



HISTOPATOLOGI ORGAN KAKAP PUTIH (*Lates calcarifer*) DENGAN INFEKSI *Vibrio alginolyticus* DAN JINTAN HITAM (*Nigella sativa*) SEBAGAI IMUNOSTIMULAN

Ahmad Fauzy^{*†}, Tarsim[‡] dan Agus Setyawan[‡]

ABSTRAK

Efektifitas jintan hitam (*Nigella sativa*) sebagai imunostimulan untuk ikan yang diinfeksi *Vibrio alginolyticus* dapat diamati melalui profil histopatologi. *V. alginolyticus* merupakan salah satu penyebab terjadinya kematian pada budidaya kakap putih (*Lates calcarifer*). Tujuan penelitian untuk mengetahui pengaruh pemberian jintan hitam terhadap kakap putih yang diuji tantang dengan bakteri *V. alginolyticus* melalui pengamatan profil histopatologisnya. Penelitian ini terdiri dari empat perlakuan yaitu pemberian 0%; 2,5%; 5% dan 7,5% jintan hitam/kg pakan. Gambaran histopatologi yang diamati adalah ukuran sel, warna, dan kerusakan jaringan seperti penumpukan zat besi pada pembuluh darah (*hemosiderin*), nekrosis, *hipertropi*, sel-sel yang lisis, dan *infiltrasi jaringan ikat*. Tingkat kerusakan jaringan dinilai berdasarkan jumlah kerusakan yang ditemukan pada jaringan tersebut, dengan kisaran nilai 0 hingga 5. Penilaian pada tiap perlakuan diperoleh dari nilai rata-rata tingkat kerusakan jaringan. Berdasarkan tingkat kerusakan jaringan pada profil histopatologi menunjukkan hasil yang berbeda. Tingkat kerusakan jaringan pada penambahan 7,5%; 5% dan 2,5% jintan hitam pada pakan secara berturut-turut adalah 0,333; 0,733 dan 1,267. Penambahan 0% jintan hitam dalam pakan menunjukkan tingkat kerusakan jaringan tertinggi dengan nilai 1,867. Berdasarkan pengamatan profil histopatologis, penambahan 7,5% jintan hitam dalam pakan efektif sebagai imunostimulan kakap putih dalam mencegah infeksi *V. alginolyticus* tanpa menyebabkan kerusakan jaringan ikan.

Kata kunci: imunostimulan, herbal, organ, jaringan, vibriosis

Pendahuluan

Proses budidaya kakap putih (*Lates calcarifer*) mengalami berbagai macam kendala. Salah satu masalah yang sering timbul dalam budidaya kakap putih

adalah infeksi penyakit bakterial. Jenis bakteri yang sering menyerang kakap putih adalah *Vibrio alginolyticus* (Novriadi, 2010). Penanganan penyakit jenis bakteri dapat diberi antibiotik, namun penggunaan antibiotik dapat

* Mahasiswa Jurusan Budidaya Perairan Universitas Lampung

† Surel korespondensi: ahmadfauzy92@gmail.com

‡ Dosen Jurusan Budidaya Perairan Universitas Lampung

Alamat: Jl.Prof.S.Brodjonegoro No.1 Gedong Meneng Bandar Lampung 35145

menyebabkan resistensi pada bakteri dan residunya berbahaya untuk manusia. Oleh karena itu, berbagai bahan herbal digunakan dalam pencegahan penyakit jenis bakterial. Bahan herbal difungsikan dalam memicu sistem imun non spesifik ikan sehingga mampu menahan serangan akibat bakteri. Salah satu bahan alami yang digunakan untuk pencegahan penyakit ini adalah ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) (Permata, 2009).

