

PROFIL HISTOPATOLOGI KERAPU TIKUS (*Cromileptes altivelis*) YANG DISTIMULASI JINTAN HITAM (*Nigella sativa*) DAN DIINFEKSI Viral Nervous Necrosis (VNN)

Septi Diana Sari¹ · Wardiyanto² · Agus Setyawan²

Ringkasan *Black cumin* (*Nigella sativa*) has been used as an immunostimulant in humpback grouper (*Cromileptes altivelis*) was infected with Viral Nervous Necrosis (VNN). The addition of 7,5% black cumin in fish feed showed to increase innate immune response of humpback grouper. However, then was unknown histopathology effect forward black cumin administration in fish. This research purpose was to know profile of histopathological humpback grouper stimulated black cumin and infected VNN. Fish was organized in five tanks based on treatment i.e control, VNN infected fish, and VNN infected fish with additional 2,5 %, 5 %, and 7,5 % black cumin in fish feed. Then was five organs i.e brain, eyes, kidney, liver, and gills, that observed each fish sample. Result of this research showed that the addition of black cumin, was not affect histopathology profile in humpback grouper that infected with VNN.

Keywords *humpback grouper, black cumin, VNN, histopathology*

Received: 28 April 2014

Accepted: 24 Juli 2014

¹)Alumni Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung

²) Dosen Jurusan Budidaya Perairan Universitas Lampung Alamat: Jurusan Budidaya Perairan Fakultas Pertanian Unila Jl. Prof. S. Brodjonegoro No. 1 Gedong Meneng Bandar Lampung 35145
E-mail: agus.setyawan@fp.unila.ac.id

PENDAHULUAN

Viral Nervous Necrosis (VNN) adalah jenis virus Nodaviridae yang menyerang kerapu, terutama pada stadia larva dan benih. VNN dapat menyebabkan kematian massal hingga mencapai 100% pada stadia larva [1]. [2] menyatakan bahwa *Viral Nervous Necrosis* (VNN) dapat menyebabkan kematian karena virus ini merusak saraf sentral pada ikan, sehingga berbagai rangsangan tidak mampu direspon dan keseimbangan dalam bergerak terganggu sehingga sulit berenang dan akhirnya ikan mengalami kematian.

Salah satu cara untuk mengatasi masalah kerapu yang terinfeksi virus adalah dengan perbaikan nutrisi dengan memanfaatkan respon imun yang terdapat pada tubuh ikan [3]. Ekstrak-ekstrak herbal saat ini banyak dipergunakan untuk stimulan, salah satunya adalah jintan hitam (*Nigella sativa*). Banyaknya jintan hitam yang diperjualbelikan di pasaran dapat dijadikan sebagai alternatif imunostimulan untuk menanggulangi VNN. Penggunaan imunostimulan pada benih kerapu dapat meningkatkan kekebalan terhadap infeksi VNN, terutama dalam peningkatan respon imun non-spesifik [4]. Pemanfaatan jintan hitam sebagai imunostimulan dapat menurunkan mortalitas rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) terhadap serangan patogen [5].

Pemeriksaan histopatologi dilakukan melalui pemeriksaan terhadap perubahan-perubahan abnormal pada tingkat jaringan. [6] menyatakan bahwa kelebihan pemeriksaan histopatologi dalam mendiagnosa penyakit infeksi adalah untuk mengetahui penyebab infeksinya, klasifikasi penyakit berdasarkan waktu dan distribusi penyakit serta terdeteksinya penyakit infeksi pada ikan-ikan yang tidak menunjukkan gejala klinis.

