

repository.ub.ac.id

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK JINTAN HITAM
(*Nigella sativa*) SEBAGAI IMMUNOSTIMULAN TERHADAP
HEMATOLOGI IKAN LELE DUMBO (*Clarias gariepinus*)
SETELAH UJI TANTANG DENGAN BAKTERI
*Aeromonas hydrophila***

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

Oleh :
ENDARTI
NIM. 0710852002



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2009**



**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK JINTAN HITAM (*Nigella sativa*)
SEBAGAI IMMUNOSTIMULAN TERHADAP HEMATOLOGI
IKAN LELE DUMBO (*Clarias gariepinus*) SETELAH UJI
TANTANG DENGAN BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan di
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya**

**Oleh :
ENDARTI
NIM. 0710852002**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2009**

SKRIPSI
PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK JINTAN HITAM (*Nigella sativa*)
SEBAGAI IMMUNOSTIMULAN TERHADAP HEMATOLOGI
IKAN LELE DUMBO (*Clarias gariepinus*) SETELAH UJI
TANTANG DENGAN BAKTERI *Aeromonas hydrophila*

Oleh :
ENDARTI
NIM. 0710852002

Telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 15 Juni 2009
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

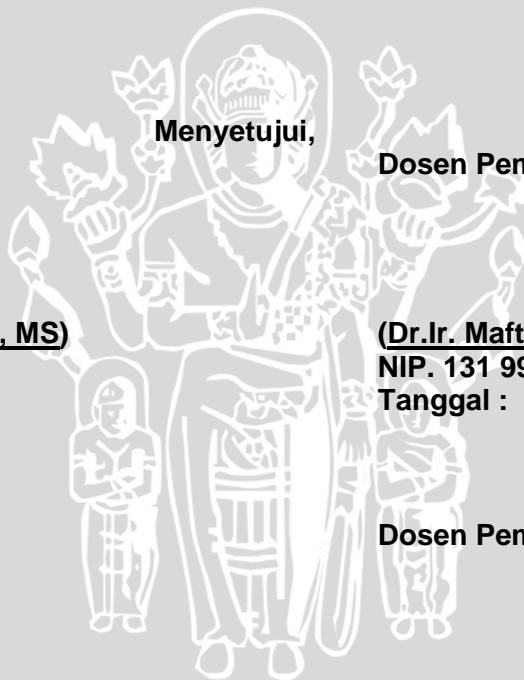
Dosen Penguji I

(Ir. Heny Suprastyani, MS)
NIP. 131 652 678
Tanggal :

Dosen Penguji II

(Ir. Ellana Sanoesi, MP)
NIP. 132 206 307
Tanggal

Menyetujui,



Dosen Pembimbing I

(Dr.Ir. Maftuch, MSi)
NIP. 131 994 338
Tanggal :

Dosen Pembimbing II

(Ir. M.Rasyid Fadholi, MSi)
NIP. 130 819 394
Tanggal :

Mengetahui,
Ketua Jurusan

(Ir. Maheno Sri Widodo, MS)
NIP.131 471 522
Tanggal :

RINGKASAN

ENDARTI. Pengaruh Pemberian Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Sebagai Immunostimulan Terhadap Hematologi Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Setelah Uji Tantang Dengan Bakteri *Aeromonas hydrophila* (dibawah Bimbingan **Dr. Ir. MAFTUCH, M.Si** dan **Ir. M.Rasyid Fadholi, MSi**)

Jintan hitam (*Nigella sativa*) merupakan salah satu bahan potensial yang dapat digunakan sebagai imunostimulan karena bahan aktifnya mampu meningkatkan sistem kekebalan tubuh dalam menghadapi patogen. Jintan hitam mengandung beberapa bahan aktif diantaranya: *Thymoquinone* (TQ), *Dithymoquinone* (DTQ), *Thymohidriquinone* (THQ), dan *Thymol* (THY) (Hendrik, 2006).

Pemberian imunostimulan merupakan salah satu cara alternatif yang dapat dilakukan untuk meningkatkan kekebalan tubuh ikan lele khususnya meningkatkan sel darah putih dan pembentukan antibodi sebagai respon perlindungan tubuh yang nonspesifik, sehingga ikan lele dapat terhindar dari serangan infeksi oleh bakteri. Penanganan penyakit pada ikan lele masih banyak menggunakan bahan kimia. Penggunaan bahan nabati yang lebih ramah lingkungan untuk imunostimulan saat ini masih belum banyak digunakan.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) terhadap respon imun nonspesifik ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) dan untuk mengetahui konsentrasi terbaik pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) sebagai imunostimulan. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang pada bulan Desember 2008 - Maret 2009.

Metode yang digunakan adalah metode eksperimen dengan pengambilan data dilakukan secara pengamatan langsung. Data yang diperoleh dianalisa menggunakan uji keragaman dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan yang digunakan adalah pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dengan konsentrasi yang berbeda yaitu perlakuan K (konsentrasi 0 %); A (konsentrasi 3 %); perlakuan B (konsentrasi 6 %); dan perlakuan C (konsentrasi 9 %), dilanjutkan uji tantang dengan 3 kali ulangan. Hasil penelitian didapatkan bahwa pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dengan konsentrasi berbeda memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap jumlah sel darah putih dan kelulushidupan ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) pada saat penelitian.

Tingkat kelulushidupan (SR) yang diperoleh pada perlakuan A dengan konsentrasi pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) sebesar 3 % didapatkan hasilnya rata-rata sebesar 66.19%, untuk perlakuan B (6 %) didapat persentase rata-rata sebesar 73.10 %, pada perlakuan C (9 %) didapatkan persentase rata-ratanya 83.10 % dan pada perlakuan K (0%) didapatkan persentase rata-rata sebesar 47.41 %.

Pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap kandungan leukosit dalam tubuh ikan lele dumbo, hal ini ditunjukkan dengan nilai F hitung (17.00) yang lebih besar dari F 5% (4.07) dan F 1% (7.59). Perhitungan analisis sidik ragam yang didapatkan berupa hasil analisis grafik berpola linier dengan persamaan $Y = 320611x + 68357$ dengan $R^2 = 0,9914$ artinya, 99 % kenaikan jumlah total leukosit pada media pemeliharaan dipengaruhi oleh pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) yang diberikan, sedangkan sisanya 1 % dipengaruhi oleh faktor lain.

Untuk kandungan neutrofil yang dimiliki menunjukkan bahwa perlakuan C (konsentrasi 9 %) memiliki jumlah neutrofil yang tertinggi yaitu rata-rata 37.86% dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Untuk kandungan limfosit yang dimiliki menunjukkan bahwa perlakuan C (konsentrasi 9 %) memiliki jumlah limfosit yang tertinggi yaitu rata-rata 48.06% dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Untuk kandungan monosit yang dimiliki menunjukkan bahwa perlakuan C (konsentrasi 9 %) memiliki jumlah monosit yang tertinggi yaitu rata-rata 13.76% dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hasil analisa sidik ragam diperoleh bahwa jumlah neutrofil, limfosit dan monosit dari masing-masing perlakuan dalam penelitian berbeda sangat nyata.

Untuk kandungan hemoglobin yang dimiliki menunjukkan bahwa perlakuan C (konsentrasi 9 %) memiliki jumlah hemoglobin yang tertinggi yaitu rata-rata 6.62 g/dl dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Untuk kandungan eritrosit yang dimiliki menunjukkan bahwa perlakuan C (konsentrasi 9 %) memiliki jumlah eritrosit yang tertinggi yaitu rata-rata $6.22 \times 10^6/\text{mm}^3$ dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Untuk kandungan hematokrit yang dimiliki menunjukkan bahwa perlakuan C (konsentrasi 9 %) memiliki jumlah hematokrit yang tertinggi yaitu rata-rata 27.79% dibandingkan dengan perlakuan lainnya, sedangkan jumlah hematokrit terkecil pada perlakuan K (konsentrasi 0 %). Dari analisa sidik ragam diperoleh bahwa jumlah hemoglobin, eritrosit dan hematokrit dari masing-masing perlakuan dalam penelitian berbeda sangat nyata. Kandungan hemoglobin, eritrosit dan hematokrit mengalami penurunan setelah pasca perlakuan.

Kualitas air media pemeliharaan selama pengamatan berlangsung suhu air berkisar antara 24.30-24.80^o C, untuk DO (*Disolved oxygen*) berkisar antara 5.89-7,1 mg/l, sedangkan untuk pH air berkisar antara 7.04-7.68. Hasil pengukuran kualitas air yang meliputi suhu, DO (oksigen terlarut), dan pH selama penelitian menunjukkan nilai yang tidak berbeda nyata. Hal ini menunjukkan bahwa pada perlakuan yang berbeda dengan beberapa kali ulangan tidak memberikan pengaruh yang berbeda terhadap kualitas air media. Sehingga dapat dikatakan bahwa nilai kualitas air selama perlakuan adalah homogen.

Untuk meningkatkan respon imun nonspesifik ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) dalam melawan bakteri khususnya *Aeromonas hydrophila* sebaiknya digunakan konsentrasi ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) sebesar 9 %.

KATA PENGANTAR

Puji dan Syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT atas Rahmat, Berkat dan hidayah-Nya sehingga dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini. Laporan ini disusun berdasarkan hasil penelitian dengan judul **“Pengaruh Pemberian Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) sebagai Immunostimulan Terhadap Hematologi Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Setelah Uji Tantang Dengan Bakteri *Aeromonas hydrophila*”**.

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. Ir. Maftuch, MSi selaku dosen pembimbing I yang telah memberikan bimbingan, masukan dan semangat kepada penulis
2. Ir. M.Rasyid Fadholi, MSi selaku dosen pembimbing II yang banyak memberikan masukan bagi penulis dalam menyelesaikan laporan ini
3. Ir. Heny Suprastyani, MS dan Ir. Ellana Sanoesi, MP selaku dosen penguji
4. Ibunda dan keluarga tercinta, atas dorongan yang kuat, kebijaksanaan, kasih sayang dan do'anya selama ini.
5. Rekan-rekan yang telah memberikan bantuan, semangat serta ikut berperan dalam memperlancar penelitian dan penulisan ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan laporan ini masih banyak kekurangan. Oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran dari pembaca, semoga laporan ini dapat bermanfaat.

Malang, Juli 2009

Penulis

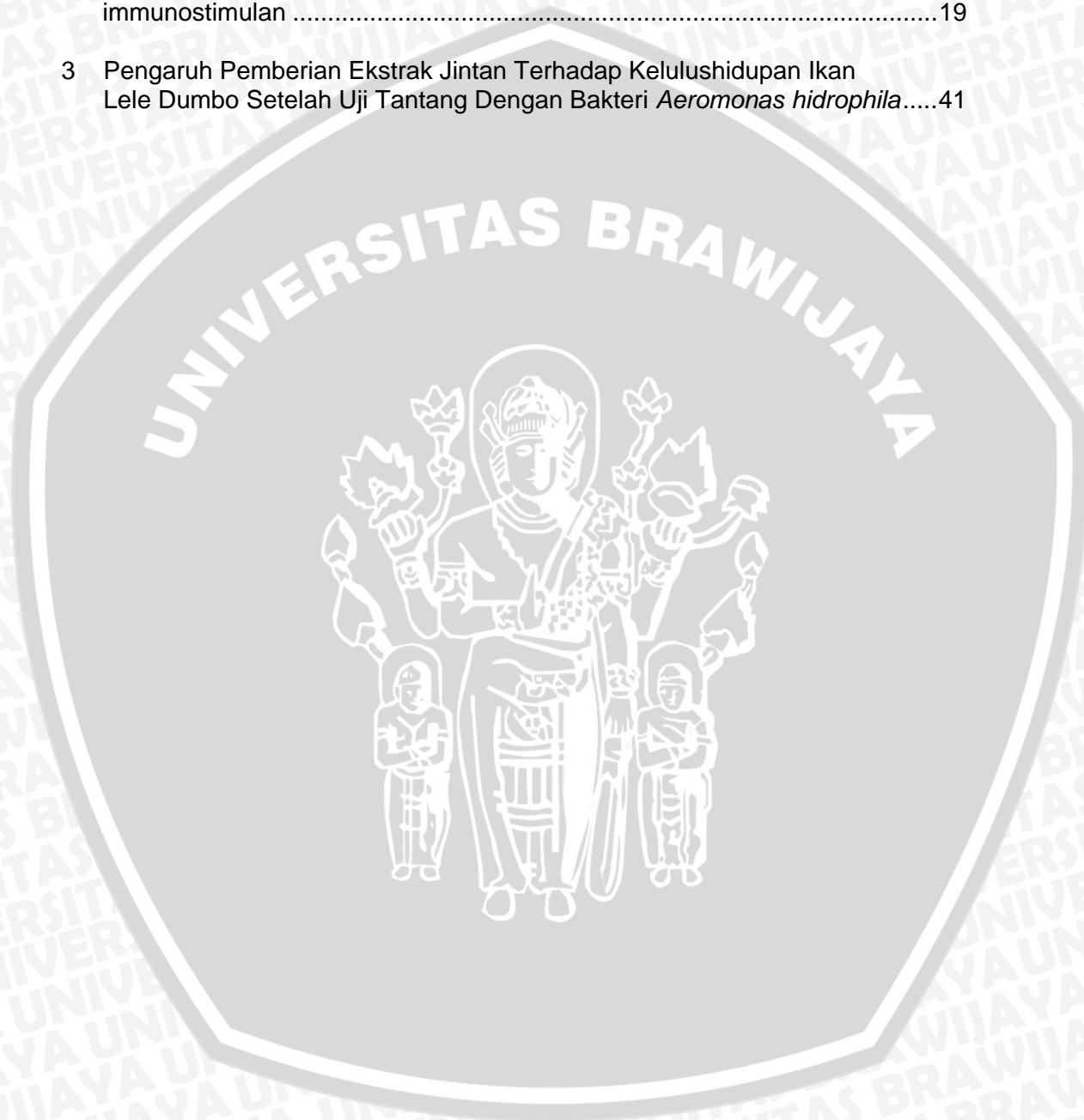
DAFTAR ISI

RINGKASAN	i
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Kegunaan Penelitian	4
1.5 Hipotesis.....	4
1.6 Tempat Dan Waktu.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Ikan Lele Dumbo (<i>Clarias gariepinus</i>)	5
2.1.1 Klasifikasi Ikan Lele Dumbo (<i>Clarias gariepinus</i>)	5
2.1.2 Asal Usul Ikan Lele Dumbo (<i>Clarias gariepinus</i>)	5
2.1.3 Ciri Morfologi Ikan Lele Dumbo (<i>Clarias gariepinus</i>)	6
2.1.5 Habitat Ikan Lele Dumbo (<i>Clarias gariepinus</i>).....	7
2.1.6 Kebiasaan Makan	7
2.1.7 Penyakit.....	8
2.2. Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	8
2.2.1 Klasifikasi Dan Morfologi	8
2.2.2 Habitat Dan Penyebaran	10
2.2.3 Pertumbuhan Dan Perkembangbiakan	10
2.2.4 Infeksi Dan Tanda -Tanda Penyerangan.....	11
2.3 Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i>)	13
2.3.1 Klasifikasi Dan Morfologi Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i>).....	13
2.3.2 Habitat dan Daerah Penyebaran	14
2.3.3 Komposisi Ekstrak Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i>)	15
2.3.4 Manfaat Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i>)	16
2.4 Immunostimulan	18
2.5 Sistem Immun Ikan.....	20
2.6 Hematologi Ikan.....	20
2.6.1 Sel Darah Merah (Eritrosit)	22
2.6.2 Sel Darah Putih (Leukosit).....	23
2.6.3 Diferensial Leukosit	24
2.6.4 Nilai Hematokrit	26
2.6.5 Hemoglobin/Hb.....	26
III. METODELOGI PENELITIAN	27
3.1 Materi Penelitian.....	27
3.1.1 Bahan-Bahan Penelitian.....	27
3.1.2 Alat-Alat Penelitian	27
3.2 Metode Penelitian Dan Rancangan Percobaan	27
3.2.1 Metode Penelitian.....	27
3.2.2 Rancangan Percobaan.....	28
3.3 Pelaksanaan Parameter Utama	29

