

## Pertumbuhan dan daya tahan tubuh juvenil ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) yang diberi suplemen selenium anorganik dan organik

### Growth and viability of juvenile humpback grouper (*Cromileptes altivelis*) supplemented with inorganic and organic selenium

Muhaimin Hamzah\*<sup>1</sup>, Muhammad Agus Suprayudi<sup>2</sup>, Nur Bambang Priyo Utomo<sup>2</sup>,  
Wasmen Manalu<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Haluoleo,

Kampus Hijau Bumi Tridharma Anduonohu Kendari 93232

<sup>2</sup> Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor  
Kampus IPB Darmaga Bogor 16680

<sup>3</sup> Departemen Anatomi, Fisiologi, dan Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor  
Kampus IPB Darmaga Bogor 16680

\*email: iminhmz@yahoo.com

#### ABSTRACT

This study was conducted to determine the effects of inorganic selenium (sodium selenite) and organic selenium (selenomethionine) supplementation on growth and viability of juvenile humpback grouper (*Cromileptes altivelis*). The experiment was designed as a completely randomized design with eight treatments and three replications. The treatment being tested was source and dosages of selenium i.e., inorganic selenium (sodium selenite) supplementation with dosages of 0.5, 1, 2, and 4 mg Se/kg diet and organic selenium (selenomethionine) with dosages of 1, 2, and 4 mg Se/kg diet. Another treatment was unsupplemented selenium. Juveniles humpback grouper at an initial average length of  $6,39 \pm 0,41$  cm and body weight of  $4,49 \pm 0,65$  g were reared in  $90 \times 40 \times 35$  cm<sup>3</sup> aquaria and fed artificial diet (pellet) two times daily (08.00 and 16.00) at satiation. Fishes were reared for 40 days at a stocking density of 12 fish per aquarium on sea water with salinity of 30–31 ppt and temperature of 28–29 °C. The results of this study showed that the source of selenium supplementation (inorganic or organic) affected growth performance, glutathione peroxidase (GPx) enzyme activity, and blood profiles of the experimental fish. Generally, it was found that selenomethionine supplementation resulted in better fish performance than sodium selenite. In sodium selenite supplementation, survival declined with the increased dosages of Se in the diet, and the supplementation at dosage of 0,5 mg Se/kg diet showed a toxic effects. Histopatological test showed that there were damage in livers, kidneys, and intestines of fish supplemented with sodium selenite from 0.5 to 4 mg Se/kg diet. On the contrary, supplementation of selenomethionine up to 4 mg Se/kg did not show any signs of toxicity and the survival was on 86.11 to 97.22%. Feed efficiency, protein retention, lipid retention, and Se retention indicated that a dosage of 4 mg Se/kg selenomethionine supplementation was the best dosage.

Keywords: selenium, viability, growth, *Cromileptes altivelis*, humpback grouper,

#### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan dosis penambahan selenium anorganik (sodium selenite) dan organik (selenomethionin) yang mampu meningkatkan pertumbuhan dan daya tahan tubuh juvenil ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*). Percobaan didesain menggunakan rancangan acak lengkap dengan delapan perlakuan dan tiga ulangan. Perlakuan yang diujikan adalah jenis dan dosis penambahan selenium, yaitu selenium anorganik dengan dosis 0,5; 1; 2; dan 4 mg Se/kg pakan dan selenium organik dengan dosis 1, 2, dan 4 mg Se/kg pakan. Perlakuan lain adalah tanpa penambahan selenium. Juvenil ikan kerapu bebek berukuran panjang awal rerata  $6,39 \pm 0,41$  cm dan bobot tubuh  $4,49 \pm 0,65$  g dipelihara pada akuarium berukuran  $90 \times 40 \times 35$  cm<sup>3</sup> dan diberi pakan buatan berbentuk pelet secara *at satiation* dengan frekuensi dua kali sehari (pukul 08.00 dan 16.00). Ikan dipelihara selama 40 hari dengan padat penebaran 12 ekor per akuarium pada air laut bersalinitas 30–31 ppt dan suhu 28–29 °C. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kinerja pertumbuhan, aktivitas enzim glutation peroksidase (GPx), dan gambaran darah ikan dipengaruhi oleh jenis suplementasi selenium. Secara umum terlihat bahwa pemberian selenium dalam bentuk selenium organik (selenomethionin) lebih baik dibandingkan dengan selenium anorganik (sodium selenite). Pada penambahan sodium selenite, tingkat kelangsungan hidup makin menurun dengan makin meningkatnya kadar selenium di pakan, dan penambahan

0,5 mg Se/kg pakan adalah dosis yang sudah menyebabkan keracunan. Hasil pengujian histopatologi menunjukkan terjadinya kerusakan pada organ hati, ginjal, dan usus ikan pada penambahan sodium selenite dosis 0,5–4 mg Se/kg pakan. Sebaliknya, penambahan selenometionin sampai dengan 4 mg Se/kg belum menunjukkan tanda-tanda keracunan, dengan tingkat kelangsungan hidup 86,11–97,22%. Berdasarkan nilai efisiensi pakan, retensi protein, retensi lemak, dan retensi selenium terlihat bahwa penambahan selenometionin dengan dosis 4 mg Se/kg pakan adalah perlakuan terbaik.

Kata kunci: selenium, daya tahan tubuh, pertumbuhan, *Cromileptes altivelis*, kerapu bebek,

## PENDAHULUAN

Selenium (Se) adalah salah satu mikronutrien esensial bagi kesehatan manusia dan hewan. Mineral ini ditemukan menjadi bagian integral dari enzim glutathion peroksidase (Rotruck *et al.*, 1973). Glutathion peroksidase (GPx) berperan dalam pertahanan seluler melawan kerusakan oksidatif pada struktur sitoplasma dengan mengkatalisis pengurangan hidrogen peroksida dan lipid peroksida (Watanabe *et al.*, 1997).

Selenium dibutuhkan dalam pakan untuk pertumbuhan normal dan fungsi fisiologis ikan. Selenium telah diteliti pada ikan *rainbow trout* (Hilton *et al.*, 1980; Bell *et al.*, 1985), *catfish* (Gatlin & Wilson, 1984), *Atlantic salmon* (Lorentzen *et al.*, 1994), juvenil kerapu malabar (Lin & Shiau, 2005), *crucian carp* (Zhou *et al.*, 2009), dan juvenil abalon (Wang *et al.*, 2012). Hasil penelitian secara umum menunjukkan bahwa kekurangan Se menyebabkan berkurangnya pertambahan bobot, efisiensi pakan, aktivitas enzim GPx, dan respons imun pada ikan. Selenometionin adalah bentuk kimia utama dari Se organik dalam pakan disebabkan *bioavailability*-nya paling baik dan dilaporkan mempunyai *bioavailability* lebih tinggi dari pada Se anorganik (sodium selenite) pada *Atlantic salmon* (Bell & Cowey, 1989) dan *channel catfish* (Wang & Lovel, 1997).