[7] menyatakan bahwa virus menyebabkan perubahan karakteristik selama replikasi saat menginfeksi sel. Gambaran dari infeksi virus, baik dalam sel maupun jaringan dapat menunjukkan perubahan gejala serta fungsi sel dan jaringan. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian yang difokuskan pada pengaruh penambahan jintan hitam pada konsentrasi yang berbeda pada kerapu tikus yang diinfeksi VNN terhadap perubahan struktur jaringannya.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus - Oktober 2013 di Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut (BBPBL) Lampung. Penelitian ini terdiri dari 4 perlakuan yaitu dengan penambahan jintan hitam dalam pakan dengan konsentrasi yang berbeda per-kg pakan (0; 2,5; 5; 7,5%), dimana setiap bak perlakuan terdapat 10 ekor ikan. Ikan dipelihara dengan pemberian pakan dua kali sehari pada waktu pagi dan sore hari. Pemberian jintan hitam dilakukan selama masa pemeliharaan. Pada hari ke-38 pemeliharaan dilakukan uji tantang menggunakan ekstrak VNN sebanyak 0,1 ml/ikan dengan injeksi secara *intra peritoneal* (i.p). Setelah diinfeksi VNN, ikan diamati gejala-gejala abnormal yang terjadi dan saat ikan mengalami *moribund* (sekarat), ikan dinekropsi untuk dibuat preparat histopatologi dan kemudian diamati perubahan struktur jaringan pada ikan uji.

Pengamatan perubahan jaringan dilakukan pada organ otak, mata, ginjal, hati, dan insang pada tingkatan penambahan konsentrasi jintan hitam yang berbeda 0; 2,5; 5; 7,5% per-kg pakan, yang dibandingkan dengan kontrol (tanpa distimulasi jintan

hitam dan diinfeksi VNN). Hasil penelitian dianalisis secara deskriptif, analisis yang dilakukan menggunakan referensi dari [8].

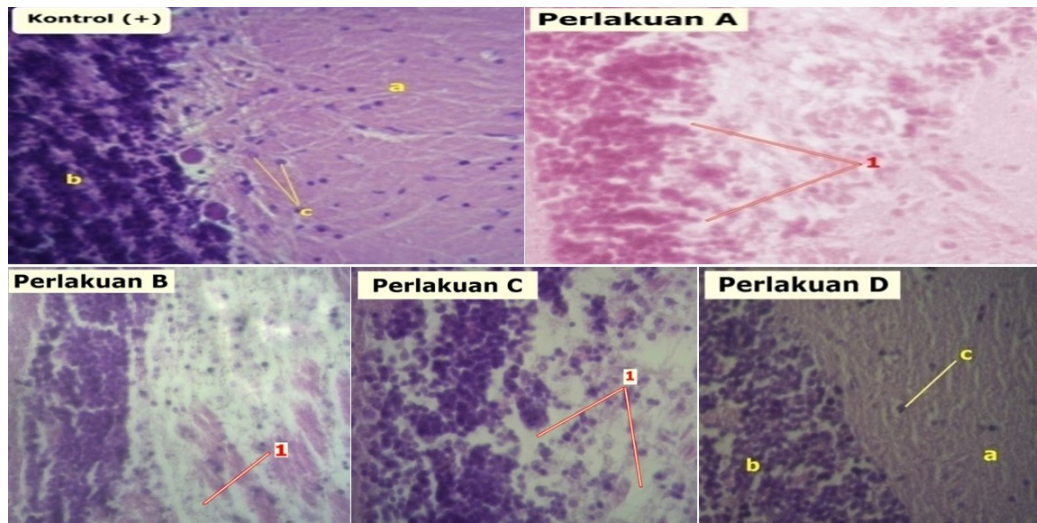
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil gejala klinis setelah dilakukan uji tantang mengindikasikan bahwa ikan uji terinfeksi VNN, gejala yang ditimbulkan yaitu nafsu makan menurun, menunjukkan tingkah laku berenang yang tidak beraturan atau berenang memutar (*whirling*), gerak renang yang pasif, dan berada di dasar kolam terlihat seperti mati. Gejala klinis yang ditimbulkan menunjukkan perbedaan pada tingkat konsentrasi pemberian jintan hitam.