3.3.1	Persiapan Hewan Uji	29
3.3.2	Prosedur Bakteri.....	30
3.3.2.1	Sterilisasi Alat Dan Bahan	30
3.3.2.2	Pembuatan Media.....	31
3.3.2.3	Pembiakan Murni Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	32
3.3.3	Pembuatan ekstrak Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i>)	32
3.3.4	Penentuan Kepadatan Bakteri untuk Uji Tantang	33
3.3.5	Uji Hematologi Ikan Lele Dumbo (<i>Clarias gariepinus</i>)	33
3.4	Parameter Penunjang.....	39
3.5	Analisis Data.....	40
IV.	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	41
4.1	Penentuan Kepadatan Bakteri Untuk Uji Tantang	41
4.2	Kelulushidupan Ikan Lele Dumbo (<i>Clarias gariepinus</i>) Setelah Uji Tantang Dengan Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	41
4.3	Jumlah Total Leukosit Ikan Lele dumbo (<i>Clarias griepinus</i>) Sebelum Dan Sesudah Uji Tantang Dengan Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	43
4.4	Diferensial Leukosit Ikan Lele dumbo (<i>Clarias griepinus</i>) Sebelum Dan Sesudah Uji Tantang Dengan Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	45
4.4.1	Neutrofil	45
4.4.2	Limposit	48
4.4.3	Monosit	50
4.5	Hemoglobin Ikan Lele dumbo (<i>Clarias griepinus</i>) Sebelum Dan Sesudah Uji Tantang Dengan Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	53
4.6	Eritrosit Ikan Lele dumbo (<i>Clarias griepinus</i>) Sebelum Dan Sesudah Uji Tantang Dengan Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	55
4.7	Hematokrit Ikan Lele dumbo (<i>Clarias griepinus</i>) Sebelum Dan Sesudah Uji Tantang Dengan Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	57
4.8	Pengamatan Kualitas Air.....	59
V.	KESIMPULAN DAN SARAN	60
5.1	Kesimpulan.....	60
5.2	Saran	60
VII.	DAFTAR PUSTAKA	61
LAMPIRAN	70

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1 Ringkasan kelebihan dan kekurangan dari tiga metode pemberian imunostimulan	19
3 Pengaruh Pemberian Ekstrak Jintan Terhadap Kelulushidupan Ikan Lele Dumbo Setelah Uji Tantang Dengan Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	41



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Lele Dumbo (<i>Clarias gariepinus</i>)	6
2. Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	9
3. Morfologi infeksi <i>Aeromonas hydrophila</i> pada ikan	12
4. Biji Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i>)	14
5. Struktur Kimia Dari Kandungan Utama Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i>).....	15
6. Sel darah merah ikan Rainbow trout (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) Mikroskop Cahaya 1000 x	23
7. Limfosit ikan Rainbow trout (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) Mikroskop Cahaya 1000 x	24
8. Monosit Rainbow trout (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) Mikroskop Cahaya 1000 x Darah	25
9. Neutrofil ikan Rainbow trout (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) Mikroskop Cahaya 1000 x	26
10. Denah Percobaan	29
11. Teknik Pengambilan Darah	34
12. Pengaruh Pemberian Ekstrak Jintan Terhadap Jumlah Total Leukosit Ikan Lele Dumbo Setelah Uji Tantang Dengan Bakteri <i>Aeromonas hidrophila</i>	43
13. Pengaruh Pemberian Ekstrak Jintan Terhadap Jumlah Neutrofil Ikan Lele Dumbo Setelah Uji Tantang Dengan Bakteri <i>Aeromonas hidrophila</i>	46
14. Pengaruh Pemberian Ekstrak Jintan Terhadap Jumlah Limfosit Ikan Lele Dumbo Setelah Uji Tantang Dengan Bakteri <i>Aeromonas hidrophila</i>	48
15. Pengaruh Pemberian Ekstrak Jintan Terhadap Jumlah Monosit Ikan Lele Dumbo Setelah Uji Tantang Dengan Bakteri <i>Aeromonas hidrophila</i>	51
16. Pengaruh Pemberian Ekstrak Jintan Terhadap Jumlah Hemoglobin Ikan Lele Dumbo Setelah Uji Tantang Dengan Bakteri <i>Aeromonas hidrophila</i>	53
17. Pengaruh Pemberian Ekstrak Jintan Terhadap Jumlah Eritrosit Ikan Lele Dumbo Setelah Uji Tantang Dengan Bakteri <i>Aeromonas hidrophila</i>	55
18. Pengaruh Pemberian Ekstrak Jintan Terhadap Jumlah Hematokrit Ikan Lele Dumbo Setelah Uji Tantang Dengan Bakteri <i>Aeromonas hidrophila</i>	58

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1 Hasil Perhitungan Kelulushidupan Ikan Lele Dumbo (<i>Clarias gariepinus</i>) Setelah Uji Tantang Dengan Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	70
2 Hasil Perhitungan Jumlah Total Leukorsit Ikan Lele Dumbo (<i>Clarias gariepinus</i>) Setelah Uji Tantang Dengan Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	73
3 Hasil Perhitungan Neutrofil Ikan Lele Dumbo (<i>Clarias gariepinus</i>) Setelah Uji Tantang Dengan Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	76
4 Hasil Perhitungan Limposit Ikan Lele Dumbo (<i>Clarias gariepinus</i>) Setelah Uji Tantang Dengan Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	79
5 Hasil Perhitungan Monosit Ikan Lele Dumbo (<i>Clarias gariepinus</i>) Setelah Uji Tantang Dengan Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	82
6 Hasil Perhitungan Hemoglobin Ikan Lele Dumbo (<i>Clarias gariepinus</i>) Setelah Uji Tantang Dengan Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	85
7 Hasil Perhitungan Eritrosit Ikan Lele Dumbo (<i>Clarias gariepinus</i>) Setelah Uji Tantang Dengan Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	88
8 Hasil Perhitungan Hematokrit Ikan Lele Dumbo (<i>Clarias gariepinus</i>) Setelah Uji Tantang Dengan Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	91
9 Data Hasil Perhitungan Dan Pengamatan Kualitas Air	94

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ikan tidak hanya digemari oleh semua lapisan masyarakat, tetapi juga sebagai sumber protein hewani yang relatif murah. Kebutuhan ikan terus meningkat sejalan dengan meningkatnya jumlah penduduk, tingkat pendidikan dan pendapatan serta perubahan sosial budaya masyarakat. Jenis ikan air tawar yang mempunyai prospek masa depan yang cerah untuk dibudidayakan adalah ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*), karena jenis ikan ini mempunyai kelebihan dan keunggulan yang khas bila dibandingkan dengan ikan air tawar lainnya (Soetomo, 1987).

Keberhasilan suatu usaha perikanan dapat tercapai jika faktor-faktor pendukungnya terpenuhi dengan baik. Salah satu faktor yang menentukan keberhasilan usaha tersebut adalah pengendalian terhadap penyakit. Ikan atau organisme air akan terhindar dari penyakit jika interaksi antara ikan (benih), pakan dan lingkungan terjalin dengan baik. Ikan yang sehat memiliki sistem pertahanan alami yang mampu mengatasi serangan penyakit. Oleh karena itu, selama kondisi tubuh ikan tetap baik, aktivitas berbagai penyakit yang menempel pada tubuh ikan tidak akan mampu menyebabkan timbulnya penyakit (Febriani, 2004).

Penyakit merupakan salah satu kendala dalam keberhasilan produksi. Penyakit pada ikan dan udang diklasifikasikan dalam dua kelompok, yaitu penyakit non infeksi dan penyakit infeksi. Penyakit non infeksi yaitu penyakit yang disebabkan oleh gangguan non patogen seperti nutrisi, kualitas air, racun dan penanganan. Sedangkan penyakit infeksi adalah penyakit yang disebabkan oleh organisme patogen seperti parasit, jamur, bakteri dan virus, sehingga dapat

menular dari satu inang ke inang yang lain (Murdjani, Nur'aini dan Triastutik., 2003).

Bakteri *Aeromonas hydrophila* dapat menyebabkan kematian masal pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) (Susanto, 1988). Salah satu penanganan penyakit pada budidaya ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) adalah menggunakan antibiotik (Mahyuddin, 2008). Penggunaan antibiotik sebagai agen terapi pengobatan memang telah banyak membantu, namun ternyata juga menimbulkan ekkses yang negatif, diantaranya yang paling berbahaya adalah timbulnya jenis penyakit baru yang bersifat kebal terhadap pengobatan konvensional, selain itu antibiotik juga tidak efektif digunakan untuk penyakit yang disebabkan oleh virus (Ellis, 1988).

Alternatif lain penanganan penyakit adalah menggunakan immunostimulan. Immunostimulan adalah zat kimia, obat-obatan, stresor, atau aksi yang meningkatkan respon imun non-spesifik atau bawaan (*innate immune respon*) yang berinteraksi secara langsung dengan sel dari sistem yang mengaktifkan respon imun bawaan tersebut. Immunostimulan adalah zat-zat yang dapat meningkatkan daya tahan tubuh terhadap infeksi penyakit, bukan meningkatkan respon imun spesifik (*acquired immune respon*), tetapi meningkatkan respon imun non-spesifik baik melalui mekanisme pertahanan humoral maupun pertahanan selular (Sakai, 1999). Ikan telah diketahui lebih mengandalkan mekanisme sistem kekebalan non-spesifiknya atau bawaan (*innate immune system*) daripada sistem kekebalan spesifiknya atau adaptif (Anderson, 1992).

Secara umum dijelaskan oleh Galindo dan Hosokawa (2004) ada 10 kelompok immunostimulan yaitu produk bakteri, jamur, ragi atau khamir, ikatan partikel terlarut dengan β -glukan, glikan-polisakarida, kitin dan sitosan, peptida, ekstrak tumbuhan dan hewan, bahan sintesis dan sitokin.

Jintan hitam (*Nigella sativa*) merupakan salah satu bahan potensial yang dapat digunakan sebagai immunostimulan karena bahan aktifnya mampu meningkatkan sistem kekebalan tubuh dalam menghadapi patogen. Jintan hitam mengandung beberapa bahan aktif diantaranya: *Thymoquinone* (TQ), *Dithymoquinone* (DTQ), *Thymohidriquinone* (THQ), dan *Thymol* (THY) (Salem, 2005). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan secara in vitro, ternyata ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dapat menghambat atau bahkan dapat membunuh bakteri *Aeromonas hydrophila* (Tumar, 2006). Ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dapat merangsang dan memperkuat sistem kekebalan tubuh manusia melalui peningkatan jumlah, mutu, dan aktivitas sel-sel kekebalan tubuh manusia (Hendrik, 2007).

El-Kadi dan Kandil (1986) telah mengadakan survei tentang pengaruh jintan hitam (*Nigella sativa*) terhadap sistem kekebalan dalam tubuh manusia. Melalui riset ini diperoleh kesimpulan bahwa ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) berpengaruh menguatkan fungsi kekebalan, dimana kadar sel-sel T pembantu meningkat dibandingkan sel-sel T penekan dengan perbandingan rata-rata 72% serta terjadi peningkatan aktivitas sel-sel pembunuh alami rata-rata 75%.

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian tersebut diatas maka telah dilakukan penelitian untuk menjawab permasalahan sebagai berikut :

1. Apakah pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dapat meningkatkan respon imun nonspesifik ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) setelah uji tantang dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*?
2. Berapa konsentrasi terbaik pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) untuk meningkatkan respon imun nonspesifik ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) setelah uji tantang dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui :

1. Pengaruh pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) terhadap respon imun nonspesifik ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) setelah uji tantang dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*
2. Konsentrasi terbaik pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) untuk meningkatkan respon imun nonspesifik ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) setelah uji tantang dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*

1.4 Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat sebagai upaya pemanfaatan ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) sebagai bahan alternatif yang ramah lingkungan untuk meningkatkan respon imun nonspesifik ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*.

1.5 Hipotesis

- H₀ : Diduga bahwa pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) tidak dapat meningkatkan respon imun nonspesifik ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) setelah uji tantang dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*
- H₁ : Diduga bahwa pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dapat meningkatkan respon imun nonspesifik ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) setelah uji tantang dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang pada bulan Desember 2008 – Maret 2009

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*)

2.1.1 Klasifikasi Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*)

Menurut Rustidja (1997), ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) mempunyai klasifikasi sebagai berikut :

Kingdom	: Animalia
Sub kingdom	: Metazoa
Phyllum	: Chordata
Sub phyllum	: Vertebrata
Class	: Pisces
Sub class	: Teleostei
Ordo	: Ostariophysoidei
Sub ordo	: Siluroidea
Family	: Claridae
Genus	: Clarias
Spesies	: <i>Clarias gariepinus</i>

2.1.2 Asal Usul Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*)

Ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) dikenal sebagai *African catfish* yang diintroduksi secara besar-besaran ke berbagai belahan dunia. Diduga, ketika masih mendiami daerah asal-usulnya (wilayah utara dari Afrika) dan sebelum menjelajahi wilayah lain di dunia ini, ikan lele dumbo berkelana mengikuti aliran sungai dan akhirnya menyebar luas ke seluruh benua Afrika. Daerah penjelajahannya membentang dari sungai Nil sampai wilayah barat Afrika, dari Aljazair sampai wilayah Selatan Afrika, dan juga wilayah Asia kecil (Israel, Suria,

dan Turki Selatan). Ikan lele dumbo diintroduksi ke Eropa, Timur tengah, Asia dan akhirnya masuk ke Indonesia (Yuniar dan Tim Agriminakultura, 2008).

2.1.3 Ciri Morfologi Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*)

Ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) memiliki bentuk badan yang memanjang, dan bentuk kepala pipih. Mempunyai 5 sirip yaitu sirip ekor, sirip punggung, sirip dada, sirip perut dan sirip dubur. Pada sirip dada jari-jari pertamanya mengeras yang berfungsi sebagai patil tetapi tetapi tidak beracun. Selain bernafas dengan insang, ikan lele juga mempunyai alat pernafasan tambahan yang terletak pada rongga insang bagian atas (Najiyati, 2007).

Ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) memiliki kulit tubuh yang licin, berlendir dan tidak bersisik. Mulut lele dumbo (*Clarias gariepinus*) relatif lebar, yaitu sekitar $\frac{1}{4}$ dari panjang total tubuhnya. Ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) memiliki kumis di sekitar mulut sebanyak 8 buah yang berfungsi sebagai alat peraba saat bergerak atau mencari makan (Khairuman dan Amri, 2006). Ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) memiliki sirip ekor yang membulat dan tidak bergabung dengan sirip punggung maupun sirip anal. Sirip ekor berfungsi untuk bergerak maju (Mahyuddin, 2008). Morfologi ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) (Anonymous, 2008)

2.1.4 Habitat Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*)

Lingkungan hidup ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) adalah semua perairan air tawar. Ikan lele hidup di sungai yang airnya tidak terlalu deras atau di perairan yang tenang seperti danau, rawa, waduk, telaga, serta genangan-genangan kecil seperti kolam (Suyanto, 2006). Pada dasarnya ikan lele adalah ikan rawa dan ikan sungai yang hidup bebas serta buas sebagai binatang malam. Ikan lele senang hidup dalam keadaan airnya agak tenang dan kedalamannya cukup (Soetomo, 1987).

Ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) hidup dengan baik di dataran rendah sampai daerah perbukitan yang tidak terlalu tinggi. Apabila suhu tempat hidupnya dingin, misalnya dibawah 20°C, pertumbuhannya agak lambat. Di daerah Pegunungan dengan ketinggian di atas 700 meter, pertumbuhan ikan lele kurang baik (Suyanto, 2006). Kondisi yang ideal bagi ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) adalah air yang mempunyai pH 6,5-8, bersuhu 20-30°C, kandungan oksigen yang terlarut di dalam air minimal sebanyak 3 ppm (Khairuman, 2006).

