

## PROFIL HEMATOLOGI KAKAP PUTIH (*Lates calcarifer*) YANG DISTIMULASI DENGAN JINTAN HITAM (*Nigella sativa*) DAN EFEKTIFITASNYA TERHADAP INFEKSI *Vibrio alginolyticus*

Rahmat Hidayat<sup>\*†</sup>, Esti Harpeni<sup>‡</sup> dan Wardiyanto<sup>‡</sup>

### ABSTRAK

*Vibrio alginolyticus* merupakan bakteri yang paling sering menginfeksi kakap putih (*Lates calcarifer*) sehingga menyebabkan kematian massal. Salah satu alternatif pencegahan infeksi *V. alginolyticus* yang aman baik bagi ikan, manusia dan lingkungan, yaitu dengan pemberian imunostimulan dari bahan alami seperti jintan hitam (*Nigella sativa*). Penelitian bertujuan untuk mempelajari profil hematologi dan efektifitas dosis jintan hitam terhadap daya tahan tubuh kakap putih yang diinfeksi *V. alginolyticus*. Penelitian menggunakan 4 perlakuan (0,0%, 2,5%, 5,0%, dan 7,5% ekstrak jintan hitam) dicampur dengan pakan sebanyak 1kg. Data hematokrit, jumlah leukosit, diferensiasi leukosit, dan aktivitas fagositosis dianalisis secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak jintan hitam 7,5% merupakan yang paling efektif digunakan sebagai imunostimulan pada kakap putih. Ekstrak jintan dapat meningkatkan nilai hematokrit, leukosit, limfosit, monosit, neutrofil, dan aktifitas fagositosis yang bermanfaat mengatasi infeksi *V. alginolyticus*.

Kata kunci: kakap putih, imunostimulan, vibriosis, hematologi, jintan hitam.

### Pendahuluan

*Vibrio* adalah agen penyebab penyakit vibriosis yang menyerang hewan laut seperti ikan, udang, dan kerang-kerangan. *Vibrio alginolyticus* merupakan bakteri yang paling sering menginfeksi kakap putih sehingga menyebabkan kematian masal (Taslihan dkk., 2000). Salah satu alternatif pencegahan *V. alginolyticus* yang aman baik bagi ikan, manusia dan lingkungan, yaitu dengan pemberian imunostimulan

dari bahan alami menggunakan jintan hitam (*Nigella sativa*). Kandungan minyak dan bahan yang terdapat dalam biji jintan hitam memiliki potensi sebagai obat di dunia medis tradisional (Salem, 2005). Kandungan minyak atsiri dan volatil pada jintan hitam efektif melawan bakteri seperti *V. cholera*, *Escherichia coli*, *Shigella* sp. (El-Dakhkhny *et al.*, 2002). Berdasarkan penelitian Ali *et al.* (2007) ekstrak jintan hitam dapat menghambat

\* Mahasiswa Jurusan Budidaya Perairan Universitas Lampung

† Surel korespondensi :rahmat.rahmat069@gmail.com

‡ Dosen Jurusan Budidaya Perairan Universitas Lampung

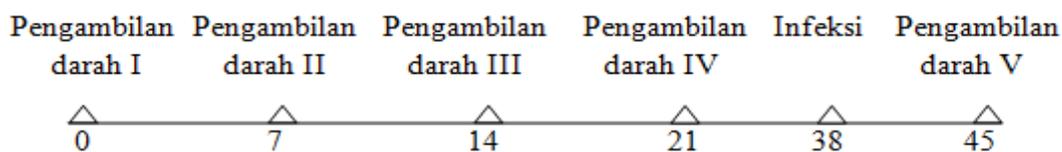
Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung Jl. Soemantri Brojonegoro Gedung Meneng No. 1 Bandar Lampung 35145

bakteri *S. aureus* dan *M. luteus* yang menghasilkan zona daya hambat masing 15 dan 12 mm. Salah satu cara pemeriksaan untuk mengantisipasi penyakit adalah dengan pengamatan menggunakan metode pemeriksaan hematologi sebagai indikator tingkat suatu komponen darah pada infeksi penyakit (Bastiawan dkk., 2001). Penelitian bertujuan untuk mempelajari profil hematologi dan efektifitas dosis jintan hitam terhadap respon imun non spesifik kakap putih yang diinfeksi *V.alginolyticus*.

### Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan September-Oktober 2013 di Laboratorium Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut Lampung dan Laboratorium Budidaya Perikanan, Universitas Lampung. Penelitian ini terdiri dari 4 perlakuan yaitu perlakuan A (0,0 g jintan hitam/kg

pakan), perlakuan B (2,5 g jintan hitam /kg pakan), perlakuan C (5,0 g jintan hitam /kg pakan) perlakuan D (7,5 g jintan hitam /kg pakan). Kakap putih dengan bobot sekitar  $\pm 15$  gr sebanyak 60 ekor lalu diadaptasikan selama 7 hari dan diberi pakan berupa pelet. Ekstrak jintan hitam ditimbang sesuai dosis lalu dicampurkan pada pakan sebanyak 1 kg dengan bantuan spatula, ditambahkan dua putih telur sebagai binder dan diaduk dengan spatula, lalu pellet dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Pengambilan darah dilakukan setiap seminggu sekali, sebelum pengambilan darah kakap putih terlebih dahulu dibius menggunakan minyak cengkeh dengan dosis 0,04 ppm. Darah diambil pada bagian vena caudalis kemudian darah ditempatkan ke dalam *eppendorf*. Waktu pengambilan darah sampai ujiantang (Gambar 1).



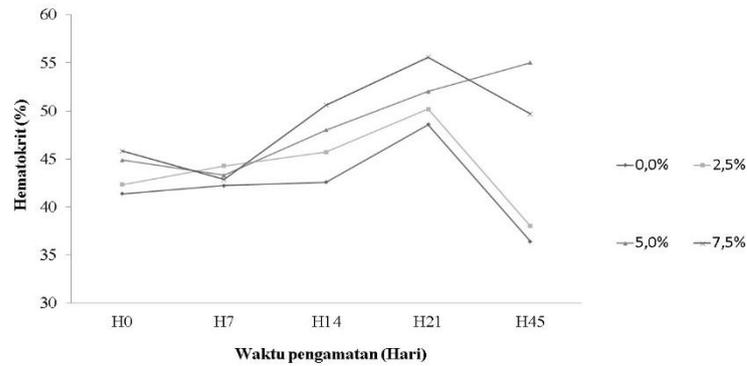
Gambar 1. Waktu pengambilan darah kakap putih, 0 (hari ke-0), 7 (hari ke-7), 14 (hari ke-14), 21 (hari ke-21), 38 (hari ke-38), 45 (hari ke-45).

Penghitungan nilai hematokrit dan total leukosit dihitung menurut (Tambur, 2006). Diferensiasi leukosit dihitung paling sedikit 100 sel dan dilakukan perhitungan persentase jenis leukosit (Tambur, 2006). Indeks fagositosis dihitung dengan menggunakan metode Salasia (2001) yang dimodifikasi.

### Hasil dan Pembahasan

Hasil pengamatan nilai hematokrit setelah dilakukan pemberian pakan ekstrak jintan hitam pada perlakuan A, B, dan D menunjukkan peningkatan

dihari ke-21 dan penurunan dihari ke-45. Peningkatan dihari ke-45 hanya terjadi pada perlakuan C, peningkatan diduga terjadinya lisis pada darah (Gambar 2). Menurunnya nilai hematokrit menandakan jumlah sel darah merah dalam tubuh menurun dikarenakan jumlah sel darah putih dalam darah sedang diproduksi banyak untuk membersihkan benda asing yang masuk ke dalam tubuh. Nilai hematokrit tertinggi pada perlakuan D sebesar 55,58% dan terendah pada perlakuan A sebesar 36,38%.