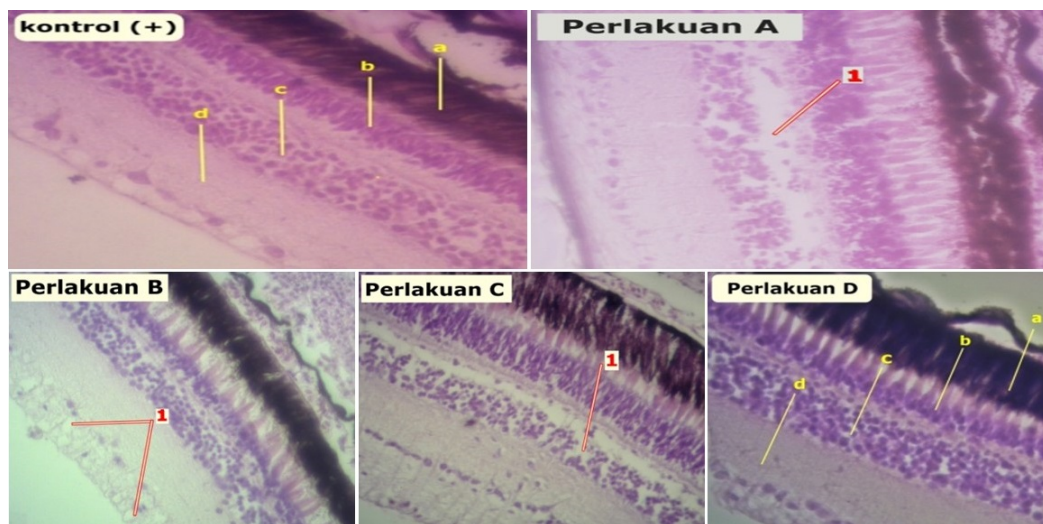
Otak merupakan organ target penyerangan VNN, karena akibat pelemahan saraf oleh VNN pada otak sehingga mengakibatkan gerakan renang ikan berputar-putar (*whirling*) [1]. Pengamatan pada organ otak, diketahui bahwa kerapu tikus terinfeksi VNN karena ditemukan adanya vakuolisasi (Gambar 1). Vakuolisasi terbentuk karena terjadinya degenerasi. Degenerasi merupakan perubahan jaringan menjadi bentuk yang kurang aktif [9].

Organ mata ikan yang terserang VNN juga mengalami pelemahan saraf sehingga mengakibatkan ikan menjadi buta dan berenang abnormal [1]. Hasil pengamatan histopatologi mata (Gambar 2) ditemukan adanya kerusakan berupa vakuolisasi pada lapisan *inner nuclear*. Vakuola yang terbentuk kemungkinan karena mengalami oedem. Oedem merupakan keadaan abnormal pada jaringan yang bercirikan adanya rongga diantara sel atau karena penumpukan cairan di jaringan interstisial [10].

Hasil pengamatan histopatologi organ ginjal (Gambar 3), pada perlakuan A mengalami histopatologi nefritis kronis (peradangan pada glomerulus) ditandai dengan adanya infiltrasi sel limfosit. Infiltrasi limfosit merupakan penimbunan bahan patologis dalam jaringan atau sel yang tidak normal atau dalam jumlah yang berlebihan [11]. Penimbunan bahan patologis yang berlebihan mengakibatkan inflamasi atau reaksi peradangan.



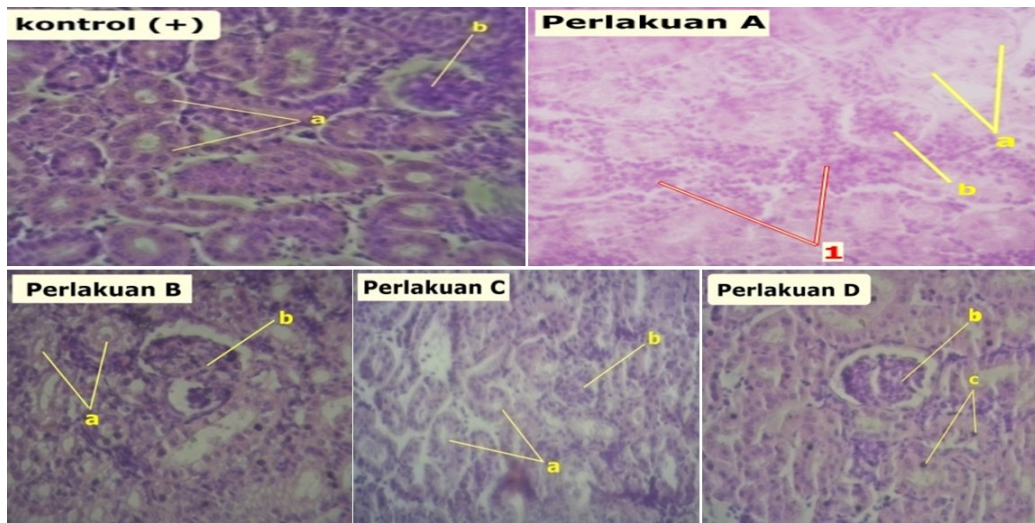
Gambar 1 Histopatologi otak kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*) yang terinfeksi VNN dengan pewarnaan H-E dan perbesaran 400x. Keterangan: a. korteks, b. medulla, c. sel-sel neuroglia; 1. Vakuolisasi