Beberapa peneliti lain yang membandingkan Se organik dan anorganik memperoleh hasil yang berbeda. Lorentzen *et al.* (1994) mendapatkan bahwa pemberian Se dalam bentuk sodium selenite dan selenometionin pada *Atlantic salmon* tidak menunjukkan perbedaan yang nyata pada pertambahan bobot dan aktivitas enzim GPx hati dengan penambahan 1 atau 2 mg Se/kg pakan. Jaramillo *et al.* (2009) juga

melaporkan bahwa penggunaan sodium selenite dan selenometionin pada *hybrid striped bass* tidak menunjukkan perbedaan yang nyata pada pertumbuhan bobot, efisiensi pakan, dan tingkat kelangsungan hidup dengan penambahan 1, 2, atau 4 mg Se/kg pakan, tetapi menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata pada tingkat kelangsungan hidup (17,8%) dengan penambahan sodium selenite dosis 20 mg Se/kg pakan. Pada *crucian carp*, pemberian Se anorganik dalam bentuk Se nanopartikel (nano-Se) dan Se organik (selenometionin) menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan pada bobot akhir, laju pertumbuhan relatif, dan aktivitas enzim GPx, namun nano-Se lebih efektif daripada organik selenometionin dalam meningkatkan kandungan Se otot (Zhou *et al.*, 2009).

Ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) merupakan salah satu spesies ikan laut yang mempunyai nilai ekonomis tinggi dan berpotensi untuk dikembangkan. Namun budidaya kerapu bebek masih mengalami masalah, diantaranya pertumbuhannya yang lebih lambat dibandingkan dengan jenis kerapu lain (Usman *et al.*, 2006). Selain itu, dalam pemeliharaan di karamba jaring apung (KJA), ikan mudah mengalami stres akibat perubahan kondisi lingkungan dan penanganan yang berakibat pada rentannya ikan terserang penyakit bahkan mengalami kematian. Studi lapangan menunjukkan bahwa kelangsungan hidup kerapu bebek tidak lebih dari 60% (Setiawati, 2010). Mengingat fungsi Se sangat terkait dengan pertumbuhan dan kesehatan ikan, penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk menentukan jumlah penambahan Se yang mampu meningkatkan pertumbuhan dan daya tahan tubuh juvenil kerapu bebek, dan membandingkan efektivitas penggunaan Se organik (selenometionin) dan Se anorganik (sodium selenite) dalam pakan juvenil kerapu

bebek.

dengan tiga dosis selenometionin yang berbeda (1, 2, dan 4 mg Se/kg pakan).

## BAHAN DAN METODE

### Hewan uji dan media pemeliharaan

Hewan uji yang digunakan adalah juvenil ikan kerapu bebek (*C. altivelis*) berukuran panjang rerata  $6,39 \pm 0,41$  cm dan bobot rerata  $4,49 \pm 0,65$  g. Ikan yang digunakan berasal dari Balai Besar Pengembangan Budi Daya Laut, Lampung. Ikan dipelihara di akuarium kaca berukuran  $90 \times 40 \times 35$  cm<sup>3</sup> dengan sistem resirkulasi. Media percobaan yang digunakan berupa air laut yang telah difiltrasi, dengan salinitas 30–31 ppt dan dipertahankan suhunya agar berkisar antara 28 °C sampai 29 °C.

### Rancangan penelitian

Percobaan didesain dengan menggunakan rancangan acak lengkap dengan mengaplikasikan delapan perlakuan dan tiga ulangan. Perlakuan pakan yang diujikan diantaranya adalah pakan tanpa tambahan Se, pakan yang ditambahkan 4 dosis sodium selenite yang berbeda (0,5; 1; 2; dan 4 mg Se/kg pakan) dan pakan yang ditambahkan

### Pemeliharaan ikan

Juvenil kerapu bebek yang telah diseleksi berdasarkan keseragaman bobot, dipuaskan terlebih dahulu selama 24 jam sebelum ditebar ke wadah percobaan. Ikan yang ditebar pada masing-masing akuarium berjumlah 12 ekor. Selama pemeliharaan, ikan diberi pakan secara *at satiation* (sampai kenyang), dengan frekuensi dua kali sehari (pukul 08.00 dan 16.00). Pemeliharaan ikan dilakukan selama 40 hari. Pakan uji yang digunakan adalah pakan buatan berbentuk pelet dengan komposisi dan analisis nutrisi disajikan pada Tabel 1. Untuk menjaga kelayakan media budidaya, dilakukan penyiponan wadah dua kali sehari (pagi dan sore). Kualitas air dimonitor secara berkala. Hasil analisis menunjukkan bahwa kualitas air selama pemeliharaan berada dalam kondisi yang mendukung kehidupan ikan, yaitu suhu 28–30 °C, salinitas 30–32 ppt, oksigen terlarut 5,6–6,4 mg/L, pH 7,7–7,9, dan total amoniak nitrogen (TAN) 0,025–0,654 mg/L.

Tabel 1. Komposisi pakan uji dan hasil analisis proksimat

Bahan (%)	Penambahan Se (mg/kg)							
	0	0,5 selenite <sup>1</sup>	1 selenite	2 selenite	4 selenite	1 SeMet <sup>2</sup>	2 SeMet	4 SeMet
Kasein	46,0	46,0	46,0	46,0	46,0	46,0	46,0	46,0
Gelatin	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0
Dekstrin	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0
Tepung kepala udang	12,0	12,0	12,0	12,0	12,0	12,0	12,0	12,0
Minyak ikan	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
Minyak cumi	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Minyak jagung	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
Vitamin mix	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Mineral mix (tanpa Se)	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
CMC	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
Sodium selenite (mg)	-	1,10	2,19	4,38	8,76	-	-	-
Selenometionin (mg)	-	-	-	-	-	2,48	4,96	9,92

Hasil analisis proksimat (% bobot kering)

Protein	50,51	51,17	50,39	52,66	52,91	53,52	52,72	52,96
Lemak	9,20	8,95	8,52	8,69	8,99	8,51	8,78	8,90
BETN <sup>3</sup>	24,06	23,46	25,44	23,56	21,42	20,06	23,59	22,49
Energi (kkal GE <sup>4</sup> /kg)	4.679,8	4.668,7	4.665,8	4.731,8	4.686,2	4.619,5	4.744,8	4.724,5
C/P <sup>5</sup> (kkal/g protein)	9,27	9,12	9,26	8,99	8,86	8,63	9,00	8,92
<b>Se pakan (mg/kg)</b>	<b>0,03</b>	<b>0,63</b>	<b>1,31</b>	<b>1,85</b>	<b>4,12</b>	<b>1,37</b>	<b>2,03</b>	<b>3,56</b>

Keterangan: <sup>1</sup>selenite (sodium selenite), <sup>2</sup>SeMet (selenometionin), <sup>3</sup>BETN (bahan ekstrak tanpa nitrogen), <sup>4</sup>GE (*gross energy*), protein: 5,6 kkal/g; lemak: 9,4 kkal/g; karbohidrat: 4,1 kkal/g (NRC 1977), <sup>5</sup>C/P (rasio kalori/protein).