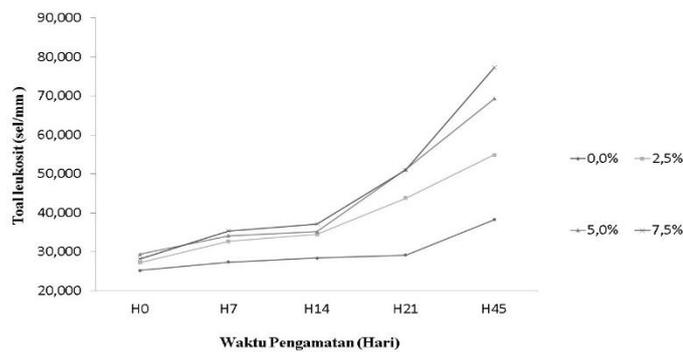


Gambar 2. Nilai persentase hematokrit kakap putih (*Lates calcarifer*) dengan penambahan jintan hitam (*Nigella sativa*) yang berbeda.

Perubahan tingkah laku kakap putih pasca infeksi terjadi pada perlakuan kontrol, yaitu berupa penurunan respon terhadap rangsang, dan cenderung bergerak lamban. Gejala klinis hanya pada perlakuan B yaitu terdapat luka pada tubuh kakap putih, serta geripis pada bagian sirip. Gejala klinis perubahan morfologi dilaporkan pula oleh Sarjito dkk. (2007) perubahan warna yang terjadi dapat dipicu oleh infeksi yang diakibatkan bakteri sehingga menyebabkan terjadinya

infiltrasi sel radang meluas pada lapisan epidermis.

Hasil perhitungan total leukosit menunjukkan peningkatan pada semua perlakuan dari hari ke-0, 7, 14, 21 terus meningkat pasca infeksi pada hari ke-45. Peningkatan total leukosit hingga sebesar 26.308 sel/mm<sup>3</sup> pada perlakuan D dari hari ke-21 sampai hari ke-45 (Gambar 3) peningkatan jumlah leukosit terjadi oleh infeksi patogen yang masuk kedalam tubuh.



Gambar 3. Jumlah total leukosit kakap putih (*Lates calcarifer*) dengan penambahan jintan hitam (*Nigella sativa*) yang berbeda.

Adanya infeksi *V.alginolyticus* menyebabkan kakap putih memproduksi sel leukosit lebih banyak

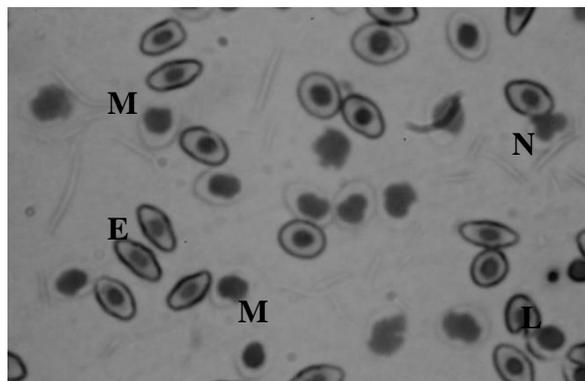
kedaerah infeksi sebagai upaya pertahanan. Sel-sel leukosit (Gambar 4), tersebut bekerja sebagai sel yang

memfagosit bakteri yang ada agar tidak dapat berkembang dalam tubuh inang sehingga sering ditemukan jumlah total leukosit mengalami peningkatan pasca infeksi oleh bakteri. Peningkatan aktifitas fagositosis tertinggi terjadi pada perlakuan D sebesar 77.360 sel/mm<sup>3</sup>, sedangkan yang terendah pada kontrol sebesar 25.289 sel/mm<sup>3</sup>.