Manfaat dari jintan hitam telah banyak dikenal masyarakat antara lain sebagai anti parasit, anti mikroba, anti inflamasi, memperbaiki fungsi hepar dan ginjal, mengobati gangguan pernafasan dan pencernaan, serta dapat digunakan untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh (Permata, 2009). Kandungan kimia yang dominan terkandung pada tanaman ini adalah *thymoquinon* yang salah satu fungsinya adalah sebagai hepatoprotektor.

Jintan hitam sebagai immunostimulan terhadap bakteri *V.alginolyticus* dapat diamati melalui profil histopatologi dengan membandingkan ikan yang diinfeksi *V.alginolyticus*, diberi jintan hitam, dan kombinasi keduanya. Oleh karena itu perlunya kajian mengenai aplikasi jintan hitam sebagai immunostimulan ikan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio alginolyticus*.

Bahan dan Metode

Penelitian ini dilaksanakan pada Agustus - Oktober 2013 di Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut (BBPBL) Lampung. Penelitian ini terdiri dari 4 perlakuan dimana setiap bak perlakuan terdiri dari 15 ekor kakap putih berukuran 10 cm. Perlakuan yang diberikan yaitu konsentrasi jintan hitam yang berbeda tiap berat (kg) pakan yang

diberikan (0%, 2,5%, 5%, dan 7,5%) (Akbar dkk., 2002). Pemberian jintan hitam dilakukan selama 38 hari pemeliharaan ditambah 7 hari masa ujiantang menggunakan *Vibrio alginolyticus*.

Isolat murni bakteri *V. alginolyticus* diperoleh dari BBPBL Lampung. Ujiantang dilakukan dengan menginfeksi ikan uji dengan bakteri *V. alginolyticus* sebanyak 0,1 ml/ikan, injeksi secara *intra peritoneal* (i.p). setelah diinfeksi, ikan diamati gejala abnormal yang muncul sebelum ikan mengalami kematian. Selanjutnya ikan dinekropsi untuk dibuat preparat histopatologi (Genten *et al.*, 2009) kemudian diamati perubahan struktur jaringan pada ikan uji (Eroschenko, 2002).

Efektifitas immunostimulan jintan hitam terhadap bakteri *V.alginolyticus* dapat diamati melalui profil histopatologi dengan membandingkan ikan yang diinfeksi *V.alginolyticus* saja, diberi jintan hitam saja, dan kombinasi keduanya. Proses analisis data dilakukan dengan membandingkan profil histologi ikan dengan dan tanpa perlakuan. Gambaran histopatologis yang diamati adalah ukuran sel, warna, dan kerusakan jaringan seperti penumpukan zat besi pada pembuluh darah (*hemosiderin*), nekrosis, *hipertropi*, sel-sel yang lisis, dan *infiltrasi jaringan ikat*. Penilaian tingkat kerusakan jaringan diperoleh dari jumlah jenis kerusakan yang terjadi pada setiap jaringan (Eroschenko, 2002). Tingkat kerusakan diperoleh dari gambar jaringan yang diambil melalui mikroskop dengan perbesaran 40 kali (Genten *et al.*, 2009).

Hasil dan Pembahasan

Perubahan tingkah laku terjadi setelah diinjeksi dengan *V. alginolyticus* (Tabel 1). Pemeriksaan gejala klinis dilakukan setelah ikan uji diinjeksi *V. alginolyticus* (uji tantang) yaitu pada hari ke-38 selama masa pemeliharaan. Pemeriksaan dilakukan secara intensif karena dikhawatirkan gejala yang terjadi menyebabkan kematian pada ikan dan tidak dapat dilakukan nekropsis guna pengamatan secara mikroskopisnya. Gejala klinis pada ikan mulai timbul pada hari ke-3 setelah injeksi. Perubahan tingkah laku ikan berupa produksi lendir berlebih yang menyebabkan air dalam bak pemeliharaan berubah keruh. Selain itu ikan juga sering berdiam diri di dasar dan melakukan gerakan refleks berlebihan yang menyebabkan ikan sering membentur dinding bak, gerakan refleks ikan terjadi akibat adanya gerakan lain diluar bak (aktifitas penguji saat mengamati, beraktifitas di sekitar bak, atau memberi pakan pada ikan). Gejala paling parah yang ditimbulkan ikan yaitu adanya luka (nekrosis) berwarna kemerahan pada bagian tubuh ikan dekat *linea lateralis*.