## Parameter yang diamati

Parameter yang diamati untuk mengetahui pertumbuhan ikan, diantaranya adalah penimbangan bobot tubuh ikan, penghitungan konsumsi pakan, pengukuran kadar protein dan lemak tubuh ikan, serta pengamatan gambaran darah ikan. Seluruh parameter tersebut diamati pada akhir percobaan.

Ikan dianestesi dengan MS-222 sebelum darahnya diambil untuk pengamatan gambaran darah ikan. Sampel darah diambil dari *caudalis* dengan menggunakan *syringe* yang telah diberi antikoagulan. Sampel darah tersebut disimpan di dalam tabung mikro untuk dilakukan pengamatan di laboratorium. Sebagai data pendukung, beberapa ekor ikan dibedah dan diambil organ dalamnya untuk pengujian beberapa parameter lain. Selain beberapa hal yang telah disebutkan sebelumnya, berikut beberapa parameter lain yang diamati dan cara perhitungannya:

### Tingkat kelangsungan hidup:

$$SR = \frac{N_t}{N_0} \times 100\% \text{ (Ricker, 1979)}$$

Keterangan:

SR : kelangsungan hidup (%),

$N_t$  : jumlah ikan pada waktu t

$N_0$  : jumlah ikan pada awal percobaan

### Laju pertumbuhan harian:

$$\alpha = \left( \sqrt[t]{\frac{W_t}{W_0}} - 1 \right) \times 100\% \text{ (NRC, 1977)}$$

Keterangan:

$\alpha$  : laju pertumbuhan harian (% per hari)

$W_t$  : bobot rata-rata individu pada waktu t (g)

$W_0$  : bobot rata-rata individu pada waktu awal (g)

t : lama percobaan (hari)

### Konsumsi pakan harian

Konsumsi pakan harian diketahui dengan menghitung selisih antara bobot pakan yang diberi dan bobot pakan sisa. Dengan demikian konsumsi pakan selama percobaan dapat diketahui.

### Efisiensi pakan

$$E = \frac{(W_t + D) - W_0}{F} \times 100 \text{ (NRC, 1977)}$$

Keterangan:

E : efisiensi pakan (%)

$W_t$  : bobot total ikan pada waktu t (g)

$W_0$  : bobot total ikan pada awal percobaan (g)

D : bobot total ikan yang mati selama percobaan (g)

F : bobot total pakan yang dikonsumsi (g)

### Retensi protein

$$RP = \frac{F - I}{P} \times 100 \text{ (Watanabe, 1988)}$$

Keterangan:

RP : retensi protein (%)

F : kandungan protein tubuh pada akhir percobaan (g)

I : kandungan protein tubuh pada awal percobaan (g)

P : jumlah protein yang dikonsumsi (g)

### Retensi lemak

$$RL = \frac{F - I}{L} \times 100 \text{ (Watanabe, 1988)}$$

Keterangan:

RL : retensi lemak (%)

F : kandungan lemak tubuh pada akhir percobaan (g)

I : kandungan lemak tubuh pada awal percobaan (g)

L : jumlah lemak yang dikonsumsi (g)

### Aktivitas enzim GPx plasma

Aktivitas Enzim GPx Plasma dianalisis dengan metode yang dikemukakan oleh Flohe *et al.* (1984).

### Retensi Se

$$RSe = \frac{\text{Se akhir} - \text{Se awal}}{\text{Se konsumsi}} \times 100 \text{ (Rider et al, 2009)}$$

Keterangan:

RSe : retensi selenium (%),

Se akhir : kandungan Se tubuh pada akhir percobaan (mg),

Se awal : kandungan Se tubuh pada awal percobaan (mg),

Se konsumsi : jumlah total selenium yang dikonsumsi (mg)

### Gambaran darah

Pengukuran total eritrosit dan diferensial leukosit dilakukan mengikuti prosedur Blaxhall & Daisley (1973); kadar

hemoglobin diukur menurut metode Sahli dengan sahlometer (Wedemeyer & Yasutake, 1977); kadar hematokrit dan indeks fagositik diukur dengan metode yang dikemukakan oleh Anderson & Siwicky (1993).

### Analisis data

Keseluruhan data kecuali aktivitas GPx plasma dianalisis dengan menggunakan analisis ragam. Jika terdapat pengaruh yang berbeda nyata pada taraf 5%, dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil. Aktivitas GPx plasma dianalisis secara deskriptif. Pengolahan data dilakukan dengan bantuan program Microsoft Excel 2007 dan Minitab versi 14.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kinerja pertumbuhan

Kinerja pertumbuhan yang digambarkan melalui parameter-parameter seperti terlihat pada Tabel 2, secara umum menunjukkan bahwa penambahan Se dari sumber organik (selenometionin) lebih baik dibandingkan dengan Se anorganik (sodium selenite). Pada Tabel 2 terlihat bahwa tingkat kelangsungan hidup juvenil kerapu bebek yang diberi pakan dengan penambahan selenometionin dosis 1, 2, dan 4 mg Se/kg pakan lebih tinggi dibandingkan dengan penambahan sodium selenite dosis 0,5; 1; 2; dan 4 mg Se/kg pakan, sedangkan perlakuan tanpa penambahan Se nilainya tidak berbeda dengan penambahan selenometionin. Tabel tersebut juga menunjukkan bahwa tingkat kelangsungan hidup juvenil kerapu bebek

makin menurun dengan makin meningkatnya dosis sodium selenite. Kematian ikan mulai terlihat pada hari kesembilan sebanyak satu ekor pada pemberian sodium selenite dosis 4 mg Se/kg pakan. Selanjutnya, kematian ikan terjadi setiap hari pada seluruh perlakuan penambahan sodium selenite sampai dengan akhir pemeliharaan (hari ke-40). Penambahan sodium selenite dosis 0,5 mg Se/kg pakan yang telah menyebabkan kematian 97,22% pada akhir pemeliharaan diduga adalah dosis yang sudah menyebabkan keracunan.

Tingginya tingkat kematian ikan pada pemberian sodium selenite disebabkan karena pada dosis berlebih, selenite dapat menjadi pro-oksidan (Sphallholz 1997; Stewart *et al.* 1999). Pro-oksidan adalah zat kimia yang dapat meningkatkan aktivitas proses oksidasi. Proses oksidasi menghasilkan radikal bebas, suatu molekul yang elektron pada lapisan paling luar tidak mempunyai pasangan. Adanya molekul dengan elektron yang tidak berpasangan ini membuat mereka sangat reaktif. Reaktif artinya mereka tidak bertahan lama dalam bentuk asli karena untuk mempertahankan kestabilan molekul, mereka harus mengambil satu elektron dari molekul yang lain. Artinya, radikal bebas menyerang molekul stabil yang berada di dekatnya dan mengambil elektron dari molekul tersebut. Molekul yang diambil elektronnya kemudian juga menjadi radikal bebas dan mengambil elektron dari molekul lain, begitulah seterusnya sampai terjadi kerusakan sel. Dalam keadaan normal, radikal bebas yang terbentuk dapat dinetralkan oleh antioksidan, tetapi bila kadarnya yang toksik melebihi pertahanan