2.1.5 Kebiasaan Makan

Ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) mempunyai kebiasaan makan di dasar perairan atau kolam (*bottom feeder*) (Mahyuddin, 2008). Berdasarkan jenis pakannya ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) termasuk jenis ikan pemakan segala atau omnivora. Di habitat aslinya, lele memakan binatang-binatang renik, seperti kutu-kutu air (*daphnia, copepoda*), cacing-cacingan, larva (jentik-jentik serangga), dan siput-siput kecil. Ikan lele juga makan sisa-sisa benda yang membusuk dan kotoran manusia sedangkan tumbuh-tumbuhan kurang disenangi. Bila makanan yang diberikan banyak mengandung protein nabati maka pertumbuhannya akan lambat (Suyanto, 2006).

2.1.6 Penyakit

Jenis penyakit yang sering menyerang ikan lele dumbbo (*Clarias gariepinus*) adalah penyakit parasitik yang disebabkan oleh protozoa, bakteri dan virus. Penyakit parasitik juga dikenal dengan penyakit infeksi karena menimbulkan luka pada ikan yang terserang. Sebaliknya penyakit non parasitik tidak menimbulkan luka pada ikan yang terserang sehingga disebut penyakit non- infeksi (Puspowardoyo, 2002).

Jenis bakteri penyebab timbulnya penyakit pada ikan lele dumbbo (*Clarias gariepinus*) diantaranya disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*. Gejala serangan penyakit ini adalah adanya bintik merah di seluruh permukaan tubuh ikan, perut mengembung, sirip ekor geripis, sirip punggung dan sirip dada berdarah. Faktor-faktor utama penyebab serangan penyakit bakteri adalah fluktuasi suhu air dan pencemaran bahan organik dalam air pemeliharaan (Puspowardoyo, 2002).

2.2 Bakteri *Aeromonas hydrophila*

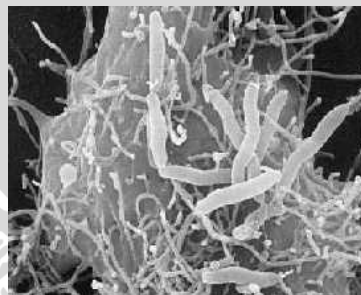
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi bakteri *Aeromonas hydrophila* menurut Buchanan dan Gibbons (1974) adalah sebagai berikut :

Divisio	: Protophyta
Class	: Schizomycetes
Ordo	: Pseudomadales
Sub Ordo	: Pseudomonadinae
Family	: Vibrionaceae
Genus	: <i>Aeromonas</i>
Spesies	: <i>Aeromonas hydrophila</i>

Aeromonas hydrophila adalah jenis bakteri yang bersifat metropolitan,

oksidatif, anaerob fakultatif, dapat memfermentasi gula, gram negatif, tidak membentuk spora, bentuk akar, dan merupakan penghuni asli lingkungan perairan. Bakteri ini ditemukan di air payau, air tawar, muara, dan lautan, dengan jumlah terbanyak ditemukan pada musim hangat. Upaya isolasi *Aeromonas* pada penyakit yang menyerang hewan berdarah panas dan berdarah dingin telah dilakukan lebih dari 100 tahun yang lalu, sedangkan isolasi dari manusia dilakukan sejak awal tahun 1950-an (Hayes, 2000). Morfologi bakteri *Aeromonas hydrophila* disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Bakteri *Aeromonas hydrophila* (Hayes, 2000)

Bakteri adalah organisme bersel satu, berkembangbiak dengan membelah diri dan hanya dapat dilihat dengan mikroskop karena ukurannya yang sangat kecil. Berdasarkan bentuknya, bakteri dapat dibagi menjadi tiga yaitu kokus (bulat), basil (silinder atau batang), dan spiral (batang melengkung atau melingkar) (Dzen dan Roekistiningsih, 2003). Bakteri merupakan mikroorganisme dengan struktur intraseluler yang sederhana. Ciri-ciri bakteri adalah sifatnya yang dapat tumbuh dan bertambah banyak dalam kelompok, berbentuk rantai atau benang, memiliki koloni yang berwarna dan berkilau atau tidak, halus atau kasar, metabolisme aerob atau anaerob dan membutuhkan media tertentu untuk mengkultur disertai dengan menghasilkan asam atau gas (Volk dan Wheeler, 1993).

Bakteri yang tergolong dalam genus *Aeromonas* terdiri dari 3 spesies utama yang bersifat patogen terhadap hewan air yaitu *Aeromonas hydrophila*,

Aeromonas punctata, dan *Aeromonas liquafaciens*. Bakteri *Aeromonas spp.* dapat diisolasi dari kulit ikan yang terluka atau dari insang (Prajitno, 2007).

2.2.2 Habitat dan Penyebaran

Bakteri *Aeromonas hydrophila* merupakan salah satu spesies bakteri yang hidup di lingkungan perairan tawar dan perairan payau. Perairan yang mengandung bahan organik tinggi dan bersuhu 15 °C – 30 °C serta tingkat pH 5,5 – 9 menjadi tempat yang ideal bagi perkembangan dan pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila* (Afrianto dan Liviawati, 1998).

Penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila* yaitu *haemorrhagic septicaemia*, ini lebih banyak menyerang ikan di daerah tropis dibandingkan dengan daerah dingin, karena daerah tropis dan daerah sub tropis kandungan bahan organiknya lebih tinggi dibandingkan dengan daerah dingin. *Aeromonas* banyak ditemukan pada insang, kulit, ginjal, hati, dan jantung (Prajitno, 2007).

2.2.3 Pertumbuhan dan Perkembangbiakan

Bakteri *Aeromonas* merupakan bakteri fakultatif anaerob, yaitu bakteri yang dapat berkembang dalam keadaan dengan atau tanpa oksigen, meskipun perkembangannya lebih cepat pada lingkungan yang ada oksigen. Bakteri fakultatif anaerob akan tersebar di seluruh medium cair, bersifat heterotropik, yaitu mampu mengoksidasi bermacam-macam persenyawaan organik sebagai sumber karbon (Prajitno, 2007).

Pertumbuhan maksimal bakteri pada kisaran suhu 24-41°C sedang pertumbuhan minimum bakteri pada suhu 0°C-5°C. Bakteri akan tumbuh dengan baik pada pH 5,5-9,0. Pemiakan bakteri ini secara aseksual, yaitu berkembangbiak dengan memanjangkan sel yang diikuti dengan pembelahan inti

yang disebut pembelahan biner. Waktu yang diperlukan untuk pembelahan satu sel menjadi dua sel kurang lebih 10 menit (Prajitno, 2007). Medium yang biasa dipakai untuk menumbuhkan bakteri adalah TSA (Tryptone Soy Agar), bakteri akan tampak pada media TSA yang disimpan dalam inkubator dengan suhu 20-35 °C dan akan memberikan warna cokelat yang khas setelah inkubasi selama 48 jam (Bullock, Conroy and Sniezko. 1971).

Menurut Dwidjoseputro (1998) bakteri mempunyai lima fase pembiakan, yaitu :

- a. Fase adaptasi adalah fase dimana bakteri selama 1-2 jam setelah pemindahan belum mengadakan pembiakan.
- b. Fase pembiakan cepat, dimana pembiakan atau pertumbuhan bakteri berlangsung paling cepat.
- c. Fase pembiakan diperlambat, dimana kecepatan pembiakan bakteri mulai berkurang. Pada fase ini tampak sekali adanya penyusutan jumlah sel-sel yang segar. Hal ini dapat disebabkan karena faktor-faktor lingkungan seperti perubahan pH, keadaan medium yang memburuk atau menimbunnya zat kotoran
- d. Fase konstan, dimana jumlah bakteri yang berkembangbiak sama dengan jumlah bakteri yang mati.
- e. Fase kematian, pada fase ini jumlah bakteri yang mati semakin banyak dan makin melebihi jumlah bakteri yang membelah diri.

2.2.4 Infeksi dan Tanda – Tanda Penyerangan

Aeromonas hydrophila telah dihubungkan dengan beberapa penyakit pada ikan, termasuk busuk ekor, busuk sirip, dan *haemorrhagic septicaemia*. *Haemorrhagic septicaemia* ditandai oleh adanya luka kecil pada permukaan, sering mengarah pada pengelupasan sisik, pendarahan pada insang dan dubur,

borok, bisul, exophthalmia (mata membesar), dan pembengkakan perut (Miyazaki dan Jo, 1985). Infeksi dan tanda-tanda penyerangan bakteri *Aeromonas hydrophila* disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Morfologi infeksi *Aeromonas hydrophila* pada ikan (tanda panah) (Cipriano dan Rocco, 2001).

Menurut White (1991), tanda-tanda ikan yang terserang *Aeromonas hydrophila* sebagai berikut :

- Warna tubuh berubah menjadi agak gelap
- Kulitnya menjadi kasar dan timbul pendarahan yang selanjutnya akan menjadi borok (*haemorrhagic*)
- Kemampuan berenang menurun dan sering berenang di permukaan air karena insangnya rusak sehingga sulit bernafas.
- Sering terjadi pendarahan pada organ bagian dalam seperti hati, ginjal maupun limfa.
- Seluruh siripnya rusak dan insangnya berwarna keputih-putihan

Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada umumnya menyebabkan infeksi pada seluruh tubuh ikan disertai pendarahan pada organ dalam tubuh ikan. Bakteri ini dapat menyebar secara cepat pada padat penebaran tinggi dan dapat mengakibatkan kematian benih sampai 90% (Prajitno, 2007). Infeksi bakteri dapat terjadi melalui permukaan tubuh yang luka, saluran pencernaan makanan atau melalui insang, kemudian masuk ke pembuluh darah dan menyebar pada

organ dalam lainnya yang menyebabkan pendarahan disertai *Haemorrhagic septicaemia* (Bullock et al., 1971).

2.3 Jintan hitam (*Nigella sativa*)

Jintan hitam (*Nigella sativa*) adalah salah satu tanaman obat yang termasuk dari pengobatan Nabi Muhammad SAW, berbentuk biji-bijian yang berwarna hitam yang telah dikenal 2000 tahun yang lalu dan digunakan secara luas oleh masyarakat India, Pakistan, Mesir dan negara-negara timur tengah lainnya untuk berbagai macam penyakit (Arif, 2005). Jintan hitam (*Nigella sativa*) banyak digunakan dalam pengobatan tradisional untuk menyembuhkan segala macam penyakit karena mampu membantu dan menjaga sistem pertahanan tubuh (Akhtar dan Riffat, 1991).

2.3.1 Klasifikasi Dan Morfologi Jintan Hitam (*Nigella sativa*)

Menurut Katzer (2006), klasifikasi dari jintan hitam (*Nigella sativa*) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Ranunculales
Family	: Ranunculaceae
Genus	: <i>Nigella</i>
Spesies	: <i>Nigella sativa</i>

Nama dari jintan hitam ini bermacam-macam penyebutannya antara lain Ajenuz, Black seed, Black cummin, Corekotu, Fennel flower, Habbatussauda', Jintan hitam, Kalaunji dan Tarate (Salomi, Nair dan Pannikar, 1991).

Jintan hitam (*Nigella sativa*) mempunyai bentuk bunga yang berwarna biru pucat, ungu atau putih yang terdapat pada ujung batang. Daunnya berukuran 6-10 cm dan terletak berpasangan pada setiap segmen batang (Meral, Donmez, dan Baydas. 2004). Pohon jintan hitam dapat mencapai tinggi 12-18 inchi pada saat buah jintan telah matang (Aviesiena, 2000).

Buah jintan hitam (*Nigella sativa*) berbentuk kerucut atau segitiga seperti kapsul, kecil dan hitam dengan ukuran panjang 2,5-4 mm, lebar 1,5-2 mm dan tebal 1 mm serta menyerupai beras hitam. Tumbuhan ini termasuk hermaphrodit karena mempunyai organ jantan dan betina (Aksoy, Turkey, Tuter dan Ustun. 2001). Biji jintan hitam (*Nigella sativa*) disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa*) (Wikipedia, 2006)

2.3.2 Habitat dan daerah Penyebaran

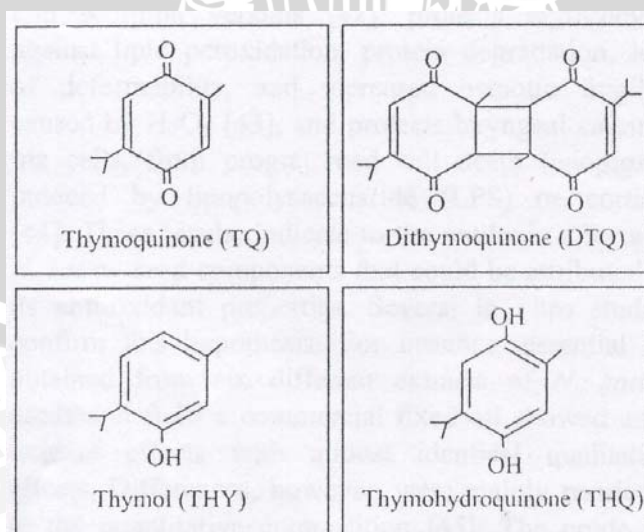
Jintan hitam (*Nigella sativa*) biasanya ditanam di kebun-kebun dan di daerah dataran rendah sampai ketinggian 1000 meter di atas permukaan laut. Tanaman jenis ini tumbuh di tempat-tempat yang tidak terlalu banyak terkena sinar matahari dan airnya cukup (tidak terlalu kering) (Yuniarti, 2008).

Jintan hitam (*Nigella sativa*) merupakan tanaman semak belukar yang tumbuh liar pada setiap musim di wilayah Laut Putih bagian tengah (Sulaiman, 2008).

Jintan hitam (*Nigella sativa*) banyak tumbuh di Mesir dan negara-negara sekitar Laut Tengah dan India. Selain itu tumbuhan ini juga terdapat di daerah Mediterania, Yunani, Eropa, Timur tengah dan Asia termasuk Indonesia (Al-Jassir, 1992). Tanaman ini tumbuh di Indonesia antara lain di daerah Sumatera, Jawa Barat dan Jawa Tengah (Makmuryanto, 2005).

2.3.3 Komposisi Jintan Hitam (*Nigella sativa*)

Komposisi zat-zat kimia (natural biochemical substance) yang terkandung dalam biji-biji jintan hitam (*Nigella sativa*) secara umum terdiri dari sekitar 40% minyak konstan (fatty oil content), 1,5 % minyak esensial (essential oil content), 15 asam amino (*alanine, arginine, isoleucine, lysine, tryptophane, thyroine, threonine, asparagine, cystine, glycine, glutamic acid, metionine, dan proline*), protein, ion kalsium (Ca^{2+}), zat besi (Fe^{2+}), ion sodium (Na^+), tannin, selenium, zinc dan potasium (K^+) (Hendrik, 2007). Sedangkan kandungan utama pada biji jintan hitam (*Nigella sativa*) adalah *Thymoquinone* (TQ), *Dithymoquinone* (DTQ), *Thymohidroquinone* (THQ), dan *Thymol* (THY) (Salem, 2005). Struktur kimia dari kandungan utama jintan hitam (*Nigella sativa*) disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Struktur kimia dari kandungan utama jintan hitam (*Nigella sativa*) (Salem, 2005)

Komposisi zat-zat kimia yang terkandung dalam biji-biji jintan hitam (*Nigella sativa*) yang berkhasiat sebagai antioksidan yaitu : Alanine, metionine, selenium, tannin, thymohidroquinone, thymoquinone, thymol dan dithymoquinone (Hendrik, 2007)

2.3.4 Manfaat Jintan Hitam (*Nigella sativa*)

Nabi Muhammad SAW pernah bersabda mengenai filosofi dasar dari ilmu kesehatan yaitu:

"Tidaklah Allah menurunkan suatu penyakit melainkan Allah juga menurunkan obatnya" (HR. Bukhari dan Ibnu Majah) (Kasule, 2000).