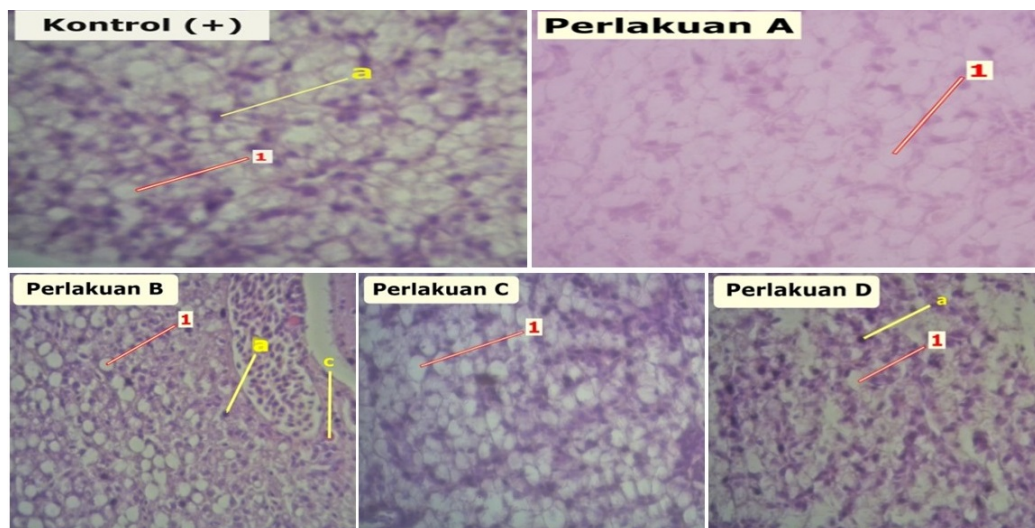
Gambar 2 Histopatologi mata kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*) yang terinfeksi VNN dengan pewarnaan H-E dan perbesaran 400x. Keterangan: a. pigment epithelium, b. photoreceptor layer (cones and rods), c. inner nuclear layer, d. Inner plexiform layer; 1. Vakuolisasi.

Hati merupakan organ yang memiliki banyak fungsi diantaranya adalah pembentukan dan sekresi empedu, metabolisme zat-zat penting bagi tubuh, pertahanan tubuh, serta fungsi vaskuler. Berdasarkan banyaknya fungsi hati maka dengan adanya kerusakan atau kelainan pada hati akan mempengaruhi fungsi jaringan tubuh lainnya, oleh karena itu organ hati juga diamati. Hasil histopatologi organ hati (Gambar 4), sel-sel hepatosit mengalami degenerasi yang diikuti piknotik nukleus. Piknotik merupakan tahap awal terjadinya nekrosis. Sel

piknotik memiliki ciri inti yang berkerut dan berwarna gelap akibat paparan radiasi [11]. Keadaan abnormal berupa degenerasi juga terdapat pada ikan kontrol, sehingga hal tersebut mengindikasikan bahwa adanya faktor lain yang mempengaruhi selain penambahan jintan hitam dan infeksi VNN. Secara umum organ hati ikan kerapu tikus mengalami degenerasi. Jenis-jenis degenerasi pada masing-masing perlakuan berbeda, hal tersebut menunjukkan adanya tingkat kerusakan yang berbeda pada hati. Gambaran organ hati yang normal seha-