Tabel 2. Tingkat kelangsungan hidup (TKH), laju pertumbuhan harian (LPH), konsumsi pakan (KP), efisiensi pakan (EP), retensi protein (RP), dan retensi lemak (RL) juvenil kerapu bebek yang diberi pakan dengan penambahan dosis dan sumber Se berbeda

Penambahan Se (mg/kg)	Parameter					
	TKH (%)	LPH (%)	KP (g)	EP (%)	RP (%)	RL (%)
0	86,11±4,82 <sup>a</sup>	1,18±0,16 <sup>a</sup>	47,60±5,63 <sup>b</sup>	46,46±5,68 <sup>b</sup>	17,85±1,98 <sup>b</sup>	21,05±2,58 <sup>b</sup>
0,5 Selenite	2,78±4,81 <sup>b</sup>	0,14±0,24 <sup>b</sup>	17,91±0,71 <sup>c</sup>	1,52±2,63 <sup>c</sup>	-	-
1 Selenite	2,78±4,81 <sup>b</sup>	0,2±0,35 <sup>b</sup>	16,60±2,87 <sup>c</sup>	1,88±3,25 <sup>c</sup>	-	-
2 Selenite	0 <sup>c</sup>	-	18,24±0,87 <sup>c</sup>	-	-	-
4 Selenite	0 <sup>c</sup>	-	15,84±0,80 <sup>c</sup>	-	-	-
1 Se-Met	86,11±17,35 <sup>a</sup>	1,2±0,26 <sup>a</sup>	48,87±10,07 <sup>b</sup>	46,85±21,56 <sup>b</sup>	19,74±3,48 <sup>b</sup>	18,58±3,85 <sup>b</sup>
2 Se-Met	91,67±0,00 <sup>a</sup>	1,46±0,17 <sup>a</sup>	57,1±5,67 <sup>a</sup>	59,5±4,93 <sup>ab</sup>	20,77±2,56 <sup>b</sup>	24,72±3,52 <sup>ab</sup>
4 Se-Met	97,22±4,81 <sup>a</sup>	1,5±0,23 <sup>a</sup>	53,5±4,60 <sup>ab</sup>	69,95±10,86 <sup>a</sup>	25,74±3,09 <sup>a</sup>	31,2±9,75 <sup>a</sup>

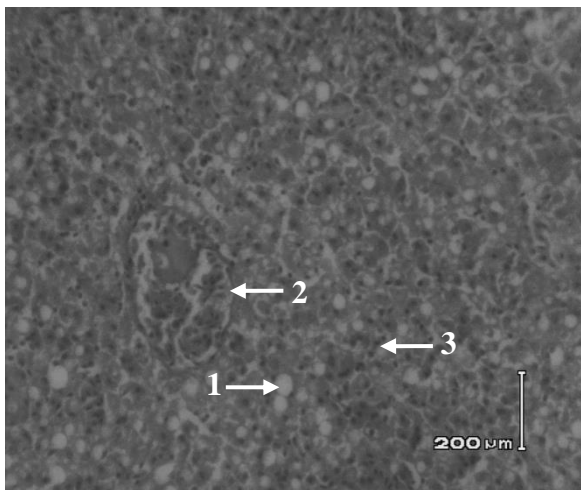
Keterangan: huruf superskrip di belakang nilai standar deviasi yang berbeda pada setiap lajur yang sama menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata ( $p < 0,05$ ).

antioksidan endogen maka akan terjadi suatu keadaan yang disebut stres oksidatif. Pada tahap ini, kelebihan radikal bebas dapat bereaksi dengan sel lipid, protein dan asam nukleat sehingga menyebabkan kerusakan lokal, bahkan dapat sampai terjadi disfungsi organ dan kematian pada organism (Anonim, 2010).

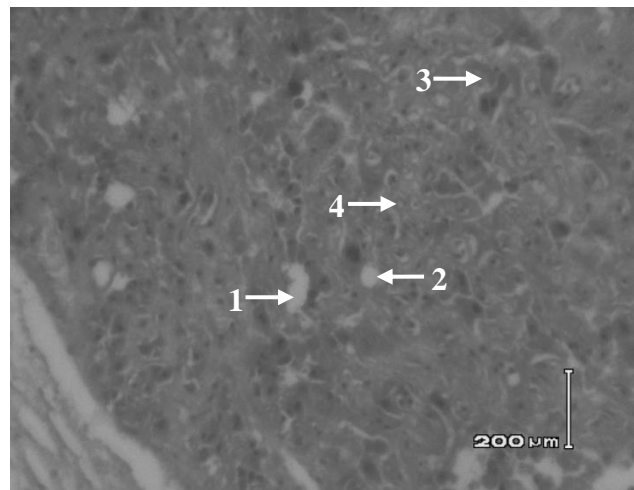
Beberapa penelitian telah dilakukan untuk melihat toksisitas Se dalam bentuk sodium selenite pada berbagai spesies ikan. Hasilnya menunjukkan bahwa dosis sodium selenite yang menyebabkan keracunan pada ikan nilainya bervariasi diantara spesies. Penambahan sodium selenite dosis 3–5 mg Se/kg pakan dalam waktu yang lama (lebih dari 20 minggu) menyebabkan keracunan

pada ikan *rainbow trout* (*Salmo gairdneri*) (Hamilton, 2004; Hilton *et al.*, 1980). Peneliti lain melaporkan bahwa gejala toksisitas terlihat pada pemberian sodium selenite dosis 13 mg Se/kg pakan pada ikan *rainbow trout*, 15 mg Se/kg pakan pada *channel catfish*, 9,16 mg Se/kg pakan pada juvenil abalon, dan 13 dan 26 µg Se/g pakan pada ikan *Chinook salmon* (Hilton *et al.*, 1980; Gatlin & Wilson, 1984; Hamilton *et al.*, 1986; Wang *et al.*, 2012).

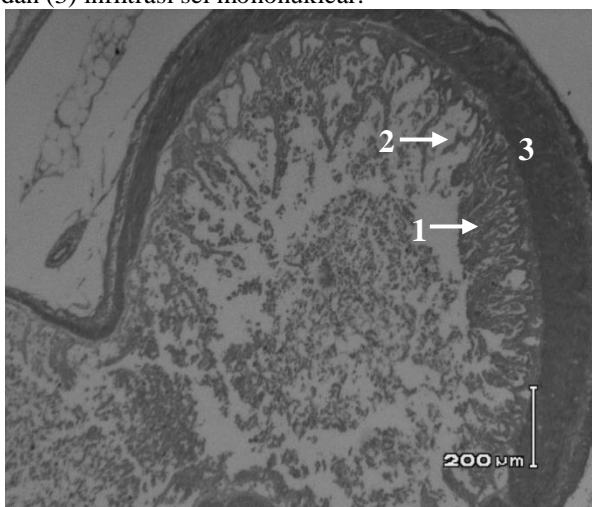
Hal ini diperkuat dengan hasil pengujian histopatologi yang menunjukkan terjadinya kerusakan pada organ-organ hati, ginjal, dan usus ikan pada perlakuan penambahan sodium selenite mulai dari dosis 0,5–4 mg Se/kg pakan, seperti terlihat pada Gambar 1.



