelimpahan jumlah mikroflora terbanyak ditemukan dalam saluran pencernaan ikan bawal pada perlakuan 0 mg/100 g pakan dibandingkan dengan perlakuan 100 mg/100 g pakan. Hal tersebut menunjukkan bahwa saluran pencernaan dalam kondisi normal, sementara penggunaan minyak cengkeh hingga dosis tinggi dapat mempengaruhi jumlah dan dominansi mikroflora alami dalam saluran pencernaan. Beragamnya jenis mikroflora yang ditemukan pada dosis 100 mg/100 g pakan memperlihatkan adanya kemungkinan mikroorganisme dari luar (lingkungan) yang masuk ke dalam saluran pencernaan ikan bawal kemudian berkolonisasi.

Keberadaan mikroflora dalam saluran pencernaan berkaitan dengan mikroorganisme yang terdapat pada lingkungan perairan sebagai habitat ikan hidup (Rekhari *et al.*, 2014). Pemberian pakan yang mengandung minyak cengkeh dosis tinggi diduga menyebabkan pertumbuhan mikroflora cenderung pada jenis tertentu saja. Pada dasarnya, mikroflora dalam saluran pencernaan tumbuh secara bertahap (Ganguly & Prasad, 2012). Pakan ikan yang mengandung 100 mg minyak cengkeh/100 g pakan secara tidak langsung menyeleksi jenis mikroflora tertentu sehingga dalam saluran pencernaan ikan bawal hanya ditemukan tiga jenis kelimpahan

mikroflora yang dominan (Tabel 4). Selain itu, sifat antibakteri minyak cengkeh dapat membatasi tumbuhnya jenis mikroflora tertentu (Dalkilic & Güler, 2009). Jenis bakteri *Corynebacterium* spp. biasanya dapat ditemukan pada sampel air kolam, sedimen, permukaan kulit ikan dan usus ikan (Rekhari *et al.*, 2014). Sementara itu, Ray *et al.* (2012) menunjukkan bahwa *Enterobacteriaceae* merupakan mikroflora alami yang sering ditemukan berada pada saluran pencernaan ikan. Penelitian terdahulu telah menemukan bahwa keberadaan mikroflora dalam saluran pencernaan menguntungkan bagi proses pencernaan inang (*host*). Hal ini berhubungan dengan peningkatan kecernaan dan pemanfaatan pakan (Austin, 2006). Beragamnya jenis mikroflora yang ditemukan pada saluran pencernaan ikan bawal pada perlakuan 100 mg/100 g pakan mempengaruhi terhadap peningkatan nilai efisiensi pakan sehingga kinerja pertumbuhan lebih baik jika dibandingkan dengan perlakuan 0 mg/100 g pakan (Tabel 2).

Penambahan minyak cengkeh menyebabkan perubahan pada struktur organ hati ikan bawal. Kondisi organ hati pada perlakuan 100 mg/100 g pakan memperlihatkan sel hepatosit cenderung lebih rapat karena mengalami pengecilan. Diduga pemberian pakan mengandung 100 mg minyak cengkeh/100 g pakan menyebabkan degenerasi sel hepatosit sebagai respons adaptasi metabolisme terhadap kebiasaan makan (*feeding habit*). Adaptasi tersebut ditandai dengan perubahan morfologi sel maupun jumlah sel hepatosit (Rašković *et al.*, 2011). Histologi hati biasanya memperlihatkan vakuola lipid, namun pada perlakuan 100 mg/100 g pakan sel hepatosit terlihat rapat sehingga tidak terdapat akumulasi lemak. Hal ini berhubungan dengan tingginya nilai retensi protein yang menjadi indikasi bahwa ikan bawal lebih banyak memanfaatkan lemak sebagai sumber energi dibandingkan protein.