Tingkat kerusakan jaringan tiap perlakuan dan tiap organ dalam satu perlakuan berbeda-beda hasilnya (Tabel 2; Gambar 1). Kerusakan pada masing-masing penambahan jintan hitam 7,5% dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan tingkat kerusakan yang terjadi pada

masing-masing perlakuan. Dengan penambahan jintan hitam 0% rata-rata tingkat kerusakan jaringan sebesar 1,876 artinya tanpa pemberian jintan hitam, kakap putih yang diinjeksi *V. alginolyticus* mengalami kerusakan terparah.

Komponen utama jintan hitam yaitu *thymoquinone* mampu menghambat pembentukan asam nukleat (RNA) dan sintesis protein dari *V. alginolyticus*. Selain itu *thymoquinone* menyebabkan tidak aktifnya protein bakteri dengan membentuk kompleks inversibel dengan asam amino *nukleofilik* sehingga protein kehilangan fungsinya. Hal ini terbukti dari hasil penelitian ini bahwa penambahan jintan hitam 7,5% dapat meningkatkan imunitas kakap putih karena infeksi *V. alginolyticus* hanya menyebabkan kerusakan rata-rata 0,333. Sedangkan tanpa pemberian jintan hitam, tingkat kerusakan mencapai 1,867.

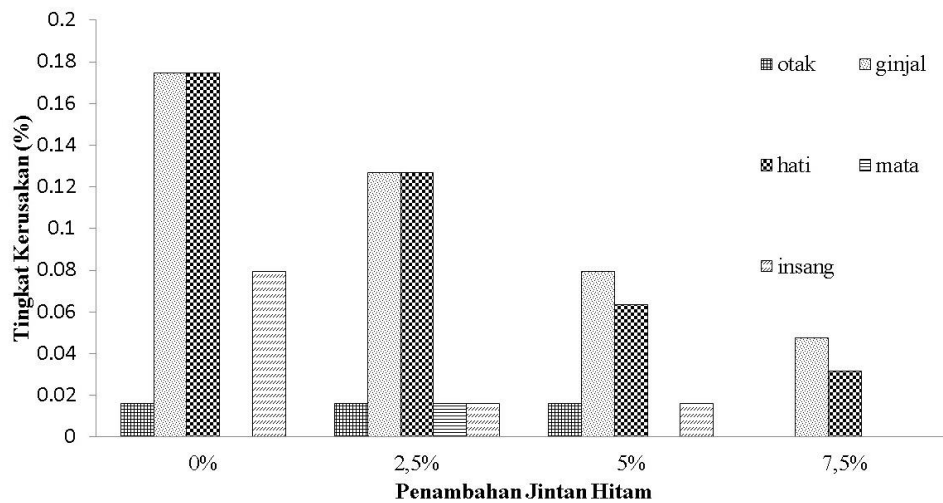
V. alginolyticus menyerang ikan dari bagian lendir (mucus) yang diproduksi oleh tubuh karena lendir dapat menjadi media yang baik untuk perkembangan koloni bakteri (Fahri, 2009). Selanjutnya bakteri masuk ke dalam tubuh melalui sistem peredaran untuk mengambil protein yang dibutuhkan oleh bakteri. Sistem peredaran darah bermuara di ginjal yang berfungsi sebagai penyaring (*filter*) darah yang akan dedarkan ke seluruh tubuh. Oleh karena itu ginjal menjadi organ target bagi *V. alginolyticus*.