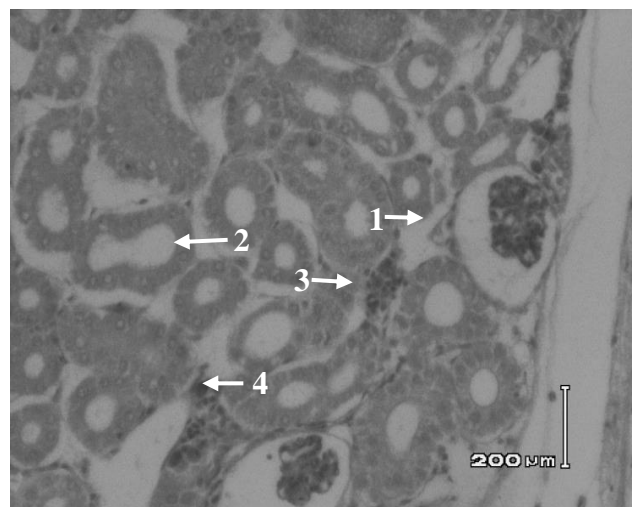
1.a. Hati ikan kerapu bebek (0,5 mg Se/kg pakan) mengalami nekrosis secara ekstensif. (1) vakuolisasi sel epitel hati; (2) vena centralis mengalami dilatasi; dan (3) infiltrasi sel mononuklear.



1.b. Hati ikan kerapu bebek (1 mg Se/kg pakan) mengalami nekrosis hepatik. (1) portal tract; (2) vena centralis; (3) haemorrhagi; dan (4) nekrosis sel epitel hati.



1.c. Usus ikan kerapu bebek (2 mg Se/kg pakan) mengalami nekrosis saluran pencernaan. (1) villi mucosa; (2) villi mucosa mengalami nekrosis dan desquamasi; dan (3) tunika muscularis.



1.d. Ginjal ikan kerapu bebek (4 mg Se/kg pakan) mengalami *nephritis haemorrhagica*. (1) Glomerulus; (2) tubulus proximalis mengalami dilatasi; (3) infiltrasi sel mononuklear; dan (4) haemorrhagika interstitialis.

Gambar 1. Beberapa contoh organ juvenil kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) yang mengalami kerusakan.

Pada percobaan ini, sodium selenite dosis 0,5 mg Se/kg pakan yang sudah menyebabkan kematian massal (97,22%) pada juvenil kerapu bebek yang diduga akibat keracunan menunjukkan bahwa toksisitas Se berbeda antarspesies. Dosis penyebab kematian massal ini jauh lebih rendah dibandingkan dengan beberapa peneliti sebelumnya.

Jaramillo *et al.* (2009) melaporkan bahwa penggunaan sodium selenite dosis 20 mg Se/kg pakan pada *hybrid striped bass* menyebabkan keracunan dengan tingkat kematian ikan mencapai 82,2%. Pada ikan *rainbow trout*, *channel catfish*, dan *Chinook salmon*, dosis sodium selenite yang telah menyebabkan keracunan nilainya bervariasi dan jauh lebih tinggi dibandingkan dengan hasil penelitian ini (Hilton *et al.*, 1980; Gatlin & Wilson, 1984; Hamilton *et al.*, 1986). Selanjutnya juga didapatkan bahwa pada percobaan-percobaan tersebut, tingkat kematian ikan mencapai lebih dari 50% pada akhir penelitian.

Hasil yang berbeda terlihat pada penambahan Se dalam bentuk selenometionin yang menunjukkan kecenderungan tingkat kelangsungan hidup makin meningkat dengan makin meningkatnya penambahan dosis Se, meskipun secara statistik nilainya tidak berbeda nyata dari perlakuan tanpa penambahan Se. Hal ini mengindikasikan bahwa penambahan selenometionin sampai dengan dosis 4 mg Se/kg pakan belum menyebabkan keracunan bagi juvenil kerapu bebek.

Tingkat kelangsungan hidup yang tinggi dan tidak dipengaruhi oleh penambahan dosis Se dalam bentuk selenometionin disebabkan karena selenometionin mengandung asam amino sehingga dapat bergabung dengan protein tubuh dan memungkinkan untuk disimpan dan dilepaskan kembali jika diperlukan. Burk (1976) melaporkan bahwa selenometionin mempunyai dua jalur metabolisme utama, yaitu metionin dan selenium sehingga memungkinkan dicerna dan diserap dalam jumlah yang lebih banyak dibandingkan dengan Se dari sumber lain.

Hasil yang sama dengan percobaan ini didapatkan oleh Lin & Shiau (2005), yaitu penambahan selenometionin dalam pakan

juvenil kerapu malabar (*Epinephelus malabaricus*) sampai dengan dosis 5 mg Se/kg pakan tidak memberikan pengaruh yang berbeda nyata pada tingkat kelangsungan hidup dengan nilai 95,83–100%. Tashjian *et al.* (2006) juga melaporkan bahwa pemberian Se dalam bentuk selenometionin dosis 0,4; 9,6; 20,5; 41,7; 89,8; dan 191,1 mg Se/kg pakan selama delapan minggu masa pemeliharaan tidak menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata pada tingkat kelangsungan hidup juvenil *white sturgeon* (*Acipenser transmontanus*) dengan nilai rata-rata 99%.

Laju pertumbuhan harian juvenil kerapu bebek seperti terlihat pada Tabel 2 menunjukkan pola yang sama dengan tingkat kelangsungan hidup, yaitu penambahan Se dalam bentuk selenometionin memberikan pertumbuhan yang lebih tinggi dibandingkan dengan sodium selenite. Hasil yang sama didapatkan pada *channel catfish* (Wang & Lovel, 1997; Paripatananont & Lovel, 1997). Meskipun demikian, penambahan selenometionin dosis 1, 2, dan 4 mg Se/kg pakan pada percobaan ini tidak memberikan pengaruh yang berbeda nyata pada laju pertumbuhan harian. Hal ini memberi gambaran bahwa penambahan selenometionin sampai dengan dosis 4 mg Se/kg pakan belum mampu meningkatkan laju pertumbuhan harian juvenil kerapu bebek sehingga untuk meningkatkannya diperlukan peningkatan dosis selenometionin.

Berdasarkan Tabel 2, nilai konsumsi pakan juvenil kerapu bebek pada pemberian selenometionin lebih tinggi dibandingkan dengan sodium selenite. Pada penambahan selenometionin dosis 2 dan 4 mg Se/kg pakan menunjukkan konsumsi pakan tertinggi, disusul dosis 1 mg Se/kg pakan, dan tanpa penambahan Se. Kenyataan ini memberi gambaran bahwa pada penambahan selenometionin sampai dengan dosis tertentu, konsumsi pakan ikan makin meningkat seiring dengan makin meningkatnya kandungan Se di pakan.