Organ hati teleost umumnya memiliki dua jenis sel hepatosit antara lain yaitu *lipid-rich* dan *glycogen rich* (Petcoff *et al.*, 2006). Perbedaan kebiasaan makan dapat menyebabkan perubahan terhadap organ pencernaan seperti esofagus, lambung, hati, usus dan pankreas (Akiyoshi & Inoue, 2004). Bertambahnya sel hepatosit pada organ hati ikan bawal yang diberi pakan mengandung minyak cengkeh 100 mg/100 g pakan diduga berhubungan dengan perubahan ukuran sel hepatosit. Belum diketahui dengan pasti mengenai pengaruh perubahan ukuran sel hepatosit terhadap gangguan fungsi organ hati. Namun, dalam penelitian ini organ hati ikan

bawal tidak mengalami kerusakan sehingga minyak cengkeh dapat dimetabolisme dengan baik (Gambar 1).

KESIMPULAN

Tidak terdapat perbedaan pada parameter pertumbuhan antara ikan bawal yang diberi pakan tanpa minyak cengkeh (0 mg/100 g pakan) dengan 100 mg/100 g pakan. Respons fisiologis memperlihatkan rendahnya kisaran nilai gambaran darah pada perlakuan 100 mg/100 g pakan dibandingkan dengan perlakuan 0 mg/100 g pakan. Selain itu, juga menyebabkan penurunan pada kelimpahan jumlah mikroflora usus. Ditinjau dari kondisi organ hati, kondisi sel hepatosit menjadi kecil dan terlihat rapat. Namun demikian, masih berdampak aman bagi performa pertumbuhan ikan bawal. Minyak cengkeh pada dosis 100 mg/100 g pakan menjadi dosis *feed additive* yang aman serta mampu meningkatkan performa pertumbuhan ikan bawal.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdolazizi S, Ghaderi E, Naghdi N, Kamangar BB. 2011. Effects of clove oil as an anesthetic on some hematological parameters of *Carassius auratus*. *Journal Aquaculture Research Development* 2: 1–3.
- Akiyoshi H, Inoue A. 2004. Comparative histological study of teleost livers in relation to phylogeny. *Zoological Science* 21: 841–850.
- Austin B. 2006. The bacterial microflora of fish, revised. *Science World Journal* 6: 931–945.
- Balaji N, Rajasekaran KM, Kanipandian N, Vignesh V, Thirumurugan R. 2012. Isolation and screening of proteolytic bacteria from freshwater fish *Cyprinus carpio*. *International Multidisciplinary Research Journal* 2: 56–59.
- Busquet M, Calsamiglia S, Ferret A, Kamel C. 2006. Plant extracts affect in vitro rumen microbial fermentation. *Journal Dairy Science* 89: 761–771.
- Cortes-Rojas DG, Fernandes de Souza CR, Oliveira WP. 2014. Clove *Syzygium aromaticum*: a precious spice. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 4: 90–96.
- Cowan ST. 1974. *Cowan and Steel's Manual for Identification of Medical Bacteria*, 2nd ed. England: Cambridge University Press.
- Dada AA. 2012. Effects of herbal growth promoter feed additive in fish meal on the performance of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L. Egypt

