

DESKRIPSI RESPON IMUN NON SPESIFIK KAKAP PUTIH (*Lates calcarifer*) YANG DIBERI JINTAN HITAM (*Nigella sativa*) DAN UJI TANTANG DENGAN VIRAL NERVOUS NECROSIS

Aulia Sonida¹ · Esti Harpeni² · Tarsim²

Ringkasan Asian seabass (*Lates calcarifer*) is one of the fish has a high economic value and widely cultivated in Indonesia. However, Asian seabass cultured constrains by infectious diseases such as Viral Nervous Necrosis (VNN). Application of antibiotics during cultured cause resistance and residues in the body of fish. Disease prevention method by use immunostimulant develop to enhances non-specific responses. The purposes of this research were to know the best dose of black cumin (*Nigella sativa*) that can increase the non-specific immune response of Asian seabass after injected by VNN. This research used four treatments (0 g black cumin/kg of feed, 25 g black cumin /kg of feed, 50 g black cumin/kg of feed and 75 g black cumin/kg of feed). Total leucocyte and differential leucocyte analyzed descriptively. The results showed that dose of 75 g black cumin/kg of feed is the best for increase the non-specific immune response of Asian seabass which had been seen from the highest total leucocyte. However, there was no effect of administrated of black cumin to Asian seabass after injected with VNN which had been seen from the RPS.

Keywords barramundi, black cumin, immunostimulatory, leucocyte, betanodavirus

Received: 4 Mei 2014

Accepted: 15 Juli 2014

PENDAHULUAN

Kakap putih (*Lates calcarifer*) merupakan ikan yang banyak dibudidayakan di Indonesia karena mempunyai nilai ekonomis yang tinggi [1] dan kisaran toleransi fisiologis yang cukup luas [2], fekunditas tinggi dan pertumbuhan yang cukup cepat. Namun, usaha budidaya ikan kakap putih tidak terlepas dari berbagai masalah seperti serangan penyakit infeksi. Salah satunya disebabkan oleh virus, yaitu *Viral Nervous Necrosis* (VNN). VNN dapat menyebabkan mortalitas tinggi pada larva dan juvenil kakap putih [3]. Selama ini cara yang sering dilakukan oleh pembudidaya untuk menanggulangi penyakit VNN adalah dengan menggunakan antibiotik yang dapat menyebabkan penyakit menjadi resisten dan adanya residu pada ikan.

Metode pencegahan penyakit dinilai lebih aman dengan menggunakan imunostimulan yang lebih ramah lingkungan dan dapat menciptakan budidaya perikanan yang berkelanjutan. Imunostimulan merupakan bahan yang mampu meningkatkan mekanisme respon imun non spesifik ikan. Jint-

¹)Alumni Jurusan Budidaya Perairan Universitas Lampung

²)Jurusan Budidaya Perairan Universitas Lampung
Alamat: Jl.Prof.Sumantri Brodjonegoro No.1
Gedong Meneng Bandar Lampung 35141
E-mail: esti.harpeni@fp.unila.ac.id

an hitam merupakan tanaman herbal yang berasal dari famili Ranunculacea. Biji jintan hitam banyak dimanfaatkan masyarakat dalam bidang kesehatan [4]. Bahkan saat ini banyak laporan yang mengatakan bahwa jintan hitam diindikasikan dapat meningkatkan sistem imun dan daya tahan tubuh. Selain itu jintan hitam merupakan salah satu imunostimulan yang berpotensi sebagai ekstrak anti-viral [5]. Diharapkan pemberian ekstrak jintan hitam mampu meningkatkan sistem imun pada ikan kakap putih yang terinfeksi virus VNN.

MATERI DAN METODE

Penelitian dilaksanakan pada September sampai Oktober 2013 di Laboratorium Kesehatan Ikan dan Lingkungan Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut (BBPBL) Lampung dan Laboratorium Budidaya Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Bahan-bahan yang digunakan antara lain kakap putih berukuran ± 10 cm, serbuk jintan hitam (HPATM) dan inokulum VNN. Penelitian ini menggunakan 4 perlakuan yaitu perlakuan A (0 g jintan hitam/kg pakan), perlakuan B (25 g jintan hitam /kg pakan), perlakuan C (50 g jintan hitam /kg pakan) perlakuan D (75 g jintan hitam /kg pakan).

