

TEKNIK PEMERIKSAAN DARAH IKAN LAUT BUDI DAYA

Putu Suarjana

Teknisi Litkayasa pada Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut Gondol, Bali

PENDAHULUAN

Tingkat kematian yang masih tinggi pada ikan laut diduga salah satu penyebabnya adalah infeksi penyakit. Untuk menekan tingkat kematian tersebut perlu ditingkatkan ketahanan ikan terhadap serangan penyakit. Dalam upaya meningkatkan ketahanan ikan maka akan sangat erat dengan sel darah. Gambaran umum darah ikan budi daya laut yang telah dilaporkan adalah pada ikan kerapu bebek, *Cromileptes altivelis* (Johnny *et al.*, 1999); ikan napoleon, *Cheilinus undulatus* (Johnny *et al.*, 2001); dan ikan kakap putih, *Lates calcarifer* (Johnny, 2002).

Pemeriksaan darah bertujuan untuk mengetahui keadaan tertentu yang berkaitan dengan sistem hematopoietik. Sistem hematopoietik terdiri atas berbagai macam sel, meliputi sel yang beredar dalam peredaran darah. Untuk memperoleh hasil pemeriksaan laboratorium yang akurat, langkah awal yang perlu diperhatikan adalah pengambilan dan penanganan sampel atau spesimen darah yang memenuhi syarat. Sebagaimana diketahui, darah dianggap sebagai jaringan khusus yang menjalani sirkulasi, terdiri atas berbagai macam sel yang terendam dalam cairan yang disebut plasma. Aliran darah dalam saluran tubuh menjamin lingkungan yang tetap agar semua sel serta jaringan mampu melaksanakan fungsinya. Fungsi dalam sirkulasi darah ikan adalah sebagai media transportasi, pengatur suhu dan pemelihara keseimbangan cairan, serta asam dan basa.

Dalam pemeriksaan darah variabel utamanya adalah: 1) bagian darah yang mengandung eritrosit, dinyatakan sebagai hematokrit atau persen eritrosit dalam seluruh volume darah atau juga dengan istilah *packed cell volume* (PCV); 2) kadar hemoglobin (Hb) dalam darah yang dinyatakan dalam gram Hb/100 mL; 3) jumlah absolut eritrosit dalam darah yang biasanya dinyatakan sebagai jumlah eritrosit dalam juta per mL darah ($n \times 10^6$ sel/mL); dan 4) jumlah absolut leukosit dalam darah dinyatakan sebagai jumlah leukosit dalam ribu per mL darah ($n \times 10^3$ sel/mL) (Post, 1987; Brown, 1993; Klontz, 1994).

POKOK BAHASAN

Teknik pemeriksaan darah ikan meliputi penetapan nilai hematokrit, penetapan kadar hemoglobin (Hb), penghitungan total eritrosit, dan penghitungan total leukosit. Metode yang digunakan berdasarkan modifikasi dari metode Klontz (1994).

Alat dan Bahan

- a) ikan uji
- b) spuit plastik steril volume 1 cc
- c) antikoagulan
- d) bahan pembius
- e) tabung hematokrit
- f) sentrifusa
- g) pengukur persentase hematokrit
- h) hemoglobinometer
- i) hemolisis aplikator
- j) pipet pengencer eritrosit
- k) pipet pengencer leukosit
- l) larutan pengencer darah *Rees-Ecker*
- m) hemositometer *Improved Neubauer*
- n) mikroskop
- o) alat penghitung
- p) tisu

Proses Pemeriksaan Darah Ikan

Pengambilan darah ikan

Ikan uji untuk pengambilan sampel darah adalah ikan yang telah diaklimatisasi. Ikan ini dimasukkan ke dalam wadah *fiber glass* bervolume 20 L berisi 10 L air laut yang telah diberi bahan pembius *FA-100* dengan dosis 1 cc/5 L. Setelah ikan uji pingsan, sampel darah disedot melalui vena jugularis dengan spuit plastik steril volume 1 cc yang berisi antikoagulan *Heparin Leo* sebanyak 0,2 cc.

Penetapan nilai hematokrit (PCV)

Sebagian besar volume padat dari darah terdiri atas eritrosit atau hematokrit yang disebut juga dengan nama *Packed Cell Volume* yaitu: volume semua eritrosit dalam 100 mL darah dan dinyatakan dalam % volume darah, serta disingkat dengan PCV. Nilai hematokrit adalah volume yang diisi oleh eritrosit, dinyatakan sebagai persen terhadap volume total contoh darah. Alat yang dipakai untuk mengukur nilai hematokrit disebut dengan tabung hematokrit.

Sampel darah yang telah dikoleksi disedot ke dalam tabung hematokrit sampai tanda merah, kemudian salah satu ujung tabung ditutup dengan bahan penutup. Tabung hematokrit tersebut selanjutnya dipusing pada sentrifusa dengan kecepatan 12.000 rpm selama 5 menit. Setelah pemusingan akan terjadi tiga lapisan dari bawah ke atas, yaitu: 1) eritrosit, merupakan lapisan berwarna merah gelap; 2) leukosit, lapisan berwarna abu-abu sampai abu-abu kemerahan; dan 3) plasma, berupa lapisan bening dan berwarna kekuningan. Hematokrit selanjutnya dihitung persentasenya dengan alat pengukur.