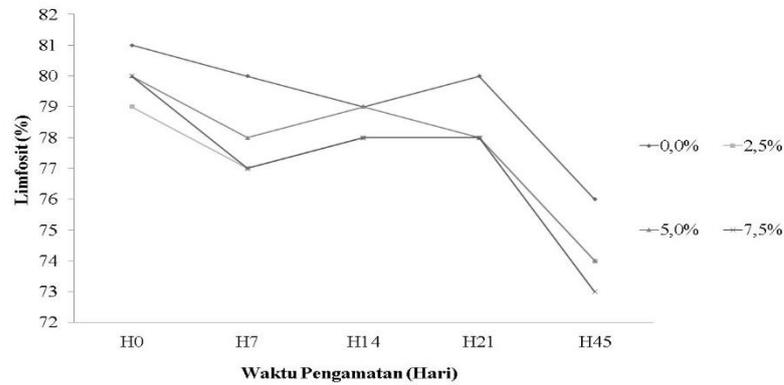
Nilai diferensial sel limfosit pada setiap pengamatan berbeda-beda yaitu berkisar antara 73–81%. Pasca infeksi pada hari ke-38 terjadi penurunan jumlah sel limfosit, pada perlakuan yang diberi ekstrak jintan hitam (perlakuan B, C, dan D) maupun tanpa pemberian ekstrak jintan hitam (perlakuan A) (Gambar 5). Hal ini terjadi dikarenakan antibodi didalam darah yang terbentuk digunakan untuk menyerang bakteri *V.alginolitycus*, perlawanan tersebut menyebabkan jumlah sel limfosit berkurang. Penurunan jumlah limfosit juga diduga, saat terjadi infeksi neutrofil dan monosit yang bekerja paling aktif karena merupakan pertahanan terdepan tubuh dalam melawan infeksi (Alamanda dkk., 2007). Setelah terjadinya infeksi neutrofil akan lebih aktif dibanding

limfosit karena antibodi dari limfosit akan teraktifasi setelah neutrofil bekerja. Hasil pengamatan persentase sel limfosit lebih tinggi dibandingkan neutrofil dan monosit. Hal ini sesuai dengan pendapat Moyle and Cech (2004), bahwa jumlah sel limfosit pada ikan lebih banyak dibandingkan dengan neutrofil dan monosit.

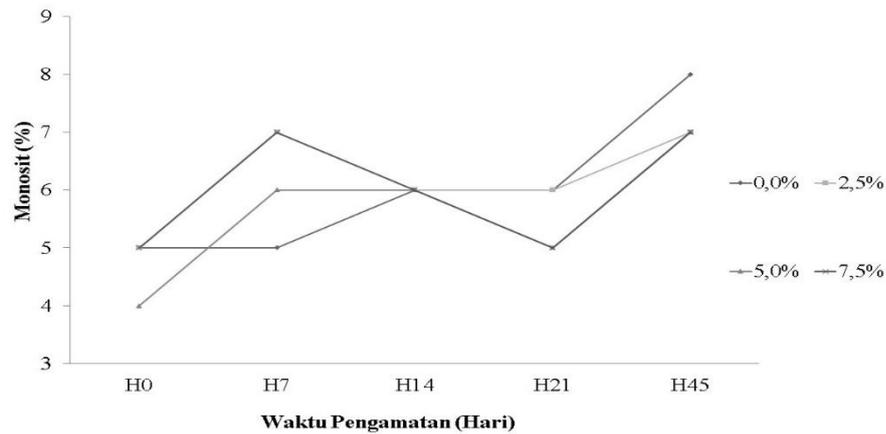
Hasil pengamatan yang dilakukan baik sebelum dan sesudah infeksi jumlah sel monosit pada ikan uji yaitu 4-8%. Persentase jumlah sel monosit bervariasi pada setiap perlakuan, dan peningkatan pasca injeksi tertinggi dihari ke-45 pada perlakuan A, sedangkan pada semua perlakuan yang diberi ekstrak jintan hitam menurun (Gambar 6). Hal ini diduga bahwa monosit meninggalkan pembuluh darah menuju daerah yang terinfeksi dan memfagosit bakteri (Affandi dan Tang, 2002). Monosit mempunyai siklus hidup singkat dalam sirkulasi darah yakni sekitar 2,5-3 hari. Monosit juga mensekresikan kolagenase, elastase, dan aktivator plasminogen yang berguna dalam proses penyembuhan luka dan fagositosis (Kresno, 2001).



Gambar 4. Diferensial leukosit dengan pewarnaan giemsa, pada perbesaran 100X menggunakan mikroskop Olympus BX-4, (M = monosit; L = limfosit; N = neutrofil; E = eritrosit) 1.