"Jintan hitam adalah obat bagi segala penyakit kecuali sam, dan sam adalah kematian" (HR. Bukhari, Muslim, Ibnu Majah dan Ahmad) (Sunardi, 2008)

Manfaat jintan hitam (*Nigella sativa*) sebagai obat segala macam penyakit juga diperkuat dengan beberapa hasil penelitian yang telah dilakukan diantaranya:

1. El-Fataty (1975), melaporkan bahwa fraksi fenol dan volatile oil dari ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dapat meningkatkan aktivitas sistem imun tubuh untuk membunuh kuman-kuman (bakteri) gram positif dan gram negatif.
2. Marwan (2004), terjadi pada persentase sel limposit yang terdapat pada Tikus wistar yang dipapar asap rokok kronis. Persentase sel limposit pada kelompok kontrol positif menurun dibandingkan dengan kontrol negatif. Selanjutnya pada semua kelompok yang mendapat ekstrak jintan hitam, persentase sel limposit mengalami peningkatan
3. Tissera, Srikanthi, and Serasinghe (1996), melaporkan bahwa pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) pada tikus dengan berat 150-200gr dengan dosis pemberian 1.07 ml/kg secara per oral, tidak menimbulkan tanda-tanda atau gejala-gejala yang menunjukkan terjadinya keracunan

tubuh secara akut (pada 2, 6, dan 24 jam pertama setelah pemberian jintan hitam (*Nigella sativa*)), baik adanya tanda-tanda berupa perubahan perilaku maupun perubahan nilai variabel pemeriksaan darahnya.

4. Hanafi dan Hatem (1991), melaporkan bahwa fraksi fenol dan volatile oil dari ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dapat menghambat dan menghentikan aktivitas dan kehidupan bakteri-bakteri gram positif (seperti bakteri *Staphylococcus aureus*) dan gram negatif (seperti *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*), dan menunjukkan efek sinergistik (saling memperkuat efektivitas) terhadap obat-obatan antibiotik lainnya seperti *chloramphenicol*, *ampicillin*, *lincomycine*, *doxycycline* dan *co-trimoxazole*

2.4 Immunostimulan

Immunostimulan merupakan sekelompok senyawa biologis dan sintesis yang dapat meningkatkan tanggapan kebal non-spesifik sehingga dapat dijadikan alternatif untuk penggunaan vaksin atau antibiotik dalam perlindungan terhadap serangan penyakit (Johnny dan Roza, 2004). Immunostimulan adalah senyawa kimia yang mengaktifkan sel darah putih (leukosit) dan membuat hewan mampu lebih resisten oleh infeksi virus, bakteri, fungi dan parasit (Raa, 2000). Dijelaskan pula bahwa sistem kekebalan non-spesifik ini memegang peran yang lebih banyak pada hewan tingkat rendah seperti ikan dan hewan air (Bellanti, Joseph, dan Kadlec, 1993).

Secara umum dijelaskan oleh Galindo dan Hosokawa (2004) ada 10 kelompok immunostimulan yaitu produk bakteri, jamur, ragi atau khamir, ikatan partikel terlarut dengan β -glukan, glikan-polisakarida, kitin dan sitosan, peptida, ekstrak tumbuhan dan hewan, bahan sintesis dan sitokinin.

Aplikasi immunostimulan lebih baik jika diberikan pada ikan muda karena sistem kekebalan tubuh non-spesifik terus berkembang, hal ini sesuai dengan

Mac Arthur dan Fletcher (1985) yang menyebutkan bahwa pada ikan-ikan muda sistem kekebalan non spesifik lebih menonjol karena organ-organ limfoid masih dalam perkembangan sehingga immunostimulan dapat dipergunakan sebagai alternatif pencegahan penyakit pada benih ikan kerapu macan selain vaksinasi. Dijelaskan pula bahwa sistem kekebalan non spesifik ini memegang peran yang lebih banyak pada hewan tingkat rendah seperti ikan dan beberapa hewan air lainnya.

Adapun mekanisme kerja immunostimulan dalam meningkatkan fungsi sel-sel fagositosis yaitu apabila immunostimulan masuk ke dalam tubuh maka immunostimulan akan merangsang makrofag untuk memproduksi interleukin yang akan menggiatkan sel limfosit yang kemudian membelah menjadi limfosit T dan limfosit B. Selanjutnya limfosit T akan memproduksi interferon yang mampu menggiatkan kembali makrofag, sehingga dapat memfagosit bakteri, virus, dan partikel asing lainnya yang masuk ke dalam tubuh (Jawetz, Melnik, dan Adelberg. 1980).

Menurut Bellanti (1993), mekanisme immunostimulan antara lain: (1) perpanjangan waktu paro antigen, (2) penarikan dan atau aktivasi sel-sel imun, (3) proliferasi dan atau diferensiasi sel-sel imun, dan (4) pengaturan jalur metabolik intrinsik sel-sel imun.

Kondisi pemeliharaan yang berbeda-beda telah memberikan cara yang berbeda dalam penerapan immunostimulan. Metode dasar yang digunakan adalah melalui penyuntikan, perendaman dan oral. Metode penyuntikan dan perendaman cocok hanya pada kondisi pemeliharaan yang intensif, metode ini membutuhkan penanganan ekstra terhadap ikan. Tetapi cara ini membutuhkan tenaga yang lebih besar, makan waktu dan menjadi tidak praktis ketika berat ikan kurang dari 15 gr. Pemberian immunostimulan melalui oral, adalah metode yang paling ekonomis, cocok untuk diterapkan pada budidaya ekstensif, dalam

pelaksanaannya tidak menimbulkan stres pada ikan dan memungkinkan pelaksanaan secara masal berkenaan dengan ukuran ikan. Perbedaan antara ketiga metode ini disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Ringkasan kelebihan dan kekurangan dari tiga metode pemberian imunostimulan*

Metode	Kelebihan	Kekurangan
Penyuntikan	Cara imunostimulan paling manjur. Paling hemat untuk ikan besar.	Sangat berguna untuk pemeliharaan intensif. Butuh kerja lebih. Potensi ikan untuk stres tinggi (ketika dibius atau penanganan). Berat ikan harus >10-15gr.
Perendaman	Memungkinkan untuk imunostimulan ikan kecil (<5g). Metode paling ekonomis, pelaksanaan perendaman non-stressing.	Cocok untuk intensif akuakultur. Keampuhan dibawah metode injeksi. Pengangkatan dari bak perendaman berpotensi menimbulkan stres.
Oral	Satu-satunya cara yang tidak berpotensi menimbulkan stres. Memungkinkan untuk digunakan pada imunostimulasi masal untuk ikan ukuran berapapun. Tidak membutuhkan banyak tenaga dan biaya.	Keampuhan rendah. Membutuhkan banyak bahan imunostimulan untuk mencapai tingkat proteksi.

*Sumber : Galindo dan Hosokawa, 2004

2.5 Sistem Immun Ikan

Pada ikan, respon imun baru terbentuk sempurna ketika ikan sudah dewasa. Pada larva dan ikan muda, respon imun sudah terbentuk namun kerjanya kurang efisien sehingga ikan rentan terhadap penyakit. Sistem pertahanan awal terhadap mikroorganisme yang akan masuk ke dalam tubuh yaitu kulit dan mukus. Kulit dan mukus merupakan alat adaptasi yang pertama terhadap pengaruh kimia maupun pengaruh fisika (Anonymous, 2005).

Kulit merupakan hal yang penting dalam sistem imun non spesifik, karena kulit merupakan penghalang mekanis yang mencegah masuknya jenis organisme. Kulit menghasilkan asam lemak yang disekresi oleh kelenjar keringat. Sekresi tersebut mengandung asam lemak jenuh dan tak jenuh yang lethal untuk bakteri dan fungi (Volk, et.al, 1993). Sedangkan mukus berfungsi untuk mencegah agar bakteri tidak menempel pada sel epitel.

Ikan seperti hewan pada umumnya, memiliki mekanisme pertahanan diri terhadap patogen. Sistem pertahanan tersebut terdiri dari sistem pertahanan non-spesifik atau innate immunity dan sistem pertahanan spesifik atau adaptif immunity (Irianto, 2005).

Sistem pertahanan non-spesifik menjalankan perlindungan secara umum terhadap invasi flora normal, kolonisasi, infeksi dan penyakit infeksi yang disebabkan oleh patogen. Sistem pertahanan non-spesifik dikenal pula sebagai sistem pertahanan bawaan/alami. Immunitas non-spesifik mempunyai beberapa komponen. Komponen seluler immunitas non-spesifik berupa sel-sel sitotoksik alami, leukosit granulosit (neutrofil, sel-sel eosinofilik bergranula) dan sel-sel monosit atau turunan makrofag. Adapun komponen humoralnya yaitu komplemen, transferin, lektin, interferon, protein reaktif-C, profenoloksidase, faktor pembeku dan sejumlah enzim pertahanan (Ellis, 1999).

2.6 Hematologi Ikan

Hematologi merupakan disiplin ilmu yang mempelajari komponen sel darah serta kelainan fungsional dari sel tersebut. Selain itu juga mempelajari volume darah, sifat aliran darah, dan hubungan fisik antara sel-sel darah dan plasma (Johnny, Zafran, Des Roza, dan Mahardika, 2003). Pengetahuan mengenai hematologi ikan yang meliputi morfologi, fisiologi, biokimia dan bentuk sel darah,

merupakan hal yang penting terutama terkait dengan patologi (Anderson, et,al, 1974).

Berdasarkan warnanya sel darah dibagi menjadi sel darah merah dan sel darah putih. Darah mengandung sel-sel yang dirancang untuk mencegah infeksi, menghentikan pendarahan dan mengangkut hormon. Sel darah mempunyai peranan sangat penting dalam sistem kekebalan, terutama leukosit atau sel darah putih. Jenis-jenis leukosit mempunyai beberapa fungsi dalam melawan benda asing yang berhasil masuk ke dalam tubuh (Johnny *et al.*, 2003).

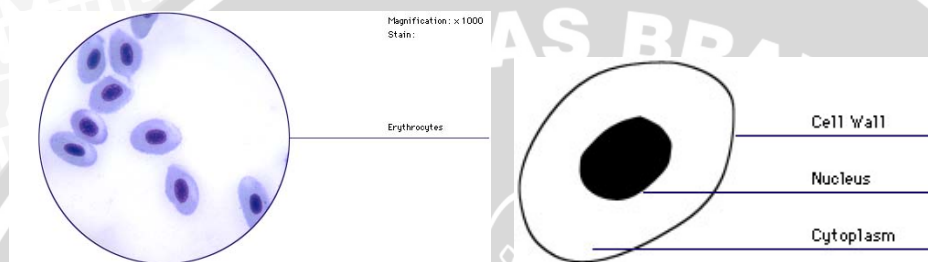
Menurut Johnny *et al.*, (2003) fungsi darah secara umum adalah :

- ✚ Membawa zat makanan yang telah disiapkan oleh saluran pencernaan menuju ke jaringan tubuh.
- ✚ Membawa oksigen ke dalam jaringan dan membawa karbondioksida dari jaringan
- ✚ Membawa produk buangan dari berbagai jaringan untuk dieksresikan.
- ✚ Membawa hormon dari kelenjar endokrin ke organ lain.
- ✚ Mengendalikan suhu dalam tubuh dan mempertahankan keseimbangan air.
- ✚ Berperan dalam sistem buffer yaitu untuk membantu mempertahankan pH.
- ✚ Penggumpalan atau pembekuan darah sehingga dapat mencegah terjadinya kehilangan darah yang berlebihan pada waktu luka.

Pemeriksaan darah utamanya pada patologis tertentu sangat diperlukan. Hasilnya bisa digunakan sebagai pelengkap diagnosis. Pemeriksaan sel-sel darah biasanya dilakukan melalui preparat ulas dan secara diagnostik perhitungan sel darah sangat berarti (Nabib dan Pasaribu, 1989)

2.6.1 Sel Darah merah

Ikan sebagaimana vertebrata lain, memiliki sel darah merah (*eritrosit*) berinti dengan bentuk dan ukuran bervariasi antara satu spesies dengan lainnya. Ada yang berbentuk lonjong, memiliki inti dengan ratio volume sel dan inti adalah 3,5-4,5. Jumlah sel darah merah pada masing-masing spesies juga berbeda, tergantung aktivitas ikan tersebut (Fujaya, 2004). Gambar sel darah merah ikan (*eritrosit*) disajikan pada Gambar 6.



Gambar 6. Sel darah merah ikan Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) Mikroskop Cahaya 1000 x (Anonymous, 2005)
 (*cell wall* = dinding sel)

Eritrosit ikan mempunyai inti dan jumlahnya bervariasi bergantung spesies, kondisi stress dan suhu lingkungan, tetapi umumnya berkisar $1,05 - 3,0 \times 10^6$ sel per mm^3 . Beberapa contoh jumlah eritrosit ikan antara lain : *yellow perch* (*Perca flavescens*) $1,1 \times 10^6$ sel/ mm^3 , *Ictalurus punctatus* $2,4 \times 10^6$ sel/ mm^3 , dan *Cyprinus carpio* $1,43-1,6 \times 10^6$ sel/ mm^3 (Irianto, 2005).

Ukuran rata-rata eritrosit dalam ikan teleostei berkisar antara 10-15 μm . Fungsi sel darah merah adalah transportasi gas respirasi, dan konsentrasinya dalam darah (haematokrit), berhubungan dengan habitat. Beberapa ikan es Atlantik, yang hidup dalam lingkungan dingin dengan kandungan oksigen yang rendah, sama sekali tidak mempunyai eritrosit (Fange, 1994)

2.6.2 Sel Darah Putih (Leukosit)

Leukosit (sel darah putih) ikan terdiri atas neutrofil, basofil, eosinofil (*polymorphonuclear*), limfosit dan monosit (*morphonuclear*) serta sel darah putih

yang belum matang (leucocytoblas). Leukosit mempunyai peran penting dalam sistem kekebalan ikan (Fange, 1994). Secara morfologi leukosit dibagi dua leukosit granular dan agranular. Agranulosit terdiri dari limfosit, monosit dan trombosit, sedangkan granulosit terdiri dari basofil, neutrofil dan eosinofil (Bijanti, 2005)

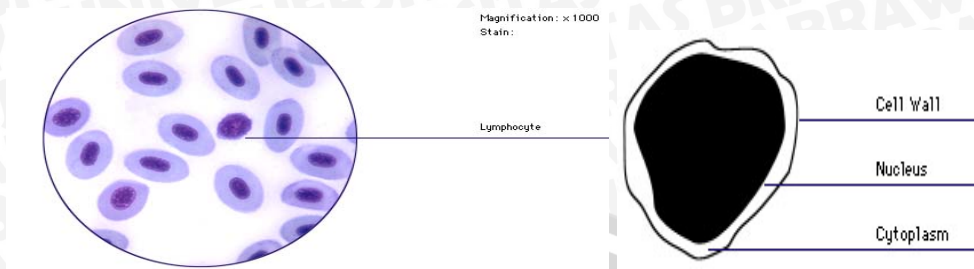
Fungsi leukosit dalam sistem tubuh sangat penting. Salah-satu fungsi tersebut adalah sebagai detoksikasi protein sebelum dapat menyebabkan kerusakan dalam tubuh (Effendi dan Zukesti, 2003).