Pada pemberian selenometionin, nilai efisiensi pakan dan retensi lemak tertinggi didapatkan pada juvenil kerapu bebek yang diberi pakan dengan penambahan 4 dan 2 mg

Se/kg pakan, dan terendah pada penambahan 1 mg Se/kg pakan dan tanpa penambahan Se. Seperti halnya konsumsi pakan, nilai efisiensi pakan dan retensi lemak makin meningkat dengan makin meningkatnya dosis Se di pakan. Hasil berbeda didapatkan oleh Jaramillo *et al.* (2009), yaitu penambahan selenometionin dosis 1, 2, dan 4 mg Se/kg pakan tidak menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata pada pertambahan bobot dan rasio efisiensi pakan juvenil *hybrid striped bass*.

Pada percobaan ini, pemberian Se dalam bentuk selenometionin memberikan pengaruh yang berbeda nyata pada retensi protein juvenil kerapu bebek. Nilai retensi protein tertinggi didapatkan pada ikan yang diberi pakan dengan penambahan 4 mg Se/kg pakan, diikuti secara berturut-turut oleh penambahan 2 mg Se/kg pakan, 1 mg Se/kg pakan, dan terendah pada kelompok ikan yang diberi pakan tanpa penambahan Se. Ketiga perlakuan yang disebutkan terakhir nilainya tidak berbeda nyata. Hasil ini memperlihatkan bahwa retensi protein juvenil kerapu bebek makin meningkat dengan makin meningkatnya penambahan selenometionin di pakan sampai dengan dosis 4 mg Se/kg pakan. Hal ini disebabkan sumber Se yang digunakan adalah selenometionin yang merupakan Se bentuk organik. Selenium organik mengandung asam amino sehingga dapat bergabung dengan protein tubuh dan memungkinkan untuk disimpan dan dilepaskan kembali jika diperlukan (Anonim, 2010). Dengan demikian, peningkatan dosis penambahan selenometionin sampai dosis tertentu dapat meningkatkan jumlah protein yang tersimpan. Nilai retensi protein yang didapatkan pada percobaan ini mendukung nilai kinerja pertumbuhan yang lain, yaitu konsumsi pakan, efisiensi pakan, dan retensi lemak yang menunjukkan nilai tertinggi didapatkan pada pemberian selenometionin dosis 4 mg Se/kg pakan

#### Aktivitas enzim GPx

Aktivitas enzim GPx plasma seperti terlihat pada Gambar 2 menunjukkan bahwa pada pemberian selenometionin, nilainya mengalami peningkatan dengan makin

meningkatnya dosis penambahan Se dalam pakan. Hal ini sejalan dengan hasil yang didapatkan pada *channel catfish* (Wang & Lovel, 1997), *rainbow trout* (Kucukbay *et al.*, 2009) dan *Atlantic salmon* (Lorentzen *et al.*, 1994). Pada *channel catfish* (*Ictalurus punctatus*) terjadi peningkatan aktivitas enzim GPx plasma secara linear dengan penambahan selenometionin sampai dengan dosis 0,4 mg Se/kg pakan, sedangkan pada *rainbow trout* (*Oncorhynchus mykiss*) terjadi peningkatan aktivitas GPx sampai dengan dosis 0,3 mg Se/kg pakan, dan pada *Atlantic salmon* (*Salmo salar*) terlihat bahwa aktivitas GPx pada dosis 2 mg Se/kg pakan nilainya lebih tinggi dibandingkan dengan dosis 1 mg Se/kg pakan. Sebaliknya, pada penambahan sodium selenite terjadi kematian masal yang menyebabkan jumlah ikan tidak mencukupi kebutuhan untuk pengukuran parameter.

#### Gambaran darah ikan

Tabel 3 menunjukkan bahwa pada pemberian selenometionin, nilai total eritrosit tertinggi didapatkan pada ikan yang diberi pakan dengan penambahan 4 mg Se/kg pakan, dan diikuti secara berturut-turut oleh penambahan 1 mg Se/kg pakan, 2 mg Se/kg pakan, dan terendah pada ikan tanpa penambahan Se. Nilai kadar hemoglobin tertinggi didapatkan pada penambahan 1 mg Se/kg pakan, dan diikuti secara berturut-turut oleh penambahan 4 mg Se/kg pakan, 2 mg Se/kg pakan, dan terendah pada ikan tanpa penambahan Se. Sementara itu, nilai hematokrit tertinggi didapatkan pada penambahan 2 mg Se/kg pakan, dan diikuti secara berturut-turut oleh penambahan 4 mg Se/kg pakan, 1 mg Se/kg pakan, dan terendah pada ikan tanpa penambahan Se. Namun, hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan tidak memberikan pengaruh yang berbeda nyata ( $p > 0,05$ ) pada ketiga parameter gambaran darah tersebut. Hasil yang sama diperlihatkan oleh nilai limfosit, monosit, dan neutrofil (Tabel 4), sedangkan nilai indeks fagositik lebih tinggi pada ikan yang diberi pakan dengan penambahan selenometionin dosis 1, 2, dan 4 mg Se/kg pakan dibandingkan dengan kelompok ikan tanpa penambahan Se. Kenyataan ini memberi gambaran bahwa penambahan



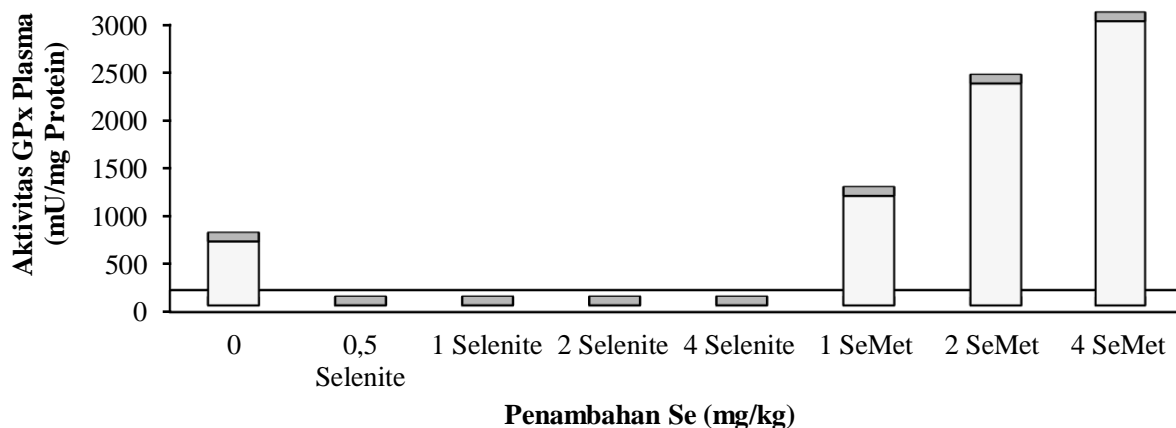
selenometionin ke dalam pakan juvenil kerapu bebek sampai dengan dosis tertentu dapat meningkatkan respons imunitas ikan. Hal ini dimungkinkan karena indeks fagositik adalah nilai yang menunjukkan aktivitas fagositosis. Fagositosis adalah salah satu mekanisme pertahanan seluler ikan yang bersifat nonspesifik dan merupakan langkah awal untuk mekanisme respons imun berikutnya, yaitu terbentuknya respons spesifik (Alifuddin, 1999). Sementara itu, pada pemberian sodium selenite, terjadi kematian masal yang menyebabkan jumlah ikan tidak mencukupi kebutuhan untuk pengukuran parameter gambaran darah (Tabel 3 dan 4).