Tabel 1. Perubahan makroskopis dan kematian kakap putih (*Lates calcarifer*) setelah diinjeksi dengan *Vibrio alginolyticus* selama 7 hari

Penambahan jintan hitam	Mulai sakit Hari ke-	Mati Hari ke-	Σ Mati	Lesi/Gejala
0 %	3	14	3	Banyak menghasilkan lendir, berdiam di dasar, dan nafsu makan menurun.
2,5 %	3	14	3	
5 %	3	14	3	<i>Whirling</i> , banyak menghasilkan lendir, berdiam di dasar, nafsu makan menurun, dan terdapat luka di tubuh ikan
7,5 %	4	14	3	<i>Whirling</i> , banyak menghasilkan lendir, berdiam di dasar, dan nafsu makan menurun.

Tabel 2. Perbandingan tingkat kerusakan jaringan (*Lates calcarifer*) setelah diinjeksi dengan *Vibrio alginolyticus*.

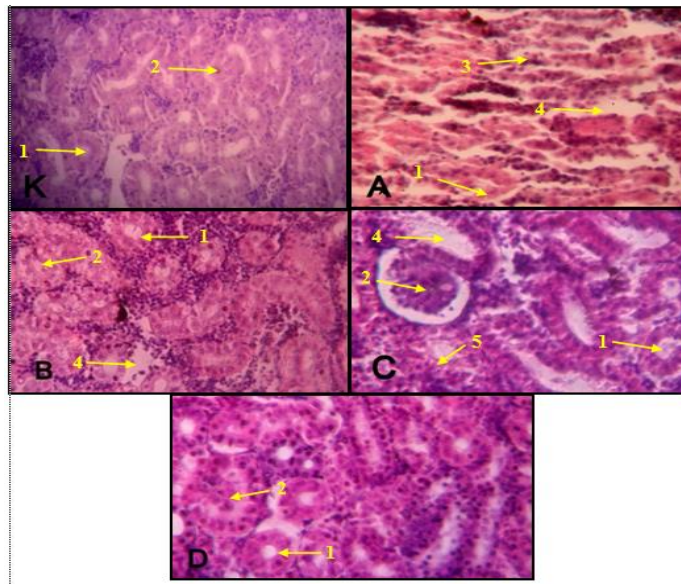
Penambahan jintan hitam	Ulangan	Organ					Rata-rata
		Otak	Ginjal	Hati	Mata	Insang	
0%	1	0	4	4	0	3	1,867
	2	0	4	4	0	0	
	3	1	3	3	0	2	
Rata-rata		0,333	3,667	3,667	0	1,667	
2,5%	1	1	3	2	0	0	1,267
	2	0	3	3	0	0	
	3	0	2	3	1	1	
Rata-rata		0,333	2,667	2,667	0,333	0,333	
5%	1	1	1	1	0	1	0,733
	2	0	2	2	0	0	
	3	0	2	1	0	0	
Rata-rata		0,333	1,667	1,333	0	0,333	
7,5%	1	0	0	0	0	0	0,333
	2	0	2	1	0	0	
	3	0	1	1	0	0	
Rata-rata		0	1	0,667	0	0	



Gambar 1. Perbandingan tingkat kerusakan jaringan (*Lates calcarifer*) setelah diinjeksi dengan *Vibrio alginolyticus*.

Perbedaan profil histopatologis organ ginjal dari masing-masing perlakuan (Gambar 2). Secara histologi, ginjal tersusun dari tubula ginjal atau nephron. Ada 2 macam bentuk dari tubulus ini dan dikenal dengan istilah *renal corpuscle* yang berbentuk seperti corong dan *convoluted corpuscle* yang merupakan saluran yang bergulung-gulung. *Renal corpuscle* tersusun dari kapsula Bowman dan glomerulus (Eroschenko, 2002). Histopatologi kontrol positif memiliki struktur tubulus dan glomerulus yang rapi sedangkan profil histopatologi A memiliki struktur tubulus yang hancur dan sulit mengenali glomerulus karena jaringan telah rusak akibat infeksi bakteri *V.alginolyticus* (Gambar 2). Infiltrasi jaringan ikat dapat dilihat pada gambar A dengan