2.6.3 Diferensial Leukosit

Ikan memiliki sel-sel darah putih yang lebih banyak dibanding manusia yaitu terdapat 137.000 sel/mm^3 – 798.000 sel/mm^3 sel darah putih (Fujaya, 2004). Leukosit ikan terbagi menjadi 2 bagian besar yaitu granulosit dan agranulosit. Agranulosit terdiri dari limfosit, monosit dan trombosit, sedangkan granulosit terdiri dari basofil, neutrofil dan eosinofil (Bijanti, 2005)

Limfosit tidak bersifat fagositik tetapi memegang peranan penting dalam pembentukan antibodi. Kekurangan limfosit dapat menurunkan konsentrasi antibodi dan menyebabkan meningkatnya serangan penyakit. Selain itu, suhu yang rendah dapat menurunkan kadar limfosit (Fujaya, 2004). Limfosit mempunyai peranan dalam respon immunitas. Sel-sel ini bersirkulasi dalam darah dan cairan limfe pada hewan vertebrata dimana jumlahnya pada ikan lebih besar daripada jumlahnya pada mamalia dengan kepadatan 48.000 sel/mm^3 pada ikan dan pada manusia hanya 2.000 sel/mm^3 (Nabib dan Pasaribu, 1989).

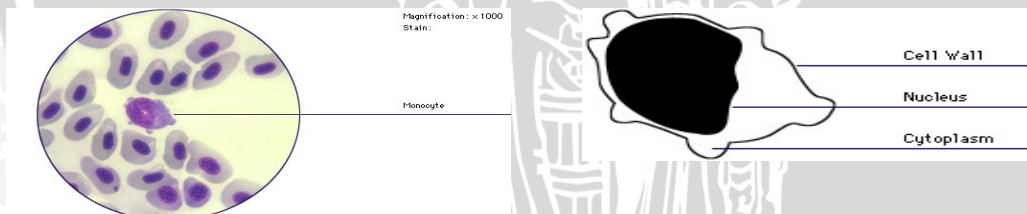
Gambar Limfosit disajikan pada Gambar 7.



(cell wall = dinding sel)

Gambar 7. Limfosit ikan Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) Mikroskop Cahaya 1000 x (Anonymous, 2005)

Monosit lebih kuat dibandingkan dengan neutrofil dalam memfagositosis bakteri, bahkan dapat memfagositasi partikel yang lebih besar. Karena itu, monosit matang disebut makrofag dan mampu memfagosit 100 bakteri (Fujaya, 2004). Monosit ikan berbentuk bulat oval, intinya terletak di tengah sel dengan sitoplasmanya tidak bergranula dan meningkatnya monosit terjadi karena adanya radang (Angka, Prioseryanto, Lay dan Harris, 2004). Gambar Monosit disajikan pada Gambar 8.



(cell wall = dinding sel)

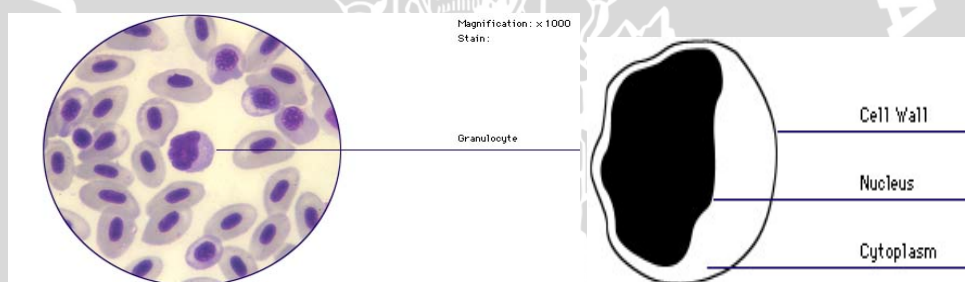
Gambar 8. Monosit Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) Mikroskop Cahaya 1000 x (Anonymous, 2005)

Neutrofil mempunyai bentuk agak lonjong atau bulat, protoplasma, berwarna sedikit biru dan inti bersegmen (Jhonny *et al.*, 2003). Neutrofil berhubungan dengan pertahanan tubuh terhadap infeksi bakteri serta proses peradangan kecil lainnya, serta biasanya juga yang memberikan tanggapan

pertama terhadap infeksi bakteri, aktivitas dan matinya neutrofil dalam jumlah yang banyak menyebabkan adanya nanah (Anonymous, 2007).

Neutrofil berhubungan dengan pertahanan tubuh terhadap infeksi bakteri serta proses peradangan kecil lainnya, serta biasanya juga yang memberikan tanggapan pertama terhadap infeksi bakteri; aktivitas dan matinya neutrofil dalam jumlah yang banyak menyebabkan adanya nanah. Eosinofil terutama berhubungan dengan infeksi parasit, dengan demikian meningkatnya eosinofil menandakan banyaknya parasit. Basofil terutama bertanggung jawab untuk memberi reaksi alergi dan antigen dengan jalan mengeluarkan histamin kimia yang menyebabkan peradangan (Wikipedia, 2007).

Gambar Neutrofil disajikan pada Gambar 9.



(cell wall = dinding sel)

Gambar 9. Neutrofil ikan Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) Mikroskop Cahaya 1000 x (Anonymous, 2005)

2.6.4 Nilai Hematokrit

Hematokrit adalah persentase bagian volume sel darah merah (eritrosit) yang mengendap dengan volume darah seluruhnya. Nilai hematokrit pada setiap ikan bervariasi, tergantung dari kondisi fisiologi dan kesehatan serta aktivitas dari ikan yang diambil sampel darahnya. Pada ikan yang memiliki aktivitas tinggi seperti ikan predator blue marine (*Makaira nigricans*) mempunyai nilai hematokrit 43%, pada ikan *Pagothenia bermacchi* hanya 21% dan pada ikan *Salmon salar* 47% (Bijanti, 2005).

2.6.5 Hemoglobin (Hb)

Hemoglobin terdapat pada eritrosit dan terdiri dari haem yang merupakan porfirin besi dan globin, dimana hemoglobin sendiri merupakan suatu protein molekul besar yang terdiri dari 4 sub unit protein molekul kecil (2 rantai α dan 2 rantai β). Masing-masing rantai tersebut akan mengikat 1 molekul oksigen dan membentuk ikatan peptida yang selanjutnya akan terikat lagi dengan cincin haem yang ada pada bagian tengahnya terdapat atom Fe. Setiap atom Fe, satu protein globin hanya mengikat satu molekul haem dan satu molekul hemoglobin terdiri atas empat buah kompleks molekul globin dan haem, sehingga satu molekul hemoglobin mengandung empat atom Fe dan dapat mengangkut empat molekul oksigen (Bijanti, 2005).



III. METODELOGI PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan-bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : Ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) dengan berat antara 20 - 25 gr, Biakan murni bakteri *Aeromonas hydrophila*, Jintan hitam (*Nigella sativa*), Kapas, Tissue, Air, Kertas saring, Larutan Na citrate 3,8 %, Larutan turk, Larutan hayem, Aluminium foil, Aquades, Alkohol, Spirtus, Pakan, TSA (*Triptic Soya Agar*), NB (*Nutrient Broth*), Metanol 97 %, Larutan Giemsa, Kaporit, Alkohol 70 %, Es, HCl 0,1 N, Malam, dan Larutan drabkins,

3.1.2 Alat-alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah : Tabung reaksi, Pipet Tetes, Baskom, Aerator, Haemositometer, Kulkas, pH meter, Syringe, DO meter, Timbangan, Tabung mikrohematokrit, Erlenmayer, Sentrifuge, Kamera digital, Hot Plate, Beaker glass, Tube, Corong, Autoclave, Gelas ukur, Spektrofotometer, Batu aerasi, Selang aerasi, Cawan petri, Jarum ose, Bunsen, Oven, Erlenmeyer, Pipet kapiler, Spluit 1 ml, Box sterofom, Tabung effendorf, Mikroskop cahaya, Mikrosentrifuge, Mikrohematokrit reader, Pipet thoma leukosit, Pipet thoma eritrosit, Cuvette, Gelas objek, Gelas cover, Handtally counter, Tabung haemometer, dan Pipet sahli

3.2 Metode Penelitian dan Rancangan Percobaan

3.2.1 Metode Penelitian

Metode yang digunakan adalah metode eksperimen yaitu mengadakan percobaan untuk melihat suatu hasil atau hubungan kausal antara variabel-

variabel yang diselidiki. Tujuan eksperimen adalah untuk menemukan hubungan sebab dan akibat antar variabel. Hasil yang diperoleh menegaskan bagaimana hubungan kausal antar variabel-variabel yang diselidiki dan berapa besar hubungan sebab akibat tersebut, dengan cara memberikan perlakuan tertentu pada beberapa kelompok eksperimental dan menyediakan kontrol untuk perbandingan. Teknik pengumpulan data dilakukan dengan pengamatan secara langsung (Nazir, 1988).

3.2.2 Rancangan Percobaan

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Rancangan ini digunakan dalam satu percobaan homogen, artinya keragaman dalam satuan percobaan tersebut kecil, sehingga yang dipengaruhi hasil penelitian hanyalah perlakuan dan faktor kebetulan saja. Yitnosumarno (1993), menambahkan rancangan acak lengkap dipergunakan untuk penelitian atau percobaan di laboratorium, rumah kaca dan percobaan terkendali lainnya.

Beberapa keuntungan dari penggunaan RAL menurut Gasperz (1991) adalah sebagai berikut :

1. Denah perancangan percobaan lebih mudah.
2. Analisa statistika terhadap subyek percobaan sangat sederhana.
3. Fleksibel dalam penggunaan jumlah perlakuan dan jumlah ulangan.
4. Kemungkinan kehilangan informasi data lebih kecil.

Rumus dari model RAL menurut Yitnosumarno (1993), adalah sebagai berikut :

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \Sigma_{ij}$$

Keterangan :

Y_{ij} = Hasil pengamatan pada perlakuan ke - 1 dan ulangan ke - j

μ = Nilai rata - rata

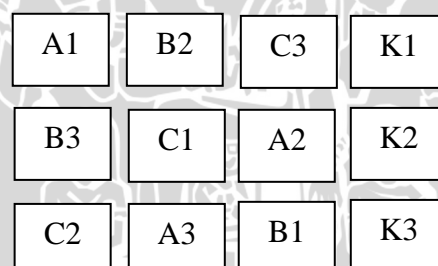
α_i = Pengaruh perlakuan ke - i

Σ_{ij} = Pengaruh galat (sisa) dari perlakuan ke - i dan ulangan ke - j

Perlakuan yang diberikan adalah perbedaaan konsentrasi immunostimulan ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dengan metode penyuntikan (injeksi). Perbedaan konsentrasi tersebut ditentukan dari hasil penelitian pendahuluan, sebagai berikut :

K = 0 % (kontrol), A= 3 %, B = 6 %, dan C = 9 %

Masing – masing perlakuan diatas diulang sebanyak 3 kali sehingga denah percobaan disajikan pada Gambar 10.



Gambar 10. Denah Percobaan

Keterangan :

A, B, C = Perlakuan

K = Kontrol

1, 2, 3 = Ulangan

3.3 Pelaksanaan Parameter Utama

3.3.1 Persiapan Hewan Uji

Ikan uji yang diamati adalah ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) dengan berat 20-25 gr, sebanyak 8 ekor per bak pemeliharaan. Ikan didapatkan dari

petani ikan di daerah Sawojajar. Aklimatisasi dan pembiasaan pemberian pakan dilakukan selama 1 minggu. Kemudian Ikan diberikan perlakuan penyuntikan ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dengan dosis 0,2 ml (0,8 ml/100 gr BB) dalam setiap perlakuan yang berbeda (Sulaiman, 2008). Konsentrasi perlakuan ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) yang diberikan adalah 3%, 6%, 9%, dan kontrol sebagai pembanding sebesar 0%.

3.3.2 Prosedur Bakteri

3.3.2.1 Sterilisasi Alat Dan Bahan

Sebelum digunakan, alat-alat disterilisasi terlebih dahulu. Sterilisasi alat menurut Dwidjoseputro (1987), adalah sebagai berikut:

- Alat yang digunakan dibungkus dengan kertas koran, lalu diikat dengan benang.
- Air dituang secukupnya ke dalam autoclave, kemudian alat yang dibungkus dimasukkan dan autoclave ditutup rapat dengan mengencangkan baut secara silang .
- Kompor pemanas dinyalakan sampai manometer menunjukkan angka 1 atm, jika terjadi kelebihan tekanan, kran udara dibuka hingga manometer menunjukkan angka 1 kembali.
- Keadaan tekanan uap jenuh dapat terjadi berulang sampai 121°C dan keadaan manometer menunjukkan 1 atm, keadaan ini dipertahankan sampai 15 menit.
- Kompor dimatikan dan kran dibuka untuk mengurangi tekanan, ditunggu beberapa saat sampai thermometer dan manometer menunjukkan angka 0 (nol) lalu dibuka penutup autoclave dengan zig-zag.
- Alat dan bahan yang sudah disterilkan diambil, lalu disimpan di dalam inkubator.

3.3.2.2 Pembuatan Media

❖ Pembuatan *Tryptone Soy Agar (TSA)* dari OXOID menurut Ruangan dan Kitio (1992) sebagai berikut :

1. 40 gram TSA dilarutkan dengan 1 liter aquades steril dalam erlenmeyer.
2. Erlenmeyer ditutup kapas dan kemudian dididihkan hingga larut sempurna dan jernih. Larutan TSA kemudian disterilkan dalam autoclave pada suhu 121 °C selama 15 menit.
3. Media TSA yang sudah disterilkan dituangkan ke dalam cawan petri steril dalam keadaan panas sebanyak 10-12 ml. Penuangan dilakukan didekat api bunsen, selanjutnya setelah penuangan selesai, cawan petri dipanaskan lagi. Media dibiarkan dingin dan memadat
4. Media yang tidak langsung digunakan disimpan dalam lemari pendingin sehingga dapat bertahan lama. Cawan petri diletakkan terbalik yaitu bagian tutup berada di bawah hal ini untuk menghindari tetesan air kondensasi dari tutup.
5. Media dari lemari pendingin, apabila akan digunakan dimasukkan kembali ke dalam inkubator, sehingga suhu media sama dengan suhu lingkungan dan untuk melihat ada tidaknya kontaminasi pada media.

❖ Pembuatan Media Cair *Nutrient Broth (NB)* dari OXOID menurut Ruangan dan Kitio (1992) sebagai berikut :

1. 13 gram *Nutrient Broth* dilarutkan dengan 1 liter aquades steril dalam erlenmeyer. Erlenmeyer ditutup kapas dan kemudian dididihkan hingga larut sempurna dan jernih.
2. Media cair NB dalam erlenmeyer disterilkan dalam autoclave pada suhu 121 °C selama 15 menit. Media cair NB yang akan dipakai, dibiarkan dingin terlebih dahulu agar bakteri yang akan diinokulasi tidak mati.
3. Media cair NB yang tidak langsung digunakan disimpan dalam lemari pendingin sehingga dapat bertahan lama.

3.3.2.3 Pembiakan Murni Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Biakan murni bakteri *Aeromonas hydrophila* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Sebelum digunakan, bakteri dibiakkan terlebih dahulu dengan cara sebagai berikut :

1. Larutan NB disiapkan dalam tabung reaksi sebanyak \pm 5 ml.
2. Kemudian cawan petri yang berisi media TSA yang telah steril disiapkan.
3. Jarum ose dipanaskan di atas bunsen sampai berpijar, setelah dingin jarum ose disentuh ke biakan murni bakteri *Aeromonas hydrophila* dan diambil sebanyak 1 ose, kemudian dicelupkan ke NB.
4. Larutan NB dibiarkan selama 24 jam dalam inkubator pada suhu 35 °C.
5. Setelah NB menjadi keruh, jarum ose dicelupkan ke NB dan dioleskan ke permukaan media TSA.
6. Cawan petri ditutup dan sekelilingnya dipanaskan di atas bunsen. Media yang telah terisi bakteri diinkubasi pada suhu 35 °C selama 24 jam.