Penetapan kadar hemoglobin (Hb)

Tingkat kadar hemoglobin bisa menunjukkan penting tidaknya tindakan pengobatan selanjutnya, sedangkan pemeriksaan secara teratur akan menunjukkan kalau pengobatan telah berhasil. Penetapan kadar hemoglobin secara luas dilakukan dalam laboratorium karena pemeriksaan ini merupakan langkah esensial dalam pemeriksaan darah. Hemoglobin itu sendiri merupakan senyawa yang terdiri atas: protoforfirin, globin, dan zat besi (Fe). Kadar hemoglobin dalam darah dinyatakan dalam gram Hb/100 mL.

Cara pemeriksaan Hb adalah sebagai berikut:

Sampel darah ditetaskan pada "blood chamber Hb meter" lalu diaduk dengan menggunakan *hemolysis applicators* yang mengandung 10 mg *sodium oxalate* dan 200 mg *saponin*. Setelah teraduk rata, dengan menggunakan alat hemoglobinometer dilakukan penetapan kadar hemoglobin.

Penghitungan total eritrosit

Eritrosit merupakan jenis sel darah yang paling umum, sekitar 60% volume eritrosit terdiri atas air dan sisanya 40% terdiri atas konjugasi protein yang

berbentuk globin dan hem. Pigmen yang merupakan 4% dari konjugasi protein disebut hemoglobin, pigmen ini memberikan warna merah pada darah segar. Alat yang digunakan untuk penghitungan total eritrosit adalah *Hemositometer* dengan menggunakan kamar hitung *Improved Neubauer*, prinsipnya di sini adalah menghitung distribusi eritrosit pada kamar hitung.

Dari koleksi sampel darah, dengan menggunakan pipet pengencer eritrosit sampel darah disedot sampai skala 0,5 dan dilanjutkan dengan larutan pengencer darah *Rees-Ecker* yang mengandung; *sodium citrate*, *formalin 37%—40%*, dan *brilliant cresyl blue* sampai skala 101. Kemudian diaduk rata dengan cara membentuk angka 8 di udara selama 3 menit. Setelah teraduk rata diamkan dulu selama 3 menit. Sebelum dimasukkan ke alat penghitung eritrosit *Improved Neubauer*, karena cairan yang terdapat pada stem pipet adalah cairan pelarut murni, jadi sebaiknya sebelum mengisi objek dibuang dulu dengan menggunakan tisu, selanjutnya dimasukkan ke *Improved Neubauer* dan sisa "luberan" disedot dengan kertas saring, diamkan selama 3 menit, lalu eritrosit dihitung pada mikroskop dengan pembesaran 40x.

Untuk penghitungan eritrosit adalah dengan menggunakan ruang kecil di tengah-tengah *Improved Neubauer* sebanyak 25 ruang; 25 ruang kecil yang dihitung adalah pada empat ruang di sudut ditambah ruang tengah.

$$\text{Jumlah eritrosit} = 10 \times 5 \times 200$$

Umumnya dinyatakan dalam $n \times 10^4/\text{mL}$ di mana n adalah jumlah total eritrosit di dalam 5 ruang kecil (R pada Gambar 1 bagian A)

Penghitungan total leukosit

Leukosit sangat berbeda dari eritrosit karena memiliki kemampuan bergerak bebas, leukosit mampu keluar dari pembuluh darah menuju jaringan dalam melakukan fungsinya. Jumlah seluruh leukosit jauh di bawah eritrosit dan bervariasi tergantung jenis hewannya. Jumlah leukosit yang menyimpang dari keadaan normal mempunyai arti klinik penting dalam mengevaluasi proses penyakit. Dengan menggunakan hemositometer, prinsip penghitungan total leukosit sama dengan penghitungan total eritrosit.

Dari koleksi sampel darah, dengan menggunakan pipet pengencer leukosit sampel darah disedot sampai skala 0,5 kemudian dilanjutkan dengan menyedot larutan *Rees-Ecker* dalam pipet pengencer leukosit