Gambar 3 Histopatologi ginjal kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*) yang terinfeksi VNN dengan pewarnaan H-E dan perbesaran 400x. Keterangan: a. Tubulus ginjal, b. Glomerulus, c. sel-sel leukosit; 1. infiltrasi sel limfosit



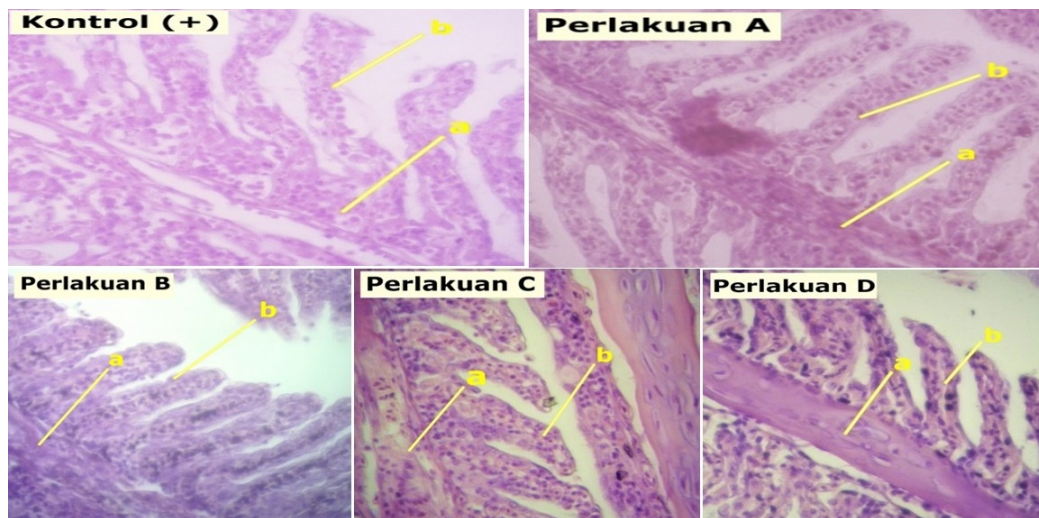
Gambar 4 Histopatologi hati kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*) yang terinfeksi VNN dengan pewarnaan H-E dan perbesaran 400x. Keterangan: a. Inti sel hepatosit; 1. Vakuolisasi

rusnya ditandai dengan dijumpainya satu inti atau beberapa inti di tengah sel hati.

Insang merupakan alat respirasi pada ikan yang berhubungan langsung dengan lingkungan luar sehingga berpeluang besar terinfeksi penyakit. Hasil pengamatan histopatologi insang (Gambar 5) menunjukkan bahwa struktur jaringan insang pada kontrol, perlakuan A, B, C dan D tidak mengalami perubahan spesifik. Hal tersebut mengindikasikan bahwa VNN tidak menyerang insang dan juga tidak ada masalah dengan

kondisi perairan tempat pemeliharaan ikan.

Berdasarkan hasil perbandingan gambaran histopatologi pada masing-masing organ tiap perlakuan, perlakuan A (penambahan jintan hitam 2,5%) menunjukkan hasil bahwa histopatologinya yang paling parah, karena hampir disetiap organ yang diamati terdapat keadaan abnormal kecuali pada insang. Perubahan abnormal yang terjadi pada perlakuan A yaitu adanya vakuola pada histopatologi organ otak dan mata.



Gambar 5 Histopatologi insang kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*) yang terinfeksi VNN dengan pewarnaan H-E dan perbesaran 400x. Keterangan: a. lamella primer, b. lamella sekunder.

Histopatologi pada perlakuan B (penambahan jintan hitam 2,5 %) dan C (penambahan jintan hitam 5 %) tidak terdapat perubahan yang spesifik apabila dibandingkan dengan kontrol. Namun, perlakuan C lebih baik dibandingkan dengan perlakuan B, dilihat dari perubahan struktur jaringannya.