Untuk mendapatkan kepadatan bakteri maka harus dilakukan perhitungan pengenceran dengan menggunakan rumus (Dwidjoseputro, 1998) :

$$N_1 \cdot V_1 = N_2 \cdot V_2$$

Dimana :

- N_1 : Kepadatan populasi bakteri dalam media NB (sel/ml)
 V_1 : Kepadatan populasi bakteri yang dikehendaki (sel/ml)
 N_2 : Volume suspensi bakteri dalam NB yang dibutuhkan
 V_2 : Volume media air dalam wadah pemeliharaan ikan.

3.3.3 Pembuatan ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*)

Menurut Tumar (2006), pembuatan ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) adalah sebagai berikut :

- Ditimbang 3 gram jintan hitam (*Nigella sativa*) yang sudah dihaluskan dengan menggunakan timbangan analitik.
- Kemudian dipanaskan dengan aquades sebanyak 100 ml selama 10 menit.
- Setelah itu dilakukan penyaringan dengan kertas saring.
- Hasil akhir yang digunakan dalam penelitian.

3.3.4 Penentuan Kepadatan Bakteri untuk Uji Tantang

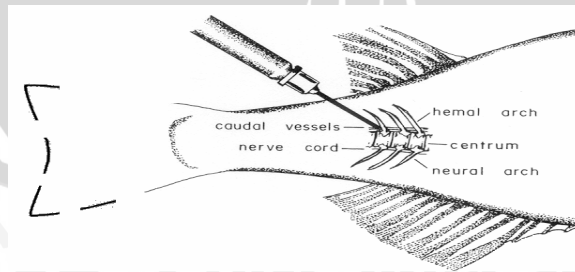
Kepadatan bakteri yang digunakan untuk ujiantang ditentukan dengan melakukan penelitian pendahuluan. Dari hasil penelitian pendahuluan, diperoleh kepadatan bakteri yang digunakan untuk ujiantang yaitu 10^7 sel/ml. Hal ini berdasarkan pengamatan yang dilakukan selama 48 jam terhadap sintasan, sehingga diperoleh pada kepadatan bakteri sebesar 10^7 sel/ml, terjadi kematian pada ikan uji sebesar 50 %.

3.3.5 Uji Hematologi Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*)

Pemeriksaan terhadap darah dapat digunakan sebagai indikator kesehatan ikan. Namun demikian, perlu dilakukan dengan hati-hati. Hal ini disebabkan karena darah ikan sangat mudah beku dan sel-sel darahnya yang sangat rapuh yaitu mudah pecah (*haemolisis*). Cara yang paling mudah untuk mengambil darah ikan adalah dari vena caudalis dan arteri caudali. Kedua pembuluh darah ini terdapat pada bagian dorsal tubuh ikan, dibagian ventral dari vertebrae, yang masing-masing dipisahkan oleh dinding tipis (Dalimunthe, 2006^b).

Menurut Dalimunthe (2006^b), pengambilan darah ikan dilakukan dengan cara sebagai berikut :

- Ikan yang sudah dibius diletakkan dalam bak seksio. Sisi bagian tubuh kira-kira berada di bagian bawah, sedangkan kepala berada menghadap bagian kiri
- Diambil syringe yang sudah diisi dengan larutan koagulan sebanyak 1/20 dari volume darah yang akan diambil
- Diletakkan jarum suntik tepat di bawah linea literalis antara anus dan sirip anal
- Ditusukkan jarum menuju arah cranial dan vertebrata, sampai terasa menyentuh vertebrata
- Jarum ditarik sedikit ke arah luar
- Ditarik alat penghisap syringe pelan-pelan sesuai dengan irama pernafasan ikan
- Sesudah volume darah yang diinginkan diperoleh dalam tabung alat suntik, syringe ditarik keluar. Selanjutnya syringe digerak-gerakkan dengan menggunakan jari telunjuk dan ibu jari. Hal ini dimaksudkan agar darah dapat bercampur dengan sempurna dengan larutan anti koagulan. Darah yang diperoleh dapat disimpan dalam kulkas, atau langsung diproses untuk pengamatan lebih lanjut. Gambar teknik pengambilan darah terdapat pada gambar 11.



Gambar 11. Teknik Pengambilan Darah (Anonymous, 2006)

a. Pemeriksaan Sel Darah Putih (Leukosit)

Prosedur pelaksanaan untuk pemeriksaan sel darah putih (leukosit) yaitu :
Darah ikan yang telah diencerkan dengan anti koagulan diambil dengan pipet leukosit sebanyak 0,5 μ L kemudian diencerkan dengan perbandingan 1 : 50 dengan menggunakan larutan Dacies yang disaring terlebih dahulu sebelum digunakan. Darah dicampur dengan larutan Dacies secara perlahan agar tidak merusak sel darah. Kemudian diambil sedikit campuran darah dan larutan Dacies, kemudian diteteskan dalam kamar hitung Improved Neubauer, setelah itu diletakkan cover glas diatas kamar hitung Improved Neubauer. Kemudian dihitung jumlah leukosit yang terdapat pada semua kotak leukosit dengan menggunakan mikroskop (Bijanti, 2005)

- Menurut Bijanti (2005), menghitung jumlah sel leukosit yaitu :
 1. Dihitung jumlah leukosit dengan menggunakan mikroskop, dipakai lensa obyektif kecil dengan pembesaran 10 x, diturunkan lensa kondensor atau dikecilkan diafragma, mikroskop harus diletakkan di meja yang datar.
 2. Kamar hitung dengan bidang bergarisnya diletakkan di bawah obyektif dan focus mikroskop diarahkan pada garis-garis bagi tersebut.
 3. Dihitung semua leukosit yang terletak pada keempat “bidang besar” (kotak yang berwarna hijau)
 4. Perhitungan dimulai dari sudut kiri atas, terus ke kanan, kemudian turun ke bawah dan dari kanan ke kiri (pada empat kotak berwarna hijau), cara seperti ini dilakukan pada keempat “bidang besar”
 5. Kadang-kadang ada sel-sel yang letaknya menyinggung garis batas bidang. Sel yang menyinggung garis batas sebelah kiri atau garis atas haruslah dihitung, sebaliknya sel-sel yang menyinggung garis batas sebelah kanan atau garis bawah tidak boleh dihitung.

Jumlah leukosit dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\begin{aligned}\text{Jumlah leukosit (sel/mm}^3\text{)} &= N \times \frac{1}{4 \times \text{area} \times 0,1(\text{volume})} \times 50 \text{ (pengenceran)} \\ &= N \times 125\end{aligned}$$

b. Perhitungan Diferensial Leukosit

Menurut Dalimunthe (2006^a), pemeriksaan darah secara langsung dapat dilakukan dengan mengamati smear atau ulasan darah yang dikerjakan sebagai berikut :

- Diletakkan setetes darah pada obyek glass sebelah kanan dengan menekan syringe.
- Dipegang obyek glass dengan tangan kiri dan diambil cover glass dengan tangan kanan.
- Ditegakkan cover glass tersebut di atas obyek glass pada bagian kiri. Kemudian didorong ke kanan sampai menyentuh tetesan darah yang ada pada obyek glass terdahulu, selanjutnya ditarik dengan cepat ke arah kanan dengan membentuk sudut 30°. Cara menarik diusahakan jangan sampai berhenti di tengah jalan
- Kecepatan menarik dan sudut yang dibentuk perlu disesuaikan, sehingga diperoleh usapan atau smear darah yang tipis. Jika tetesan darah yang ada terlalu besar, maka sudut yang akan dibentuk perlu diperbesar (60°). Sebaliknya jika tetesan darah terlalu sedikit, maka sudutnya dikurangi dan kecepatan menarik dikurangi.
- Smear atau ulasan yang ada pada obyek glass dibiarkan mengering udara sekitar 24 jam

Setelah membuat ulasan darah maka dilakukan pemeriksaan hitung jenis sel dengan cara : Hapusan darah yang sudah kering, kemudian difiksasi dengan

menggunakan metanol 95% selama 1-2 menit. Dilakukan pengecatan pada hapusan darah yang telah difiksasi dengan pengecatan Giemsa, ditunggu selama ± 5 menit. Kemudian dibilas slide dengan menggunakan air mengalir dan dikeringkan. Setelah itu hapusan darah diperiksa di bawah mikroskop (Bijanti, 2005).

Untuk mengetahui lebih lanjut tentang pembagian tipe leukosit, maka harus dihitung tipe leukositnya pada bagian tertentu dari smear yang diamati angka yang diperoleh yang dinyatakan dalam %. Cara seperti ini disebut dengan teknik menghitung diferensiasi. Meskipun istilahnya hanya merupakan teknik perhitungan, masih perlu dinilai gambaran tentang perhitungan darah. Dalam penilaian ini perlu diperhatikan perbedaan bentuk, warna dan cara pewarnaan eritrosit. Daerah atau posisi pemeriksaan yang paling baik adalah bagian yang disebut nyala lilin, yaitu tempat atau wilayah smear, dimana sel darah tidak saling menyentuh satu sama lain, atau tidak mengalami kerusakan karena tekanan dari cover glas pada saat meratakannya. Apabila tempat ini sudah dijumpai, maka tetesilah dengan menggunakan minyak immersi diatas smear tersebut, diputar lensa obyektif 100x sebelum meneteskan minyak. Cara perhitungan dapat dilakukan dengan dua cara yaitu :

- *Cross section*, merupakan cara perhitungan yang terbaik. Hal ini disebabkan karena cara ini memberikan perhitungan yang sesuai dengan perbandingan darah yang sebenarnya. Sel darah dihitung dari tepi secara menyilang
- Cara *bettlement*, yaitu hitungan dimulai dari sepanjang tepi preparat ke arah tengah, sampai sepertiga bagian dari tepi. Setelah itu dihitung secara paralel. Kemudian kembali lagi ke arah tepi, demikian seterusnya (Dalimunthe, 2006^b).

c. Penetapan Kadar Hemoglobin

Penetapan kadar hemoglobin dilakukan dengan menggunakan metode sahli, pertama larutan HCL 0,1 N dimasukkan ke dalam tabung haemometer sampai angka 2 g%, darah yang sudah bercampur anti koagulan dihisap dengan pipet sahli sampai tanda 20 mm, kemudian darah dimasukkan ke dalam tabung haemometer dengan cara meniupnya, dan harus menyentuh dasar tabung supaya tidak terjadi gelembung udara campurlah isi tabung tersebut dan tunggu hingga 10 menit, sampai terbentuk asam hematin setelah itu diencerkan sedikit demi sedikit dengan aquadest sambil diaduk dan dibandingkan dengan warna standart. Setelah warna larutan sama dengan warna standart, tariklah garis lurus pada miniskus larutan dan bacalah skalanya (Dalimunthe, 2006^b).

d. Perhitungan Sel Darah Merah (Eritrosit)

Jumlah eritrosit dihitung dengan cara yang digunakan oleh Gandasoebrata (2007) yaitu dengan cara sampel darah dihisap dengan pipet bulir merah sampai skala 0,5, kemudian larutan Hayem juga dihisap sampai skala pada pipet menunjukkan angka 101. Perbandinagn 1:200. Pipet bulir digoyangkan agar darah dan larutan Hayem bercampur homogen kemudian tetesan pertama dibuang, berikutnya ditetaskan ke dalam Haemositometer dan ditutup dengan kaca penutup. Penghitungan dilakukan pada 10 kotak kecil Haemositometer dan jumlahnya dihitung dengan rumus :

$$\text{SDM} = (A/N) \times (1/V) \times Fp$$

Dimana : SDM = Jumlah eritrosit

A = Jumlah sel eritrosit terhitung

N = Jumlah kotak Haemositometer yang diamati

V = Volume kotak Haemositometer yang diamati

Fp = Faktor Pengenceran

e. Penetapan Nilai Hematokrit (PCV)

Nilai hematokrit diperoleh dengan cara mengambil darah sampai $\frac{3}{4}$ tabung, dengan tabung mikrohematokrit yang telah dilapisi parafin. Kemudian ditutup bagian bawah mikrohematokrit tersebut ke dalam sentrifuge hematokrit dan diputar selama 5 menit, setelah itu hasil yang didapat dibaca dengan menggunakan mikrohematokrit reader/ alat pembaca khusus (Bijanti, 2005).

3.4 Parameter Penunjang

Parameter penunjang penelitian ini meliputi :

- ❖ Kualitas air yang meliputi :
 - Suhu yang diukur dengan thermometer,
 - pH air yang diukur dengan pH meter dan
 - oksigen terlarut yang diukur dengan DO meter.
- ❖ Tingkat kelangsungan hidup ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang dihitung berdasarkan pengamatan terhadap kematian yang ditimbulkan setelah perlakuan dan dihitung dengan menggunakan rumus menurut Effendie (1979), yaitu :

$$SR = \frac{N_t}{N_0} \times 100\%$$

Dimana :

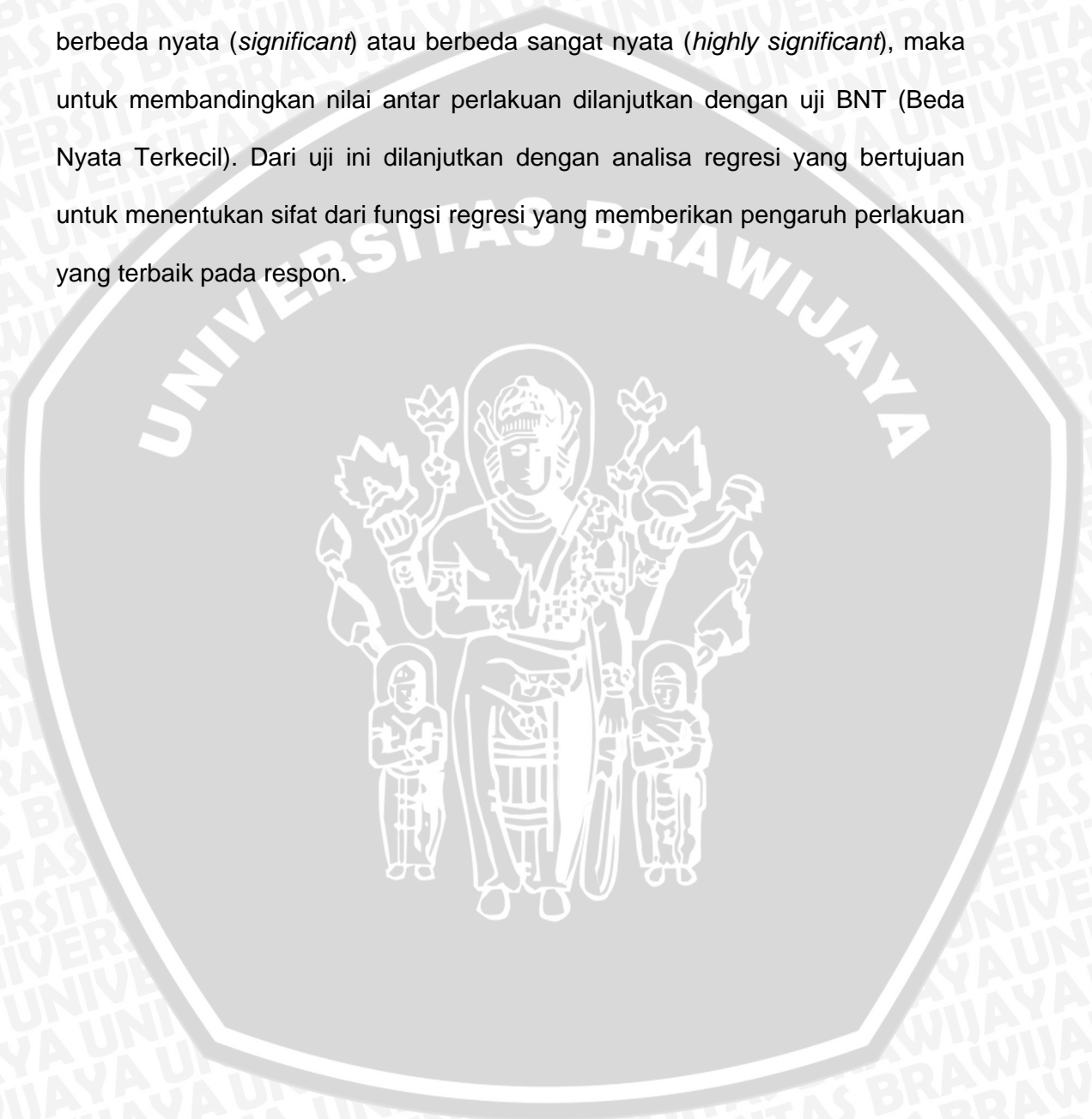
SR = Tingkat kelulushidupan (%)

N_t = Jumlah ikan akhir pemeliharaan (ekor)

N_0 = Jumlah ikan awal pemeliharaan (ekor)

3.5 Analisa Data

Data dianalisa secara statistik dengan menggunakan analisa keragaman sesuai dengan rancangan yang digunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Apabila dari sidik ragam diketahui bahwa perlakuan menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata (*significant*) atau berbeda sangat nyata (*highly significant*), maka untuk membandingkan nilai antar perlakuan dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil). Dari uji ini dilanjutkan dengan analisa regresi yang bertujuan untuk menentukan sifat dari fungsi regresi yang memberikan pengaruh perlakuan yang terbaik pada respon.



IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Penentuan Kepadatan Bakteri untuk Uji Tantang

Penentuan kepadatan bakteri *Aeromonas hydrophila* yang digunakan untuk uji tantang ditentukan dari penelitian pendahuluan yang dilakukan selama 2 hari dengan kepadatan bakteri sebanyak 10^6 sel/ml dan 10^7 sel/ml. Pada kepadatan 10^6 sel/ml ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) tidak mengalami kematian sedangkan pada kepadatan bakteri sebesar 10^7 sel/ml terjadi kematian pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) sebesar 50 %. Dari hasil penelitian pendahuluan maka diperoleh kepadatan bakteri yang akan digunakan sebesar 10^7 sel/ml.

4.2 Kelulushidupan Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Setelah Uji Tantang Dengan Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Hasil penelitian diperoleh data bahwa sebelum uji tantang kelulushidupan benih ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) adalah 100%, sedangkan setelah uji tantang mengalami perubahan yang berbeda setiap perlakuan. Rata-rata kelulushidupan yang diperoleh pada akhir penelitian dari setiap perlakuan dengan ulangan yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Pengaruh Pemberian Ekstrak Jintan Terhadap Kelulushidupan Ikan Lele Dumbo Setelah Uji Tantang Dengan Bakteri *Aeromonas hidrophila*

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
K (0%)	52.24	45	45	142.24	47.41
A (3%)	69.29	60	69.29	198.58	66.19
B (6%)	60	90	69.29	219.29	73.10
C (9%)	90	69.29	90	249.29	83.10
TOTAL				809.40	53.96

Hasil sidik ragam yang tercantum pada Lampiran 3 menunjukkan bahwa nilai F hitung yaitu 6.40 berada di atas nilai F tabel 5 % (4.07). Hal ini berarti,

pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) sebagai immunostimulan pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) dengan konsentrasi yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap kelulushidupan ikan lele setelah dilakukan ujiantang dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*, hal ini berarti menerima H1 dan menolak H0.

Hasil uji BNT (Lampiran 1) menunjukkan bahwa perlakuan C dengan konsentrasi 9 % ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) merupakan perlakuan tertinggi yang dapat menghasilkan kelulushidupan ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yaitu 83.10 % setelah ujiantang dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*.

Perhitungan hasil sidik ragam regresi dan grafik kurva respon (Lampiran 1) menunjukkan persamaan yang digunakan adalah persamaan regresi linier dengan rumus $Y = 379.84 x + 50.357$ dengan nilai $R^2 = 0.9552$ dan $r = 0.834$. Koefisien Determinasi (R^2) merupakan besaran yang dipakai untuk menunjukkan seberapa besar variabel dependent dijelaskan oleh variabel independent. Nilai R^2 yang didapatkan yaitu 0.9552 hasil ini menunjukkan bahwa 95.5 % kelulushidupan ditentukan oleh variabel dalam setiap perlakuan, sedangkan 4.5 % dipengaruhi oleh variabel lain.

Kandungan senyawa bioaktif pada ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dapat digunakan sebagai immunostimulan dan terbukti dapat meningkatkan respon imun nonspesifik pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) setelah ujiantang dengan bakteri *Aeromonas hydrophila* 10^7 sel/ml dengan melihat hasil kelulushidupan pada ikan uji.

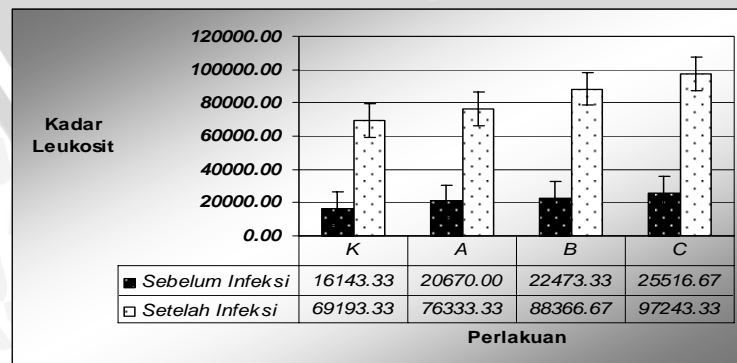
Hal ini juga sesuai dengan penelitian Urien (1995) yang memberikan hasil bahwa pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) tidak menimbulkan sifat toksit (baik secara akut maupun sub akut) pada hewan. Haq, Lobo, Al-Tufail, Rama dan Al-sedairy (1999), melaporkan bahwa ekstrak jintan hitam (*Nigella*

sativa) dapat memperkuat respon imun (kekebalan) sel tubuh. Anderson (1974) yang menyatakan bahwa penggunaan immunostimulan dapat memperbaiki mekanisme yang terlibat dalam proses pertahanan tubuh yang bersifat umum atau non spesifik.

Immunitas ini menurut Guyton dan Hall (1997) merupakan immunitas didapat yang mampu membentuk immunitas spesifik yang sangat kuat untuk melawan agen penyerbu yang bersifat mematikan, seperti bakteri, virus, toksin, dan bahkan jaringan asing yang berasal dari binatang lain. Hal ini sesuai dengan pernyataan Pelczar dan Chan (1988) menyatakan bahwa sistem immunitas dapat diperoleh setelah mula-mula tubuh terkena suatu mikroorganisme patogenik dan dapat terjadi melalui infeksi alamiah sehingga mikroorganisme tersebut merangsang mekanisme resistensi inang (sistem kekebalan). Membutuhkan waktu yang lama, sampai berminggu-minggu untuk membentuk sistem imun ini

4.3 Jumlah Total Leukosit Ikan Lele dumbo (*Clarias griepinus*) Sebelum Dan Sesudah Uji Tantang Dengan Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Rata-rata jumlah total leukosit ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) sebelum dan sesudah uji tantang bakteri *Aeromonas hydrophila* pada beberapa perlakuan disajikan pada Gambar 12.



Gambar 12. Pengaruh Pemberian Ekstrak Jintan Terhadap jumlah Total Leukosit Ikan Lele Dumbo Setelah Uji Tantang Dengan Bakteri *Aeromonas hydrophila*



Nilai rata-rata jumlah total leukosit pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) sebelum infeksi berkisar antara 16143.33 sel/ml sampai 25516.67 sel/ml dan setelah dilakukan infeksi mengalami peningkatan menjadi 69193.33 sel/ml sampai 97243.33 sel/ml.

Hasil sidik ragam yang tercantum pada Lampiran 2 menunjukkan bahwa nilai F hitung yaitu 17.00 berada di atas nilai F tabel 1 % (7.59). Hal ini berarti bahwa pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) sebagai immunostimulan pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) dengan konsentrasi yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap jumlah total leukosit ikan lele setelah dilakukan uji tantang dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*, hal ini berarti menerima H1 dan menolak H0.

Hasil uji BNT (Lampiran 2) menunjukkan bahwa perlakuan C dengan konsentrasi 9 % ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) merupakan konsentrasi tertinggi yang dapat menghasilkan jumlah total leukosit ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yaitu 97243.33 sel/ml setelah uji tantang dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*.

Perhitungan hasil sidik ragam regresi dan grafik kurva respon (Lampiran 2) menunjukkan persamaan yang digunakan adalah persamaan regresi linier dengan rumus $Y = 320611 x + 68357$ dengan nilai $R^2 = 0.9914$ dan $r = 0.921$. Nilai R^2 yang didapatkan yaitu 0.9914 hasil ini menunjukkan bahwa 99.1 % jumlah total leukosit ditentukan oleh variabel dalam setiap perlakuan, sedangkan 0.9 % dipengaruhi oleh variabel lain.

Hasil penelitian menunjukkan adanya peningkatan jumlah total leukosit pada setiap perlakuan. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Zaoui , Cherrah, Alaoui, Mahassine, Amarouch, dan Hassar (2001) yang menyatakan bahwa leukosit Tikus meningkat jumlahnya dari 7250 sel/ml menjadi 8230 sel/ml setelah diberi ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*). Shao, Liu dan

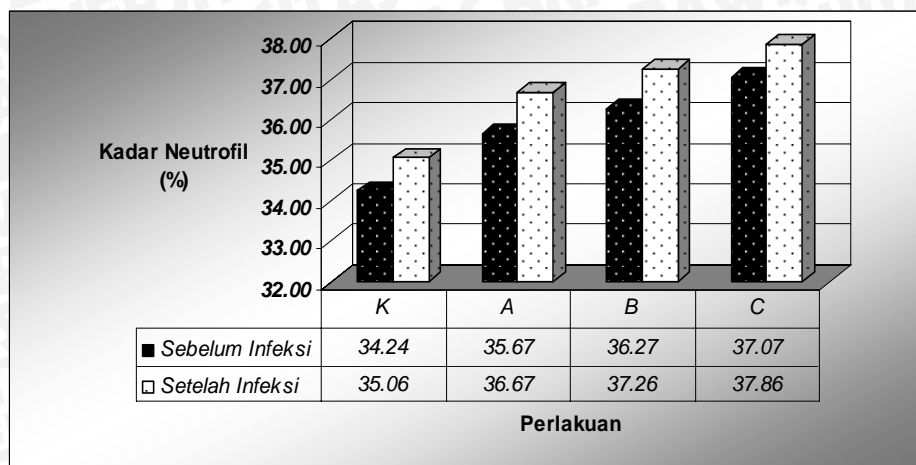
Xiang (2004), menyatakan bahwa leukosit ikan komet (*Carassius auratus*) meningkat jumlah leukositnya setelah diinfeksi oleh *Aeromonas hydrophila*. Dugencie, Arda dan Candan, (2003) menyatakan bahwa dengan perlakuan pemberian ekstrak ginger 1% menyebabkan peningkatan jumlah leukosit ikan rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) dari 188.000 sel/ml menjadi 237.000 sel/ml.

Leukosit merupakan salah satu jenis sel darah yang mempunyai peranan sangat penting dalam sistem tanggap kebal ikan, dan akan meningkat secara pesat apabila terjadi suatu infeksi (Tizard, 1988). Leukosit merupakan salah satu komponen darah yang berfungsi sebagai pertahanan non-spesifik yang akan melokalisasi dan mengeliminir patogen melalui fagositosis (Anderson, 1992). Anderson (1974) mengatakan bahwa terjadi peningkatan jumlah leukosit setelah pemberian immunostimulan. Ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) yang masuk ke dalam tubuh ikan dianggap sebagai antigen yang masuk ke dalam tubuh ikan. Antigen yang masuk akan difagosit oleh makrofag kemudian dibawa ke limfosit-T dan limfosit-B secara bersamaan. Sel-T teraktivasi akan membantu mengaktifkan sel-B, yang kemudian akan membesar, berdiferensiasi membentuk plasmablas. Sitoplasmanya akan meluas dan *Retikulum Endoplasma* kasar akan berproliferasi dengan cepat kemudian akan membelah sehingga jumlahnya bertambah (Guyton, 1997).

4.4 Diferensial Leukosit Ikan Lele dumbo (*Clarias griepinus*) Sebelum Dan Sesudah Uji Tantang Dengan Bakteri *Aeromonas hydrophila*

4.4.1 Neutrofil

Rata-rata jumlah neutrofil ikan lele dumbo (*Clarias griepinus*) sebelum dan sesudah ujiantang bakteri *Aeromonas hydrophila* pada beberapa perlakuan disajikan pada Gambar 13 berikut ini.



Gambar 13. Pengaruh Pemberian Ekstrak Jintan Terhadap Jumlah Neutrofil Ikan Lele Dumbo Setelah Uji Tantang Dengan Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Nilai rata-rata jumlah neutrofil pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) sebelum infeksi berkisar antara 34.24 % sampai 37.07 % dan setelah dilakukan infeksi mengalami peningkatan menjadi 35.06 % sampai 37.86 %.

Menurut Anderson (1974) nilai diferensial neutrofil standar sebesar 6-8% dari proporsi leukosit yang ada. Sedangkan hasil penelitian berkisar antara 34.24% - 37.86% berada diatas kisaran standar. Hal ini diduga karena immunostimulan yang diberikan dapat meningkatkan jumlah neutrofil dalam proses inflamasi akut. Hal ini juga sesuai dengan hasil penelitian Meral et,al (2004) bahwa terjadi peningkatan jumlah neutrofil pada Kelinci meningkat jumlahnya dari 30 % menjadi 33 % setelah diberi ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*)

Hasil sidik ragam (Lampiran 3) menunjukkan bahwa nilai F hitung yaitu 23.91 berada di atas nilai F tabel 1 % (7.59). Hal ini berarti bahwa pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) sebagai immunostimulan pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) dengan konsentrasi yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap jumlah neutrofil ikan lele setelah

dilakukan ujiantang dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*, hal ini berarti menerima H1 dan menolak H0.

Hasil uji BNT (Lampiran 3) menunjukkan bahwa perlakuan C dengan konsentrasi 9 % ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) merupakan konsentrasi tertinggi yang dapat menghasilkan jumlah neutrofil ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yaitu 37.86 % setelah ujiantang dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*.

Perhitungan hasil sidik ragam regresi dan grafik kurva respon (Lampiran 3) menunjukkan persamaan yang digunakan adalah persamaan regresi linier dengan rumus $Y = 29978x + 35364$ dengan nilai $R^2 = 0.9291$ dan $r = 0.945$. Nilai R^2 yang didapatkan yaitu 0.9291 hasil ini menunjukkan bahwa 92.9 % jumlah neutrofil ditentukan oleh variabel dalam setiap perlakuan, sedangkan 7.1% dipengaruhi oleh variabel lain.

Neutrofil mempunyai granula di dalam sitoplasmanya. Granula neutrofil berwarna merah jambu atau biru dan dikelilingi oleh sitoplasma yang berwarna merah jambu muda (Price dan Lorcaine, 1984). Menurut Bijanti (2005), neutrofil merupakan fagosit kuat, yang dilakukan dengan cara mendekati partikel asing dan mengeluarkan pseudopodi ke segala arah sekitar partikel. Satu neutrofil dapat memfagosit 5 – 20 bakteri sebelum kemudian tidak aktif. Neutrofil menunjukkan aktivitas fagositik yaitu mampu menyerang dan membunuh bakteri, virus-virus dan agen-agen lain yang merugikan atau berbahaya yang menyerang tubuh. Peran utama neutrofil adalah pertahanan awal imunitas non spesifik terhadap infeksi bakteri (Vadstein, 1997).