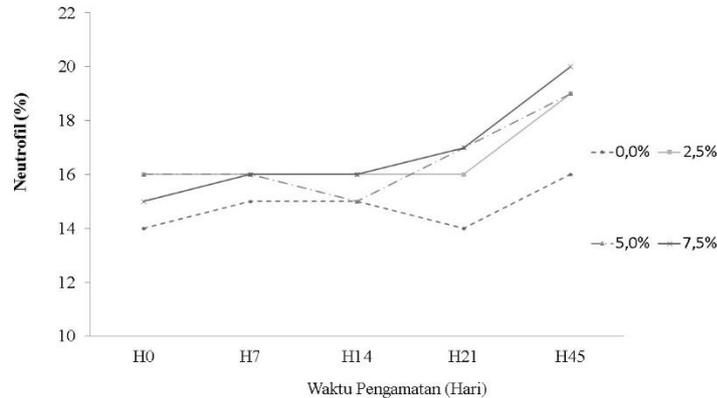
Gambar 5. Jumlah limfosit kakap putih (*Lates calcarifer*) dengan penambahan jintan hitam (*Nigella sativa*) yang berbeda.



Gambar 6. Jumlah monosit kakap putih (*Lates calcarifer*) dengan penambahan jintan hitam (*Nigella sativa*) yang berbeda.

Hasil pengamatan persentase sel neutrofil menunjukkan nilai yang tidak jauh berbeda dihari ke-0, 7, 14 dan 21. Peningkatan tertinggi pasca injeksi terjadi di hari ke-45 pada perlakuan D sebesar 20% (Gambar 7), hal ini menunjukkan adanya aktivitas sel neutrofil dalam menyerang antigen yang masuk ke dalam tubuh. Peningkatan dihari ke-45 pada perlakuan B, C dan D juga menunjukkan bahwa ekstrak jintan hitam yang masuk kedalam tubuh dapat meningkatkan

persentase neutrofil dalam darah. Hal ini didukung oleh pendapat Fujaya (2004) bahwa keluarnya sel neutrofil pada saat terjadinya infeksi disebabkan oleh adanya pengaruh rangsangan kimiawi eksternal diantaranya distimulasi oleh imunostimulan. Brown (2000) sel neutrofil dalam darah meningkat dapat diindikasikan bahwa terjadi peradangan akibat masuknya agen penyakit maupun benda asing dalam tubuh.

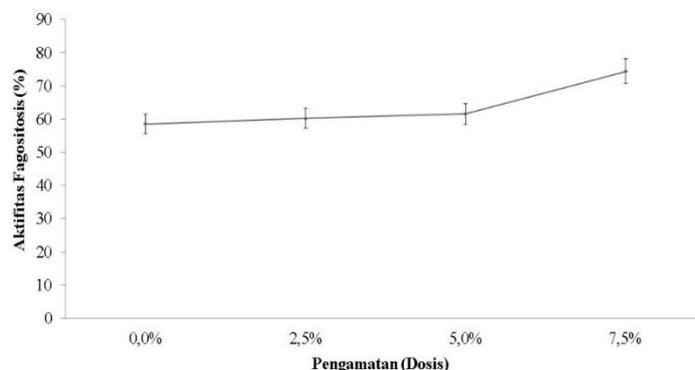


Gambar 7. Jumlah neutrofil kakap putih (*Lates calcarifer*) dengan penambahan jintan hitam (*Nigella sativa*) yang berbeda.

Aktifitas fagositosis makrofag terjadi apabila adanya benda asing termasuk patogen. Proses penelanan bakteri terjadi karena fagosit membentuk tonjolan pseudopodia, membentuk kantung mengelilingi bakteri sehingga terperangkap dalam vakuola fagosom. Patogen masuk ke dalam sel dengan cara endositosis dan oleh proses pembentukan fagosom, patogen terperangkap dalam kantong fagosom seolah-olah ditelan untuk dihancurkan, baik dalam proses oksidasi-reduksi maupun oleh derajat keasaman yang ada dalam fagosit (Anderson, 1992).

Pengamatan fagositosis hanya dilakukan sekali untuk melihat

terjadinya aktifitas fagosit sel terhadap benda asing yang masuk. Aktifitas fagositosis lebih tinggi terlihat pada kakap putih yang diberi perlakuan dibandingkan dengan kakap putih control. Seperti pada perlakuan D yaitu 74,34% dimana nilai ini lebih tinggi dibandingkan kontrol yang hanya 58,57% (Gambar 8). Peningkatan aktifitas fagositosis dapat terjadi pada awal respon dari pemberian imunostimulan atau awal terjadinya infeksi, sedangkan jumlah yang rendah diakibatkan dari ikan yang mengalami stres, kekurangan protein dan vitamin, serta infeksi kronis (Johnny dkk., 2005).