- Academy Journal Biology Sciences 4: 111–117.
- Dalkilic B, Güler T. 2009. The effects of clove extract supplementation on performance and digestibility of nutrients in broilers. *Firat University Veterinary Journal of Health Sciences* 23: 161–166.
- Daneshvar E, Ardestani MY, Dorafshan S, Martins ML. 2012. Hematological parameters of Iranian cichlid *Iranocichla hormuzensis*–Coad, 1982 (Perciformes) in Mehran River. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences* 84: 943–949.
- [FSAI] Food Safety Authority of Ireland. 2012. *Guidance on Flavourings*. Dublin (Ireland): Abbey Court, Lower Abbey Street.
- Gaber MM. 2000. Growth response of Nile tilapia fingerlings *Oreochromis niloticus* fed diets containing different levels of clove oil. *Egypt Journal Aquatic Biology & Fish* 4: 1–18.
- Ganguly S, Prasad A. 2012. Microflora in fish digestive tract plays significant role in digestion and metabolism. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 22: 11–16.
- Goñi P, López P, Sánchez C, Gómez-Lus R, Becerril R, Nerín C. 2009. Antimicrobial activity in the vapour phase of a combination of cinnamon and clove essential oils. *Food Chemistry* 116: 982–989.
- Groff JM, Zinkl JG. 1999. Hematology and clinical chemistry of Cyprinid fish. Common carp and Goldfish. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice* 2: 741–746.
- Kiernan JA. 1999. *Histological and Histochemical Methods: Theory And Practice*, 3rd edition. Oxford [UK] Boston : Butterworth-Heinemann.
- Jaffar HAJ, Rani VJ. 2009. Effect of phosalone on haematological indices in the tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *Turkish Journal Veterinary Animal Science* 33: 407–411.
- [NRC] National Research Council. 2011. *Nutrient Requirements of Fish and Shrimp*. Washington DC. (USA): National Academy of Science Press.
- Nikolov B, Boyadzieva-Doichinova D. 2010. Parameters of the red blood cell count in three species of carp fishes. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 16: 307–310.
- Petcoff GM, Díaz AO, Escalante AH, Goldemberg AL. 2006. Histology of the liver of *Oligosarcus jenynsii* (Ostariophysi, Characidae) from Los Padres Lake, Argentina. *Iheringia Série Zoologia Porto Alegre* 96: 205–208.
- Pinto E, Vale-Silva L, Cavaleiro C, Salgueiro L. 2008. Antifungal activity of the clove essential oil from *Syzygium aromaticum* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. *Journal of Medical Microbiology* 58: 1.454–1.462.
- Rattanachaikunsopon P, Phumkhachorn P. 2009. Protective effect of clove oil-supplemented fish diets on experimental *Lactococcus garvieae* infection in tilapia. *Bioscience Biotechnology Biochemical* 73: 2.085–2.089.
- Rašković BS, Stanković MB, Markovic ZZ, Poleksic VD. 2011. Histological methods in the assessment of different feed effects on liver and intestine of fish. *Journal of Agricultural Sciences* 56: 87–100.
- Ray AK, Ghosh K, Ringø E. 2012. Enzyme-producing bacteria isolated from fish gut: a review. *Aquaculture Nutrition* 18: 465–492.
- Rekhari YC, Agrawal R, Das Trakroo M, Tiwari H. 2014. Qualitative and quantitative study on bacterial flora of farm raised common carp, *Cyprinus carpio* in india. *African Journal of Microbiology Research* 8: 1.125–1.129.
- Rohani MS, Masoumzadeh M, Haghghi M, Jalilpoor J, Pourdehghani M, Shenavar Masouleh A, Alizadeh M, Bazarii Moghaddam S. 2013. Effects or oral administration of *Zataria multiflora* essential oil on some blood and serum parameters in *Acipenser persicus*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 12: 908–915.
- Shalaby SE, El-Din MM, Abo-Donia SA, Mettwally M, Attia ZA. 2011. Toxicological affects of essential oils from Eucalyptus *Eucalyptus globules* and Clove *Eugenia caryophyllus* on albino rats. *Polish Journal of Environmental Study* 20: 429–434.
- Tekeli A, Çelik L, Kutlu HR. 2007. Plant extracts: a new rumen moderator in ruminant diets. *Journal of Tekirdag Agricultural Faculty* 4: 71–79.
- [USFDA] U.S. Food and Drug Administration. 2007. *Guidance for Industry*. Center for Veterinary Medicine. United States: Department of Health and Human Services.
- VázquezGR, GuerreroGA. 2007. Characterization of blood cells and hematological parameters in *Cichlasoma dimerus* (Teleostei, Perciformes). *Tissue and Cell* 39: 151–160.
- Zeppenfeld CC, Hernandez DR, Santinon JJ, Heinzmann BM, Da Cunha MA, Schmidt D, Baldisserotto B. 2015. Essential oil of *Aloysia triphylla* as feed additive promotes growth of silver catfish *Rhamdia quellen*. *Aquaculture*

- Nutrition 2015: 1–8.
- Rauf A. 2015. Acute toxicity and effects of malathion exposure on behavior and hematological indices in Indian carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). International Journal of Aquatic Biology 3: 199–207.
- Far, Saeedi M, Roodsari HV, Zamini A, Mirrasooli E, Kazemi R. 2012. The effects of diazinon on behavior and some hematological parameters of fry rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. World Journal of Fish Marine Science 4: 369–375.