Pembuatan inokulum VNN mengacu pada dalam [6], dengan menggerus organ yang diambil dari ikan yang positif VNN dan ditambahkan larutan PBS steril. Air hasil penyaringan disuntikan secara intraperitoneal (i.p) dengan dosis 0,1 ml pada ikan uji. Metode pencampuran pakan dengan serbuk jintan hitam mengacu pada modifikasi metode [7]. Pakan diberikan selama 2 kali sehari dengan feeding rate 4% [2]. Uji tantang dilakukan pada hari ke-38 dengan metode menyuntikkan virus VNN ke dalam tubuh ikan secara intraperitoneal (i.p) dengan dosis 0,1 ml/ikan.

Pengambilan sampel darah mengacu pada metode [8] dilakukan pada hari ke-0, 7, 14, 21, 45. Sebelum digunakan jarum suntik dan microtube dibilas dengan larutan EDTA 10% untuk mencegah penggumpalan darah. Selanjutnya darah diambil mela-

lui vena caudalis menggunakan jarum suntik 1ml 26G. Lalu darah dimasukkan ke dalam microtube.

Pengamatan hematologi dilakukan dengan menghitung total leukosit dan diferensial leukosit. Total leukosit dihitung berdasarkan [7], sampel darah dihisap dengan pipet berskala sampai 0,5 dilanjutkan dengan menghisap larutan turk sampai skala 11 (pengenceran 1:20), dimasukkan ke dalam haemocytometer dan dibiarkan selama 3 menit agar leukosit mengendap dalam bilik hitung, penghitungan dilakukan pada 4 kotak besar haemocytometer di bawah mikroskop dengan perbesaran 40x.

$$\text{Total leukosit}/\text{mm}^3 = L_t \times P \quad (1)$$

dimana :

L_t : Jumlah sel leukosit terhitung

P : Pengenceran

Pengamatan diferensial leukosit dilakukan mengacu pada [8]. Preparat digenangi dengan metanol secukupnya selama 5-10 menit, selanjutnya digenangi dengan giemsa selama 25 menit, dibilas dengan aquades dan dikering anginkan, minyak imersi ditetaskan pada bagian sediaan yang leukositnya tidak saling menumpuk, diamati dengan perbesaran 1000x, macam-macam bentuk leukosit dihitung sepanjang sediaan apus darah, perhitungan dihentikan bila jumlahnya telah mencapai 100 sel leukosit, hasilnya dihitung dalam persen (%). Data hasil pengamatan dari parameter hematologi dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil perhitungan total leukosit menunjukkan bahwa kakap putih yang diberikan dosis 75 g jintan hitam/kg pakan memiliki respon imun non spesifik yang lebih baik dibandingkan dengan dosis yang lainnya. Hal ini dapat dilihat dari peningkatan total leukosit tertinggi yang terdapat pada perlakuan D hari ke-45 yaitu sebesar 85.700

sel/mm³ (Gambar 1a). Meningkatnya total leukosit pada ikan yang diberi imunostimulan memperlihatkan bahwa imunostimulan yang masuk kedalam tubuh memberikan efek yang positif terhadap peningkatan total leukosit di dalam darah. Terjadinya peningkatan total leukosit diduga karena adanya respon perlawanan tubuh terhadap patogen, berupa meningkatnya aktifitas sel-sel fagosit yang berfungsi untuk menghancurkan benda asing yang masuk ke dalam tubuh ikan. Fagositosis merupakan tahap awal dalam mekanisme pertahanan tubuh [9].

Jenis leukosit yang sering dijumpai di peredaran darah kakap putih adalah sel monosit, limfosit dan neutrofil. Persentase monosit pada perlakuan A, B, C dan D jumlahnya berkisar antara 7-11% (Gambar 1b). Persentase monosit menunjukkan peningkatan pada hari ke-0 hingga hari ke-45 pada semua perlakuan dan peningkatan tertinggi terjadi pada perlakuan B dan C pada hari ke-45 dengan persentase yang sama yaitu sebesar 11%, hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian dosis jantan hitam yang berbeda tidak terlalu berpengaruh terhadap peningkatan persentase monosit terlihat dari perlakuan A dengan dosis 0 g jantan hitam/kg pakan juga mengalami peningkatan pada hari ke-45 dengan persentase 10%. Adanya infeksi setelah ujiantang juga dapat menyebabkan terjadinya peningkatan sistem imun non spesifik pada ikan. Hal ini sesuai dengan pendapat [10] yang mengatakan bahwa persentase monosit akan meningkat jumlahnya dalam waktu yang singkat setelah adanya infeksi dengan benda asing untuk melakukan proses fagositosis.