Gambar 8. Aktifitas fagositosis kakap putih (*Lates calcarifer*) dengan penambahan jintan hitam (*Nigella sativa*) yang berbeda.

### Kesimpulan

Pemberian pakan dengan ekstrak jintan hitam 7,5% paling efektif digunakan sebagai imunostimulan pada kakap putih. Ekstrak jintan hitam meningkatkan respon imun non-spesifik kakap putih, berupa peningkatan nilai hematokrit, leukosit, limfosit, monosit, neutrofil, dan aktifitas fagositosis yang bermanfaat mengatasi infeksi *V. alginolyticus*.

### Daftar Pustaka

- Affandi R dan Tang U.M. 2002. *Fisiologi Hewan Air*. Unri Press, Riau. hal. 32-47
- Ali, O., Basbulbul, G. and Aydin T. 2007. Antimitotic and antibacterial effects of the *Nigella sativa* L. Seed. *Caryologia* 3: 270-272.
- Alamanda, I.E., Handajani, N.S., dan Budiharjo, A. 2007. Penggunaan metode hematologi dan pengamatan endoparasit darah untuk penetapan kesehatan ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) di kolam budidaya desa mangkubumen Boyolali. *Jurnal Biodiversitas* 8 : 34-38
- Anderson, 1992. Immunostimulants, ejduvants and vaccine carrier in fish: Application to aquaculture. *Ann. Rev. Fish Dis* 2: 281-307.
- Bastiawan, D.A. Wahid, M. Alifudin, dan I. Agustiawan. 2001. Gambaran darah lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang diinfeksi cendawan *Aphanomyces* spp. pada pH yang berbeda. *J. Pen. Per. Indonesia*. 7:44-61.
- Brown, K.M.T. 2000. *Applied fish pharmacology*. Kluwer Academic Publisher, The Netherland.
- El-Dakhakhny M, Madi N.J, Lambert N, and Ammon H.P. 2002. *Nigella sativa* oil, nigellone and derived thymoquinone inhibit synthesis of 5-lipoxygenase products in polymorphonuclear leukocytes from rats. *J. Ethnopharmacol* 81:161-164.
- Fujaya, Y. 2004. *Fisiologi Ikan*. Proyek Peningkatan Penelitian Pendidikan Tinggi Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional.
- Johnny, F., D. Roza., K. Mahardika., Zafran, dan A. Prijono. 2005. Penggunaan imunostimulan untuk meningkatkan kekebalan non-spesifik benih ikan kerapu lumpur, *Ephinephelus coioides* terhadap infeksi virus irido. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia* 11 : 27-42
- Kresno, S.B. 2001. *Imunologi Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*. Edisi ketiga. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Moyle P.B and Cech J.J. 2004. *Fishes; An Introduction to Ichthyology*. USA. Prentice Hall.
- Sarjito, S.B. Prayitno, O.K. Radjasa dan S. Hutabarat. 2007. Causative agent vibriosis pada kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) dari karimun jawa pathogenisitasnya terhadap ikan kerapu macan (*Ephinephelus fuscogutattus*). *Ilmu Kelautan* 12 : 173-180.

- Salasia, S.I.O. 2001. Resistency *Streptococcus* Equi Subsp. Zooepidemicus on bactericidal activities of polymorphonuclear leucocyte. J. Saint. Vet. 29: 1-6.
- Salem M.L. 2005. Immunomodulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa* L. seed. Int. Immunopharmac. 5 :1749-70
- Tambur Z. 2006. White blood cell differential count in rabbits artificially infected with intestinal coccidia. J. Protozool. Res 16 : 42-50.
- Taslihan, A., M. Murdjani, C. Purbomartono dan E. Kusnendar. 2000. Bakteri patogen penyebab penyakit mulut merah pada ikan kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*). Jurnal Perikanan 2 : 57-62