gejala rusaknya struktur jaringan akibat infeksi bakteri *V.alginolyticus* yang menandakan jaringan telah terinfeksi pada waktu yang lama. Nekrosis dapat dilihat pada gambar A, B, dan C dengan gejala hancurnya struktur jaringan akibat infeksi *V.alginolyticus* yang menandakan jaringan telah mati (Gambar 2) (Prince dan Wilson, 2006). Kongesti dapat dilihat pada penambahan jintan hitam 5% dengan gejala munculnya bercak merah pada jaringan yang menandakan terjadinya peningkatan jumlah darah dalam jaringan. Pada gambar D tidak terlihat adanya kerusakan jaringan dan memiliki struktur jaringan yang rapi bila dibandingkan dengan gambar A, B, dan C (Gambar 2).

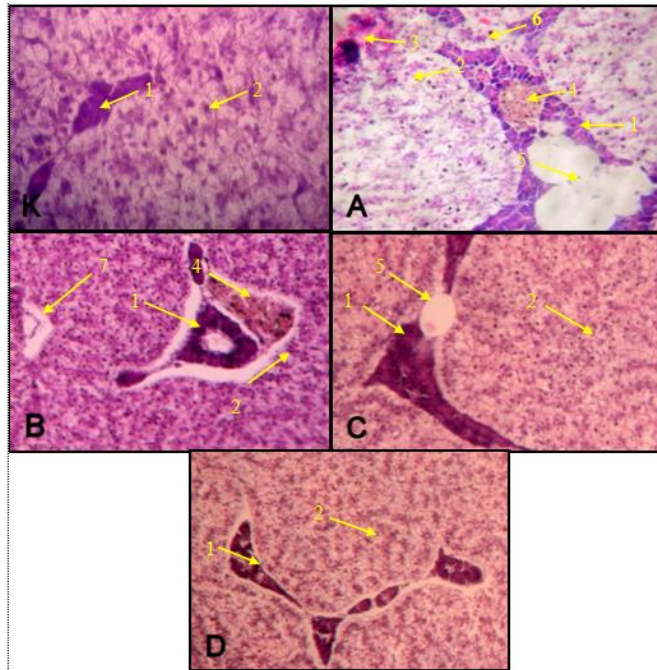


Gambar 2. Perbandingan profil histopatologi ginjal Kakap Putih dengan pewarnaan H-E perbesaran 400x. Keterangan: 1. Tubulus, 2. Glomerulus, 3. Infiltrasi Jaringan Ikat, 4. Nekrosis, dan 5. Kongesti. (Gambar K: Kontrol positif, gambar A: Perlakuan 0%, gambar B: Perlakuan 2,5%, gambar C: 5% dan gambar D: Perlakuan 7,5%)

V. alginolyticus menyerang ikan secara sistemik dari bagian lendir (*mucus*) yang diproduksi oleh tubuh (Fahri, 2009). Selanjutnya bakteri ini masuk ke dalam tubuh melalui sistem peredaran darah dan bermuara pada organ yang dilalui darah. Salah satu organ vital yang dilalui darah adalah ginjal karena ginjal berfungsi sebagai penyaring darah. Kerusakan yang terjadi pada ginjal sangat parah, hal ini dapat dilihat pada gambar dengan membandingkan gambar A dengan kontrol positif (Gambar 2).