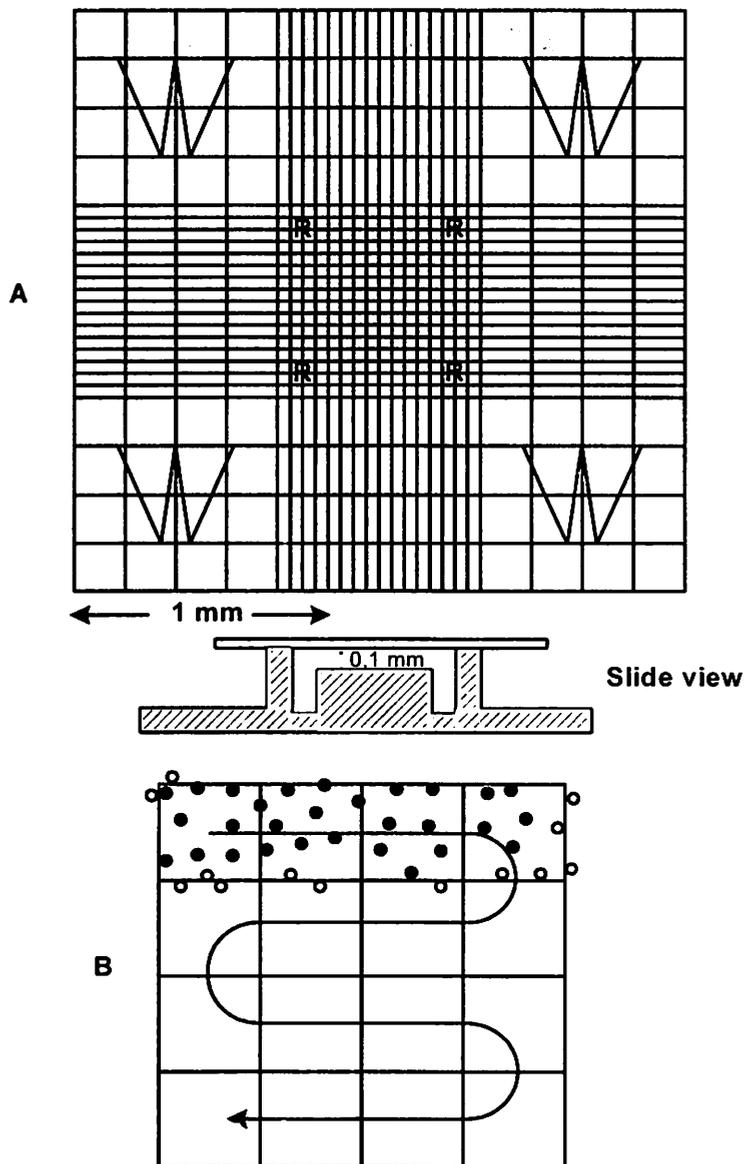
sampai skala 11. Tahapan selanjutnya sama dengan penghitungan eritrosit. Untuk penghitungan leukosit adalah menggunakan ruang besar di sebelah luar ruang kecil pada *Improved Neubauer* yang berjumlah 16 ruang pada satu lokasi, dari 4 lokasi total ruang besar adalah sebanyak 64 ruang, dan penghitungan leukosit dilakukan pada semua ruang besar.

Umumnya dinyatakan dalam $n \times 10^3/mL$ di mana n adalah jumlah total leukosit di dalam 64 ruang besar (W pada Gambar 1 bagian A).

KESIMPULAN

Pemeriksaan darah secara teliti akan memberikan informasi mengenai kondisi ikan dalam keadaan sehat maupun sakit. Variabel utama untuk pemeriksaan darah ikan adalah penetapan nilai hematokrit, penetapan kadar hemoglobin, penghitungan total eritrosit, dan penghitungan total leukosit.

$$\text{Jumlah leukosit} = \frac{64 \text{ area} \times 200 \times 10}{4}$$



A : R = zona untuk penghitungan total eritrosit, W = zona untuk penghitungan total leukosit

B : cara penghitungan total eritrosit dan total leukosit pada masing-masing zona yang telah ditentukan dengan mengikuti arah panah

Gambar 1. Alat hemositometer *Improved Neubauer* untuk penghitungan total eritrosit dan total leukosit

DAFTAR PUSTAKA

- Brown, L. 1993. *Aquaculture for Veterinarians : Fish husbandry and Medicine*. Pergamon Press Ltd. USA. 447 pp.
- Johnny, F., Zafran, D. Roza, I. Koesharyani, dan K. Yuasa. 1999. Morfologi dan karakteristik hematologi ikan kerapu bebek, *Cromileptes altivelis*. *Prosiding Seminar Nasional ke-3 Penyakit Ikan dan Udang*, Yogyakarta, 8—9 November 1999.
- Johnny, F., D. Roza, dan B. Slamet. 2001. Karakteristik dan morfologi darah ikan napoleon, *Cheilinus undulatus*. *Prosiding Simposium Pemuliaan VI; Kontribusi Pemuliaan dalam Inovasi Teknologi Ramah Lingkungan dalam Kasno et al.*, (Eds.), Bandung; Perhimpunan Ilmu Pemuliaan Indonesia. p. 140—143.
- Johnny, F. 2002. Gambaran hematologi ikan kakap putih, *Lates calcarifer* Bloch. *Prosiding Seminar Nasional Biologi XVII*, Universitas Andalas, Padang. 22—24 Juli 2002.
- Klontz, G.W. 1994. Fish Hematology. p.121—131. *In Stolen et al.* (Eds.). *Techniques in Fish Immunology-3*. Sos Publications, Fair Haven, NJ 07704-3303. USA.
- Post, G. 1987. *Textbook of Fish Health*. T.F.H. Publications Inc. USA. 288 pp.