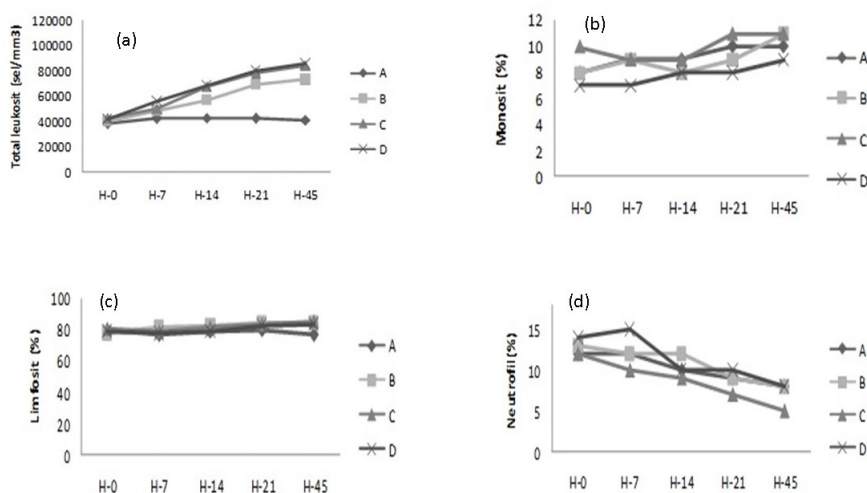
Limfosit merupakan jenis sel leukosit yang paling dominan di dalam populasi leukosit pada ikan. Persentase limfosit terlihat terjadi peningkatan pada semua perlakuan yang diberikan dosis jantan hitam dibandingkan dengan perlakuan A yang tidak diberikan dosis jantan hitam (Gambar 1c). Peningkatan persentase limfosit tertinggi terjadi pada perlakuan C hari ke-45 yaitu sebesar 86% (Gambar 1c). Peningkatan sel limfosit ini diduga karena sel limfo-

sit teraktifasi oleh pemberian imunostimulan secara langsung. Pada perlakuan C dosis imunostimulan jantan hitam yang diberikan terbukti dapat meningkatkan jumlah persentase limfosit yang sangat berperan dalam sistem pertahanan tubuh ikan sebagai salah satu sel fagosit yang dapat membunuh benda asing yang masuk ke dalam tubuh ikan [11]. Hal ini juga menguatkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh [12] menunjukkan pemberian ekstrak jantan hitam sebagai imunostimulan mampu meningkatkan persentase limfosit secara signifikan.

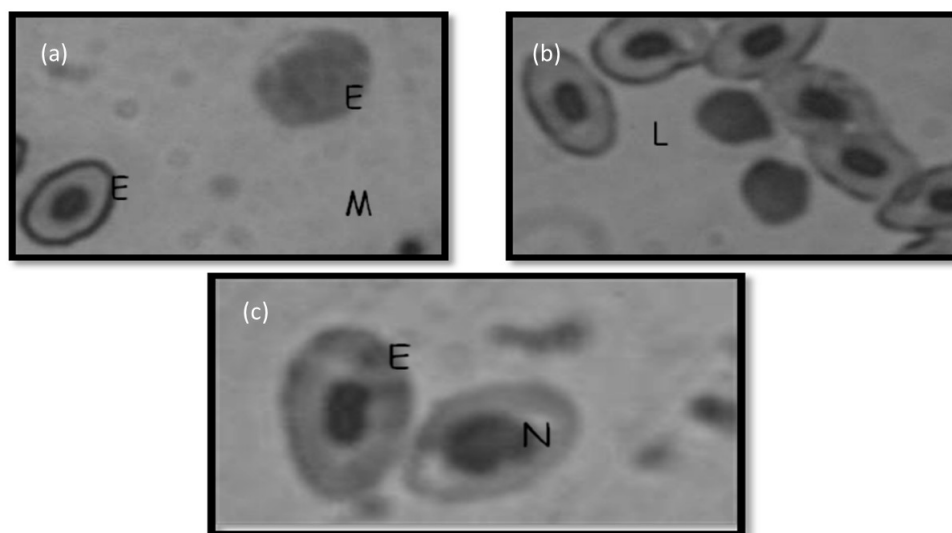
Persentase neutrofil mengalami penurunan pada semua perlakuan dan persentase terendah terdapat pada perlakuan C yaitu sebesar 5%. Jumlah neutrofil yang rendah di dalam sirkulasi darah akan diimbangi dengan jumlah limfosit dan monosit yang tinggi. Faktor lain yang menyebabkan rendahnya persentase neutrofil di dalam sirkulasi darah adalah jumlahnya yang memang sedikit sesuai dengan pendapat [9] yang mengatakan bahwa sel neutrofil sangat jarang dijumpai pada ikan karena sulit menyerap zat warna yang biasa digunakan. Penurunan persentase neutrofil juga terjadi pada penelitian yang dilakukan oleh [12] persentase neutrofil yang diamati mengalami penurunan pada semua perlakuan baik kontrol maupun yang diberikan dosis jantan hitam. Hal ini mengindikasikan bahwa imunostimulan dari ekstrak jantan hitam tidak efektif dalam proses peningkatan persentase neutrofil dalam sirkulasi darah kakap putih.