### Retensi Se

Gambar 3 menunjukkan bahwa pada pemberian selenometionin, nilai retensi Se juvenil kerapu bebek cenderung makin meningkat dengan makin meningkatnya dosis penambahan selenometionin. Retensi Se tertinggi didapatkan pada penambahan 4

mg Se/kg pakan dengan nilai yang berbeda nyata dari perlakuan lain. Sementara itu, pada penambahan sodium selenite terjadi kematian masal yang menyebabkan jumlah ikan tidak mencukupi kebutuhan untuk pengukuran parameter retensi Se.

Tingginya nilai retensi Se pada penambahan selenometionin dosis 4 mg Se/kg pakan mengindikasikan jumlah Se yang tersimpan dalam tubuh ikan lebih banyak dibandingkan dengan perlakuan lain. Selenium yang tersimpan tersebut dapat digunakan sewaktu-waktu, terutama ketika suplai Se dari pakan kurang. Di dalam hati, Se akan diubah menjadi selenoprotein-selenoprotein yang memiliki fungsi spesifik diantaranya terkait dengan pertumbuhan dan kesehatan organisme. Hasil ini sejalan dengan beberapa parameter kinerja pertumbuhan, yaitu efisiensi pakan, retensi protein, dan retensi lemak (Tabel 2) yang menunjukkan nilai tertinggi didapatkan pada penambahan selenometionin dosis 4 mg Se/kg pakan.



Gambar 2. Aktivitas enzim GPx plasma juvenil kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) yang diberi pakan dengan penambahan dosis dan sumber Se berbeda.

Tabel 3. Total eritrosit (TE), kadar hemoglobin (Hb), dan kadar hematokrit (Ht) juvenil kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) yang diberi pakan dengan penambahan dosis dan sumber Se berbeda

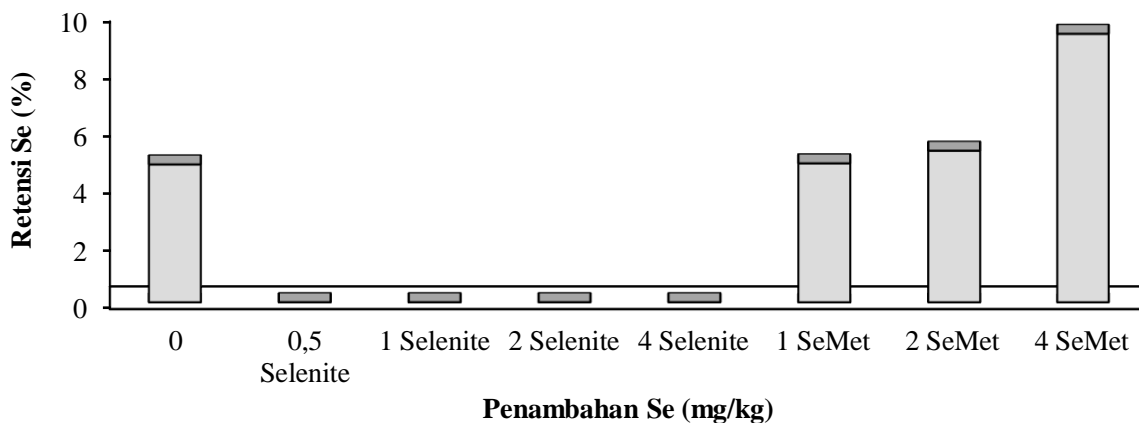
Penambahan Se (mg/kg)	Parameter		
	TE ( $\times 10^6$ sel/ml)	Hb (g %)	Ht (%)
0	0,96 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	4,27 $\pm$ 0,46 <sup>a</sup>	16,63 $\pm$ 1,45 <sup>a</sup>
0,5 Selenite	-	-	-
1 Selenite	-	-	-
2 Selenite	-	-	-
4 Selenite	-	-	-
1 Se-Met	1,18 $\pm$ 0,22 <sup>a</sup>	4,37 $\pm$ 0,45 <sup>a</sup>	19,50 $\pm$ 6,92 <sup>a</sup>
2 Se-Met	1,15 $\pm$ 0,45 <sup>a</sup>	4,30 $\pm$ 1,10 <sup>a</sup>	21,26 $\pm$ 1,66 <sup>a</sup>
4 Se-Met	1,19 $\pm$ 0,29 <sup>a</sup>	4,33 $\pm$ 0,79 <sup>a</sup>	19,80 $\pm$ 2,28 <sup>a</sup>

Keterangan: huruf superskrip di belakang nilai standar deviasi yang sama pada setiap lajur yang sama menunjukkan pengaruh yang tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ ).

Tabel 4. Jumlah limfosit, monosit, neutrofil, dan indeks fagositik (IP) juvenil kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) yang diberi pakan dengan penambahan dosis dan sumber Se berbeda

Penambahan Se (mg/kg)	Diferensial leukosit			IP (%)
	Limfosit (%)	Monosit (%)	Neutrofil (%)	
0	64,33±5,13 <sup>a</sup>	13,67±2,08 <sup>a</sup>	9,00±1,00 <sup>a</sup>	15,67±2,31 <sup>b</sup>
0,5 Selenite	-	-	-	-
1 Selenite	-	-	-	-
2 Selenite	-	-	-	-
4 Selenite	-	-	-	-
1 Se-Met	61,33±4,73 <sup>a</sup>	14,67±2,52 <sup>a</sup>	9,33±3,51 <sup>a</sup>	22,67±3,21 <sup>a</sup>
2 Se-Met	63,33±13,20 <sup>a</sup>	14,33±4,93 <sup>a</sup>	10,33±2,52 <sup>a</sup>	22,33±4,93 <sup>a</sup>
4 Se-Met	62,00±4,00 <sup>a</sup>	15,33±2,08 <sup>a</sup>	10,00±3,61 <sup>a</sup>	26,00±3,61 <sup>a</sup>

Keterangan: huruf superskrip di belakang nilai standar deviasi yang berbeda pada setiap lajur yang sama menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata ( $p < 0,05$ )



Gambar 3. Rataan nilai retensi Se juvenil kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) yang diberi pakan dengan penambahan dosis dan sumber Se berbeda.

Hasil berbeda didapatkan oleh Lorentzen *et al.* (1994) pada ikan Atlantik salmon, meskipun selenometionin yang diberikan menyebabkan retensi Se lebih tinggi dibandingkan dengan Se dari sumber lain, tetapi pertumbuhan ikan tidak berbeda diantara perlakuan. Demikian pula yang dilaporkan oleh Rider *et al.* (2009) pada ikan *rainbow trout* yang menunjukkan hasil yang sama.