Histopatologi pada perlakuan D (penambahan jintan hitam 7,5 %) menunjukkan bahwa struktur jaringannya hampir sama dengan ikan kontrol dan menunjukkan hasil yang terbaik dibandingkan dengan perlakuan A, B, dan C. Sehingga dapat dikatakan bahwa tingginya konsentrasi jintan hitam yang diberikan (2,6 % - 7,5%) tidak memberikan dampak kerusakan pada struktur jaringan organ, bahkan hasil profil histopatologi yang terbaik ditunjukkan pada perlakuan D. Jadi, secara berurutan tingkat kerusakan terendah dari hasil gambaran histopatologi adalah perlakuan D, perlakuan C, dan perlakuan B. Sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh [12], hasil pengamatan histopatologi hepatosit pada tikus putih yang diberi jintan hitam dengan dosis 500 – 1.500 mg/kgBB selama 21 hari, hasilnya tidak ada perubahan secara signifikan. Tingkat kerusakannya yang terjadi dapat dikendalikan karena banyak kandungan jintan hi-

tam yang melindungi hati dari kerusakan yang lebih parah.

Pustaka

1. Putri, R., U. Yanuhar dan A. M. Suryanto. 2013. Perubahan Struktur Jaringan Mata dan Otak pada Larva Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) yang Terinfeksi Viral Nervous Necrosis (VNN) dengan Pemeriksaan Scanning Electron Microscope (SEM). MSPi Student Journal 1: 1-10.
2. Prayitno, S. 2002. Peran Budidaya Perairan Khususnya Penanganan Penyakit Ikan dalam Pengelolaan Sumberdaya Perikanan. Semarang: Universitas Diponegoro.
3. Suprayudi, M.A., L. Indriastuti dan M. Setiawati. 2006. Pengaruh Penambahan Bahan-Bahan Immunostimulan dalam Formulasi Pakan Buatan terhadap Respon Imunitas dan Pertumbuhan Ikan Kerapu Bebek, *Cromileptes altivelis*. *Jurnal Akuakultur Indonesia* 5: 77-86.
4. Roza, D., F. Johnny dan Tridjoko. 2006. Peningkatan Respon Imun Non-Spesifik Benih Kerapu Bebek, *Cromileptes altivelis* dengan Immunostimulan dan Bakterin terhadap Infeksi Viral Nervous Necrosis (VNN). *Jurnal Perikanan* 8: 25-35.
5. Dorucu, M., S. Ozesen Colak, U. Ispir, B. Altinterim and Y. Celayir. 2009. The Effect of Black Cumin Seeds, *Nigella sativa*, on the Immune Response of Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Mediterranean Aquaculture Journal*. Vol. 2(1); 27-33.
6. Purivirojkul, W. 2012. Chapter 9: Histological Change of Aquatic Animals by Parasitic Infection. Diakses melalui <http://dx.doi.org/10.5772/52769> InTech, pada tanggal 20 Desember 2013.

7. Gupta, E., P. Bhalla, N. Khurana and T. Singh. 2009. Histopathology for the diagnosis of infectious diseases. *Indian Journal of Medical Microbiology* 27: 100-106.
8. Genten, F., E. Terwinghe and A. Dangui. 2009. *Atlas of Fish Histology*. Science Publishers. USA.
9. Tavernarakis, N and M. Driscoll. 2001. *Cell/Neuron Degeneration*. Academic Press. USA.
10. Robinson, A. 2012. Oedema (Swelling). Egton Medical Information Systems Limited (EMIS). Article patient. Diakses tanggal 12 Desember 2013 melalui <http://patient.co.uk/health/oedema-swelling.pdf>.
11. Mitchell, R.N. 2006. *Buku Saku Dasar Patologis Penyakit Robbins & Cotran Edisi 7 (Pocket Companion to Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease 7 edition)*. EGC Medical Publisher. Jakarta.
12. Tamad, F.S.U., Z.S. Hidayat, dan H. Sulisty. 2011. Gambaran Histopatologi Hepatosit Tikus Putih Setelah Pemberian Jintan Hitam selama 21 hari (Subkronik). *Mandala of Health*. Vol 5(3). Diakses tanggal 12 Desember 2013 melalui <http://kedokteran.unsoed.ac>.