Perbedaan profil histopatologi organ hati dari masing-masing perlakuan (Gambar 3). Gambaran histologi organ hati tersusun dari sel-sel hepatosit dan sel pankreas. Berdasarkan gambar yang diperoleh dapat dilihat bahwa gambaran profil histopatologis A terjadi kongesti, vakuolisasi, infiltrasi jaringan ikat, dan

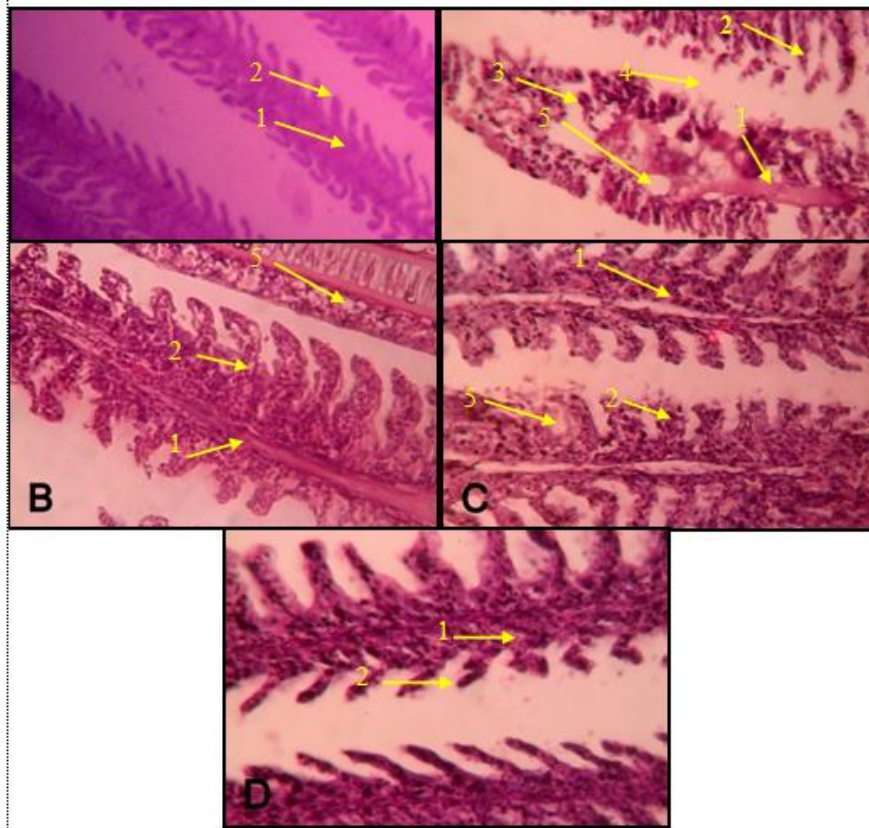
hemosiderin. Vakuolisasi terbentuk karena terjadinya degenerasi jaringan. Degenerasi merupakan perubahan jaringan menjadi bentuk yang kurang aktif (Tavernarakis and Driscoll, 2001). Vakuolisasi memiliki gejala timbulnya seperti ruang kosong yang memiliki ukuran abnormal dibandingkan dengan yang lainnya, vakuolisasi juga dapat dilihat pada gambar B (Gambar 3). Hemosiderin memiliki gejala terdapat warna kuning pada jaringan yang menandakan telah terjadinya perombakan darah secara cepat akibat infeksi bakteri *V. alginolyticus*, hemosiderin juga dapat dilihat pada gambar A. Pada gambar D tidak terlihat adanya kerusakan jaringan dan memiliki struktur jaringan yang rapi bila dibandingkan dengan gambar A, B, dan C (Gambar 3).



Gambar 3. Perbandingan profil histopatologi hati Kakap Putih dengan pewarnaan H-E perbesaran 400x. Keterangan: 1. Sel Pankreas, 2. Sel Hepatosit, 3.kongesti, 4. Hemosiderin, 5. Vakuolisasi, 6. Infiltrasi Jaringan Ikat, dan 7. Nekrosis. (Gambar K: Kontrol positif, gambar A: Perlakuan 0%, gambar B: Perlakuan 2,5%, gambar C: Perlakuan 5%. dan gambar D: Perlakuan 7,5%)