Kenyataan ini memberi gambaran bahwa nilai retensi Se yang tinggi tidak selamanya diikuti oleh pertumbuhan yang tinggi pula. Hal ini disebabkan karena pertumbuhan organisme dipengaruhi oleh banyak faktor, bukan hanya dari Se. Retensi Se menggambarkan besarnya Se yang tersimpan di dalam tubuh ikan dari Se yang dikonsumsi. Hasil perhitungan retensi Se disajikan pada Gambar 3.

## KESIMPULAN

Penambahan Se pada tingkatan dosis yang sama, dalam bentuk selenometionin ke dalam pakan juvenil ikan kerapu bebek lebih baik daripada sodium selenite. Penambahan selenometionin dosis 4 mg Se/kg pakan tidak menunjukkan tanda-tanda keracunan dan dapat meningkatkan pertumbuhan serta respons imunitas juvenil ikan kerapu bebek.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alifuddin M. 1999. Peran imunostimulan (lipopolisakarida, *Saccharomyces cerevisiae* dan levamisol) pada gambaran respon imunitas ikan jambal siam (*Pangasius hypophthalmus* Fowler) [Tesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Anonim. 2010. Selenium. <http://digilib.unsri.ac.id/download/Selenium.pdf> [25 Mei 2010].

- Anderson DP, Siwicki AK. 1993. Basic Hematology and Serology for Fish Health Programs. Paper presented in second symposium on diseases in asian aquaculture “Aquatic Animal Health and Environment” 25–29<sup>th</sup> October 1993. Phuket, Thailand.
- Bell JG, Cowey CB, Adron JW, Shanks AM. 1985. Some effects of vitamin E and selenium deprivation on tissue enzyme levels and indices of tissue peroxidation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Br. J. Nutr.* 53: 149–157.
- Bell JG, Cowey CB. 1989. Digestibility and bioavailability of dietary selenium from fishmeal, selenite, selenomethionine, and selenocysteine in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 81: 61–68.
- Blaxhall FC, Daisley KW. 1973. Routine haematological methods for use with fish blood. *Journal of Fish Biology* 5: 771–781.
- Burk RF. 1976. Selenium in man. *In: Prasad AS (ed). Trace Elements in Human Health and Disease*. London, UK: Academic Press. pp 105–134.
- Flohe L, Gunzler WA, Schock HH. 1973. Glutathione peroxidase: a selenoenzyme. *FEBS Lett.* 32: 132–134.
- Gatlin III DM, Wilson RP. 1984. Dietary selenium requirement of fingerling channel catfish. *J. Nutr.* 114: 627–633.
- Hamilton SJ, Palmisano AN, Wedemeyer GA, Yasutake WT. 1986. Impacts of selenium on early life stages and smoltification of fall Chinook salmon. *Trans. N. Am. Wildl. Nat. Resour. Conf.* 51: 343–356.
- Hamilton SJ. 2004. Review of selenium toxicity in the aquatic food chain. *Science of the Total Environment* 326: 1–31.
- Hilton JW, Hodson PV, Slinger SJ. 1980. The requirement and toxicity of selenium in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Nutr.* 110: 2527–2535.
- Jaramillo JRF, Peng L, Gatlin III DM. 2009. Selenium nutrition of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) bioavailability, toxicity, and interaction with vitamin E. *Aquaculture Nutrition* 15: 160–165.
- Kucukbay FZ, Yazlak H, Karaca I, Sahin N, Tuzcu M, Cakmak MN, Sahin K. 2009. The effects of dietary organic or inorganic selenium in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under crowding conditions. *Aquaculture Nutrition* 15: 569–576.
- Lin YH, Shiau SY. 2005. Dietary selenium requirement of grouper, *Epinephelus malabaricus*. *Aquaculture* 250: 356–363.
- Lorentzen M, Maage A, Julshamn K. 1994. Effects of dietary selenite or selenomethionine on tissue selenium levels of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 121: 359–367.
- [NRC] National Research Council. 1977. Nutrition requirement of warm water fishes. Washington DC: National Academic Press.
- Paripatananont T, Lovell RT. 1997. Comparative net absorption of chelated and inorganic trace minerals in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) diets. *Journal World Aquaculture Society* 28: 62–67.
- Ricker WE. 1979. Growth rate and models. *In: Hoar WS, Randall DJ, Brett JR (ed). Fish Physiology Vol. VIII*. New York: Academic Press. pp 678–744.
- Rider SA, Davies SJ, Jha AN, Fisher AA. 2009. Supra-nutritional dietary intake of selenite and selenium yeast in normal and stressed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): implications on selenium status and health responses. *Aquaculture* 295: 282–291.
- Rotruck JT, Pope AL, Ganther HE. 1973. Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science* 179: 585–590.
- Setiawati M. 2010. Peningkatan daya tahan tubuh juvenil kerapu bebek, *Cromileptes altivelis* yang diberi pakan bersuplemen Fe dan terpapar perubahan kondisi lingkungan [Disertasi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Spallholz JE. 1997. Free radical generation by selenium compounds and their prooxidant toxicity. *Biomed. Environ. Sci.* 10: 260–270.
- Stewart MJ, Spallholz JE, Neldner KH, Pence BC. 1999. Selenium compounds have disparate abilities to impose oxidative stress and induce apoptosis. *Free Radical Biol. Med.* 26: 42–48.

- Tashjian DH, The SJ, Sogomonyan A, Hung SSO. 2006. Bioaccumulation and chronic toxicity of dietary L-selenomethionine in juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). *Aquat. Toxicol.* 79: 401–409.
- Usman, Rachmansyah, Kamaruddin. 2006. Substitusi tepung ikan dengan tepung keong mas (*Pomacea* sp.) dalam pakan pembesaran ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*). *Jurnal Riset Akuakultur* 1: 143–150.
- Wang C, Lovell RT. 1997. Organic selenium sources, selenomethionine and selenoyeast, have higher bioavailability than an inorganic selenium source, sodium selenite, in diets for Channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture* 152: 223–234.
- Wang W, Mai K, Zhang W, Xu W, Ai Q, Liufu Z, Li H. 2012. Dietary selenium requirement and its toxicity in juvenile abalone, *Haliotis discus hannai* Ino. *Aquaculture* 330–333: 42–46.
- Watanabe T. 1988. *Fish Nutrition and Mariculture*. Tokyo, Japan: JICA Textbook the General Aquaculture Course.
- Watanabe T, Kiron V, Satoh S. 1997. Trace minerals in fish nutrition. *Aquaculture* 151: 185–207.
- Wedemeyer GA, Yasutake WT. 1977. *Clinical Methods for the Assessment of the Effects of Environmental Stress on Fish Health*, Technical Paper of the US. Fish and Wildlife Service, Vol. 89. Washington DC, USA: US. Depart. of the Interior Fish and Wildlife Service.
- Zhou X, Wang Y, Gu Q, Li W. 2009. Effects of different dietary selenium sources (selenium nanoparticle and selenomethionine) on growth performance, muscle composition and glutathione peroxidase enzyme activity of crucian carp (*Carassius auratus gibelio*). *Aquaculture* 291: 78–81.