Pustaka

1. Maeno, Y., L.D. De La Peña and E.R. Cruz-Lacierda. 2004. Mass Mortalities Associated with Viral Nervous Necrosis in Hatchery-Reared Sea Bass *Late calcarifer* in the Philippines. *JARQ* 38: 69-73.
2. Philipose, K. K., Sharma, S.R.K., Sadhu, N., Vaidya, N.G. and Rao, G. S.. 2010. Some aspects of nursery rearing of the Asian seabass (*Late calcarifer*, Bloch) in indoor cement tanks. *Indian J. Fish.* 57: 61-64.
3. Chi, S. C. Wu, Y. C., Cheng, T. M. 2005. Persistent infection of betanodavirus in a novel cell line derived from the brain tissue of barramundi *Late calcarifer*. *Dis Aquat Org.* 65: 91-98.



Gambar 1 Nilai parameter hematologi kakap putih (*Lates calcarifer*) a) total leukosit; b) monosit; c) limfosit; d) neutrofil dengan berbagai perlakuan: A: 0 g jantan hitam/kg pakan, B: 25 g jantan hitam/kg pakan; C: 50 g jantan hitam /kg pakan; D: 75 g jantan hitam /kg pakan.



Gambar 2 Diferensial Leukosit: (E) eritrosit, (M) monosit, (L) limfosit, (N) neutrofil perbesaran 1000x

- Matthaus, B. and Özcan, M.M. 2011. Fatty Acids, Tocopherol, and Sterol Contents of Some *Nigella* Species Seed Oil. *Czech J. Food Sci.* 29: 145–150.
- Salem, M.L. 2005. Immunomodulatory And Therapeutic Properties Of The *Nigella sativa* L. Seed. *International Immunopharmacology* 5:1749–1770
- Johnny, F., Mahardika, K., Giri I.N.A. dan Roza, D. 2007. Penambahan Vitamin C dalam Pakan Untuk Meningkatkan Imunitas Benih Ikan Kerapu Macan, *Epinephelus fuscoguttatus* terhadap Infeksi Viral Nervous Necrosis. *Jurnal Akuakultur Indonesia* 6: 43–53.
- Septiarini, Harpeni, E. dan Wardiyanto. 2012. Pengaruh Waktu Pemberian Probiotik Yang Berbeda Terhadap Respon Imun Non-Spesifik Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.) yang Diuji Tantang Dengan Bakteri *Aeromonas salmonicida*. *e-JRTBP* 1: 39-46.
- Tavares-Dias, M., Affonso, E.G., Oliveira, S.R., Marcon, J.L. and Egami, M. I. 2008. Comparative study on hematological parameters of farmed matrinxã, *Brycon amazonicus* Spix and Agassiz, 1829 (Characidae: Bryconinae) with others Bryconinae species. *Acta Amazonica* 38: 799-806
- Harikrishnan, R., Rani, M. N. and Balasundaram, C. 2011. Impact of plant products on in-

- nate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. *Aquaculture* 317: 1–15.
10. Clauss, T.M., A.D.M. Dove, J.E. Arnold. 2008. Hematologic Disorders of Fish. *Vet Clin Exot Anim.* 11: 445–462.
 11. Wintoko, F., Setyawan, A., Hudaidah, S dan Mahrus, A. 2013. Imunogenisitas *Heat Killed* Vaksin Inaktif *Aeromonas salmonicida* pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). *e-JRTBP* 2: 205-210
 12. Saad, T.T., El-Geit, A., Hammady, E.N. E., A. K. I. and Zaki, M. S.. 2013. Effect of Black Cumin Seeds (*Nigella Sativa*) and / or Turmeric (*Curcumin*) On Hematological, Biochemical and Immunological Parameters of Sea Bass Vaccinated with *Pseudomonas* Fluorescence Bacterin. *Life Science Journal* 10: 1292-1303.