Perbedaan profil histopatologis organ insang terjadi pada setiap perlakuan pemberian jintan hitam yang berbeda (Gambar 4). Insang berfungsi sebagai alat respirasi pada ikan yang berhubungan langsung dengan lingkungan luar sehingga berpeluang besar terinfeksi penyakit. Insang tersusun dari lengkung insang, gerigi insang (*gill raker*) dan tapis insang. Tapis insang ini tersusun dari lamella primer, disepanjang lamella primer terdapat lembaran-lembaran halus lamella sekunder. Lamella sekunder inilah yang berfungsi untuk mengambil oksigen dari air. Lamella primer tersusun dari sel-sel pilar (*pillar cells*) yang tersusun berjajar dan sel-sel

tersebut terbungkus oleh selaput epidermis yang tipis dan bersifat semipermeabel (Genten *et al.* 2009). Profil histopatologis dengan penambahan jintan hitam 0% terjadi nekrosis, hiperplasia, dan ruptur epitel (Gambar 4). Hiperplasia memiliki gejala terjadinya perubahan ukuran sel yang lebih besar dibandingkan ukuran sel lainnya, hiperplasia juga dapat dilihat pada gambar C. Ruptur epitel memiliki gejala lepasnya epitel-epitel insang akibat gangguan yang ditimbulkan bakteri *V.alginolyticus*. Struktur lamella primer dan sekunder gambar D terlihat lebih rapi dibandingkan dengan gambar A, B, dan C (Gambar 4).



Gambar 4. Perbandingan profil organ insang Kakap Putih dengan pewarnaan H-E perbesaran 400x. Keterangan: 1. Lamela Primer, 2. Lamela Sekunder, 3. Nekrosis, 4. Ruptur Epitel, dan 5. Hiperplasia. (Gambar K: Kontrol positif, gambar A: Perlakuan 0%, gambar B: Perlakuan 2,5%, gambar C: Perlakuan 5%. dan gambar D: Perlakuan 7,5%)

Kesimpulan

Pemberian jintan hitam 7,5% meningkatkan imunitas kakap putih yang diinfeksi *Vibrio alginolyticus* dengan kerusakan jaringan organ yang terendah dibandingkan dengan perlakuan yang lainnya.

Daftar Pustaka

- Akbar, S., P. Hartono dan B. Kurnia. 2002. *Nutrisi dan Teknik Pembuatan Pakan ikan Kakap Putih dalam Budidaya ikan Kakap Putih (*Lates carcarifer*, Bloch.) di Karamba Jaring Apung*. Departemen Pertanian. Balai Budidaya Laut Lampung. Lampung. 65 Halaman
- Eroschenko, V.P. 2002. *Atlas Histologi Difiore dengan Korelasi Fungsional Edisi 11*. Buku Kedokteran. EGC. Jakarta.
- Fahri. M. 2009. *Bakteri Patogen pada Budidaya Perikanan *Vibrio alginolyticus**. <http://elfahrybima.blogspot.com/2009/01/bakteri-pathogen-pada-budidaya.html>.
- Genten, F., E. Terwinghe and A. Dangui. 2009. *Atlas of Fish Histology*. Science Publishers. USA.

- Novriadi, R. 2010. *Aplikasi Vaksinasi Vibrio polivalen melalui Pakan pada Ikan Kakap Putih untuk Peningkatan Imunitas dan Laju Pertumbuhan*. Balai Budidaya Laut Batam. Riau.
- Permata M.K. 2009. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Jintan Hitam (Nigella sativa) terhadap Perubahan Histopatologi Hepar Mencit Balb/C yang diinfeksi Salmonella typhimurium*. Universitas Diponegoro. Semarang
- Prince, S.A. dan Wilson, L.M. 2006. *Patofisiologi*. Edisi VI. EGC. Jakarta.
- Tavernarakis, N and M. Driscoll. 2001. *Cell/Neuron Degeneration*. Academic Press. USA.