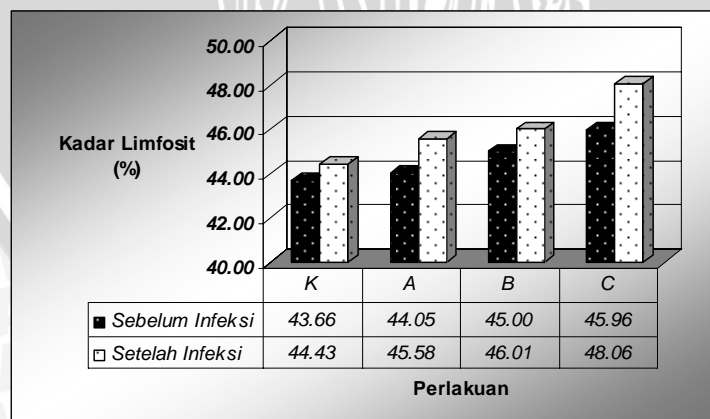
Secara umum, jumlah neutrofil pada masing-masing perlakuan mengalami peningkatan terutama pada perlakuan A yaitu dari 35.67 sebelum infeksi menjadi 36.67 setelah infeksi. Jumlah ini berada di atas standar bila dibandingkan dengan

jumlah normal neutrofil sebesar 6-8 % (Anderson, 1974). Hal ini terjadi diduga pada percobaan ini terjadi inflamasi.

Inflamasi merupakan mekanisme penting yang diperlukan tubuh untuk mempertahankan diri dari berbagai infeksi yang mengganggu keseimbangan dan juga yang dapat memperbaiki kerusakan struktur serta gangguan fungsi jaringan yang ditimbulkan oleh infeksi tersebut. Inflamasi juga merupakan reaksi terhadap benda asing yang masuk dalam tubuh, invasi mikroorganisme, trauma, bahan kimia yang berbahaya, faktor fisik dan alergi. Inflamasi ditandai oleh perpindahan cairan, protein plasma dan leukosit dari sirkulasi ke jaringan sebagai respon terhadap infeksi. Proses inflamasi akan berjalan sampai antigen dapat disingkirkan. Pada umumnya hal tersebut terjadi cepat dan berupa inflamasi akut yang berlangsung beberapa jam sampai beberapa hari (Scombes, 1996 dalam Johnny *et al*, 2003).

4.4.2 Limfosit

Rata-rata jumlah limfosit ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) sebelum dan sesudah ujiantang bakteri *Aeromonas hydrophila* pada beberapa perlakuan disajikan pada Gambar 14.



Gambar 14. Pengaruh Pemberian Ekstrak Jintan Terhadap Jumlah Limfosit Ikan Lele Dumbo Setelah Uji Tantang Dengan Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Nilai rata-rata jumlah limposit pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) sebelum infeksi berkisar antara 43.66 % sampai 45.96 % dan setelah dilakukan infeksi mengalami peningkatan menjadi 44.43 % sampai 48.06 %. Hal tersebut sesuai hasil penelitian Meral et,al (2004), menyatakan bahwa terjadi peningkatan jumlah limposit pada Kelinci, meningkat jumlahnya dari 61 % menjadi 63 % setelah diberi ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*). Marwan (2004), menyatakan bahwa semua kelompok Tikus wistar yang mendapat ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*), persentase sel limposit mengalami peningkatan.

Hasil sidik ragam (Lampiran 4) menunjukkan bahwa nilai F hitung yaitu 7.61 berada di atas nilai F tabel 5 % (4.07). Hal ini berarti bahwa pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) sebagai immunostimulan pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) dengan dosis yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap jumlah limposit ikan lele setelah dilakukan uji tantang dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*, hal ini berarti menerima H1 dan menolak H0.

Hasil uji BNT (Lampiran 4) menunjukkan bahwa perlakuan C dengan konsentrasi 9 % ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) merupakan konsentrasi tertinggi yang dapat menghasilkan jumlah limposit ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yaitu 48.06 % setelah uji tantang dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*.

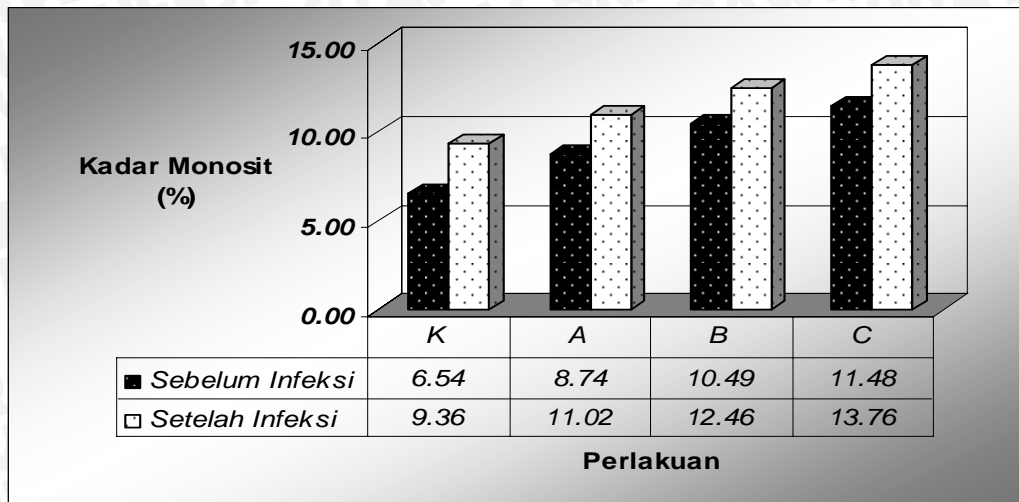
Perhitungan hasil sidik ragam regresi dan grafik kurva respon (Lampiran 4) menunjukkan persamaan yang digunakan adalah persamaan regresi linier dengan rumus $Y = 37.811x + 44.318$ dengan nilai $R^2 = 0.931$ dan $r = 0.852$. Nilai R^2 yang didapatkan yaitu 0.931 hasil ini menunjukkan bahwa 93.1 % jumlah limposit ditentukan oleh variabel dalam setiap perlakuan, sedangkan 6.9 % dipengaruhi oleh variabel lain.

Andayani (2007) menyatakan bahwa dengan immunostimulan senyawa alkaloid dalam media perendaman menyebabkan kenaikan limfosit ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) dari 60,95 – 81,55%, sedangkan hasil penelitian Esteban, Cuesta, Betuna, and Meseguer (2001) menyatakan bahwa dengan immunostimulan chitin dalam pakan menyebabkan kenaikan limfosit pada ikan kakap (*Sparus aurata* L.) dari 42% menjadi 78%. Penurunan dapat dipengaruhi oleh adanya gen asing sehingga zat kebal terganggu oleh masuknya infeksi yang menyebabkan ikan menjadi stres mengakibatkan jumlah limfosit menurun (Bijanti, 2005).

Price & Lorcaine (1984) menyatakan bahwa beberapa limfosit mampu untuk mengeluarkan sekresi zat-zat yang dapat larut, yang disebut limfokin, yang memiliki pengaruh sangat penting pada sel-sel lain dalam tubuh. Perangsangan faktor-faktor dari tubuh yang secukupnya dapat mengubah struktur sitoplasmanya untuk sintesis protein menjadi penghasil antibodi. Namun perangsangan yang tidak semestinya akan menjadi penghambat bagi limfosit untuk berdiferensiasi menjadi penghasil antibodi sehingga dapat terjadi penurunan jumlah limfosit pada darah.

4.4.3 Monosit

Rata-rata jumlah monosit ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) sebelum dan sesudah uji tantang bakteri *Aeromonas hydrophila* pada beberapa perlakuan disajikan pada Gambar 15



Gambar 15. Pengaruh Pemberian Ekstrak Jintan Terhadap Jumlah Monosit Ikan Lele Dumbo Setelah Uji Tantang Dengan Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Nilai rata-rata jumlah monosit pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) sebelum infeksi berkisar antara 6.54 % sampai 11.48 % dan setelah dilakukan infeksi mengalami peningkatan menjadi 9.36 % sampai 13.76 %

Hasil sidik ragam (Lampiran 5) menunjukkan bahwa nilai F hitung yaitu 13.83 berada di atas nilai F tabel 1 % (7.59). Hal ini berarti bahwa pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) sebagai immunostimulan pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) dengan dosis yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap jumlah monosit ikan lele setelah dilakukan uji tantang dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*, hal ini berarti menerima H1 dan menolak H0.

Hasil uji BNT (Lampiran 5) menunjukkan bahwa perlakuan C dengan konsentrasi 9 % ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) merupakan konsentrasi tertinggi yang dapat menghasilkan jumlah monosit ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yaitu 13.76 % setelah uji tantang dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*.

Perhitungan hasil sidik ragam regresi dan grafik kurva respon (Lampiran 5) menunjukkan persamaan yang digunakan adalah persamaan regresi linier

dengan rumus $Y = 48.844x + 9.4503$ dengan nilai $R^2 = 0.997$ dan $r = 0.915$. Nilai R^2 yang didapatkan yaitu 0.997 hasil ini menunjukkan bahwa 99.7 % jumlah monosit ditentukan oleh variabel dalam setiap perlakuan, sedangkan 0.3 % dipengaruhi oleh variabel lain.

Sel monosit merupakan sel mononukleus yang mempunyai perbandingan antara inti dan sitoplasma yang besar (mempunyai banyak sitoplasma). Inti sel monosit biasanya tampak seperti kacang merah atau ginjal, karena mempunyai bagian yang melekung (Sadikin, 2002). Sel monosit hanya berada dalam darah selama beberapa jam saja, untuk selanjutnya bermigrasi ke berbagai jaringan dan berubah menjadi sel dengan sitoplasma yang lebih besar, dinamai makrofag jaringan (*resident macrophage*).

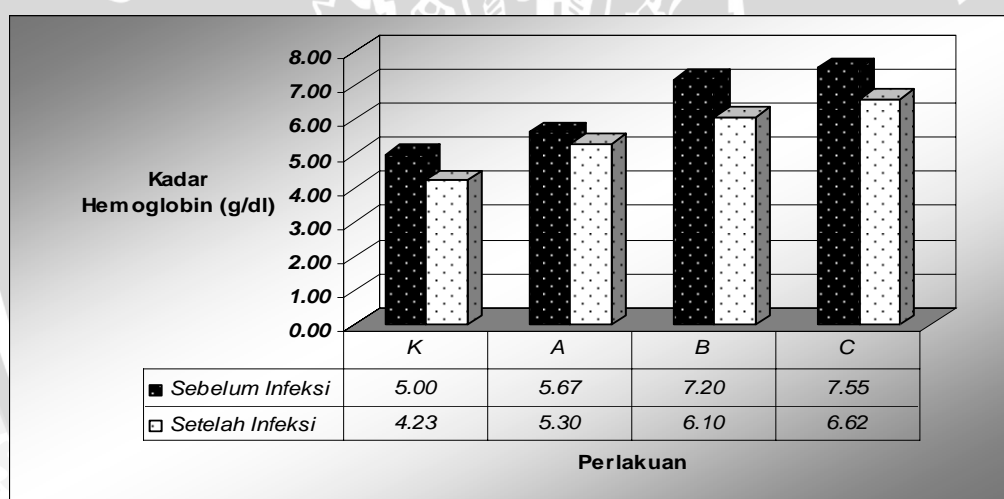
Monosit lebih kuat dibandingkan dengan neutrofil dalam memfagositosis bakteri, bahkan dapat memfagositasi partikel yang lebih besar. Karena itu, monosit matang disebut makrofag dan mampu memfagosit 100 bakteri (Fujaya, 2004). Monosit berbentuk bulat oval, intinya terletak di tengah sel dengan sitoplasmanya tidak bergranula dan meningkatnya monosit karena adanya radang (Angka, Priosoeryanto, Lay dan Harris, 2004). Monosit yang telah berkembang menjadi makrofag dapat hidup sampai bertahun-tahun akan cepat menjadi tidak aktif dan musnah setelah melakukan fagosit terhadap bakteri (Guyton dan Hall, 1987).

Peningkatan persentase monosit yang terjadi setelah uji tantang diduga disebabkan dalam tubuh ikan yang terinfeksi mendorong monosit untuk menghancurkan benda asing yang masuk. Benda asing yang dimaksud disini adalah bakteri *A. hydrophila* yang masuk ke dalam tubuh ikan yang kemudian akan difagosit oleh monosit. Monosit diduga berfungsi sebagai makrofag dan memfagosit benda-benda asing yang masuk ke dalam tubuh. Fagosit oleh monosit merupakan proses yang sama seperti pada netrofil, akan tetapi monosit

ini mampu memiliki aktifitas fagositik yang tahan lama (Tizard, 1988). Monosit yang telah berkembang menjadi makrofag dapat hidup sampai bertahun-tahun dan akan cepat menjadi tidak aktif dan musnah setelah melakukan fagosit terhadap bakteri (Guyton & Hall, 1987). Semakin banyak bakteri yang akan difagosit oleh monosit, akan mendorong monosit untuk membelah dan memperbanyak diri.

4.5 Hemoglobin Ikan Lele dumbo (*Clarias griepinus*) Sebelum Dan Sesudah Uji Tantang Dengan Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Rata-rata jumlah hemoglobin ikan lele dumbo (*Clarias griepinus*) sebelum dan sesudah uji tantang bakteri *Aeromonas hydrophila* pada beberapa perlakuan disajikan pada Gambar 16.



Gambar 16. Pengaruh Pemberian Ekstrak Jintan Terhadap Jumlah Hemoglobin Ikan Lele Dumbo Setelah Uji Tantang Dengan Bakteri *Aeromonas hidrophila*

Nilai rata-rata jumlah hemoglobin pada ikan lele dumbo (*Clarias griepinus*) sebelum infeksi berkisar antara 5.00 g/dl sampai 7.55 g/dl dan setelah dilakukan infeksi mengalami penurunan menjadi 4.23 g/dl sampai 6.62 g/dl. Hal ini sesuai yang dilakukan Zaoui, et,al (2001), menyatakan bahwa hemoglobin pada Tikus

menurun jumlahnya dari 14 gr/dl menjadi 12 gr/dl setelah diberi ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*).

Hasil sidik ragam (Lampiran 6) menunjukkan bahwa nilai F hitung yaitu 71.69 berada di atas nilai F tabel 1 % (7.59). Hal ini berarti bahwa pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) sebagai immunostimulan pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) dengan konsentrasi yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap jumlah hemoglobin ikan lele setelah dilakukan uji tantang dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*, hal ini berarti menerima H1 dan menolak H0.

Perhitungan hasil sidik ragam regresi dan grafik kurva respon (Lampiran 6) menunjukkan persamaan yang digunakan adalah persamaan regresi linier dengan rumus $Y = 26.622x + 4.3653$ dengan nilai $R^2 = 0.9766$ dan $r = 0.981$. Nilai R^2 yang didapatkan yaitu 0.9766 hasil ini menunjukkan bahwa 97.6 % jumlah hemoglobin ditentukan oleh variabel dalam setiap perlakuan, sedangkan 2.4 % dipengaruhi oleh variabel lain.

Hemoglobin merupakan senyawa yang mengikat oksigen dalam sel darah merah. Warna merah darah disebabkan oleh senyawa ini. Hb yang terbungkus pada sel darah merah merupakan tingkat perkembangan lebih lanjut dari makhluk hidup. Dalam kondisi seperti ini, faktor lingkungan yang berpengaruh terhadap Hb dapat dikurangi sekecil mungkin sehingga daya ikat Hb secara kimia dalam darah menjadi maksimum (Sadikin, 2002). Konsentrasi hemoglobin yang kurang dari nilai normal merupakan indikasi adanya gejala anemia. Nilai Hb juga terpengaruh oleh nilai sel darah merah, bila sel darah merah menurun otomatis nilai Hb juga akan menurun.

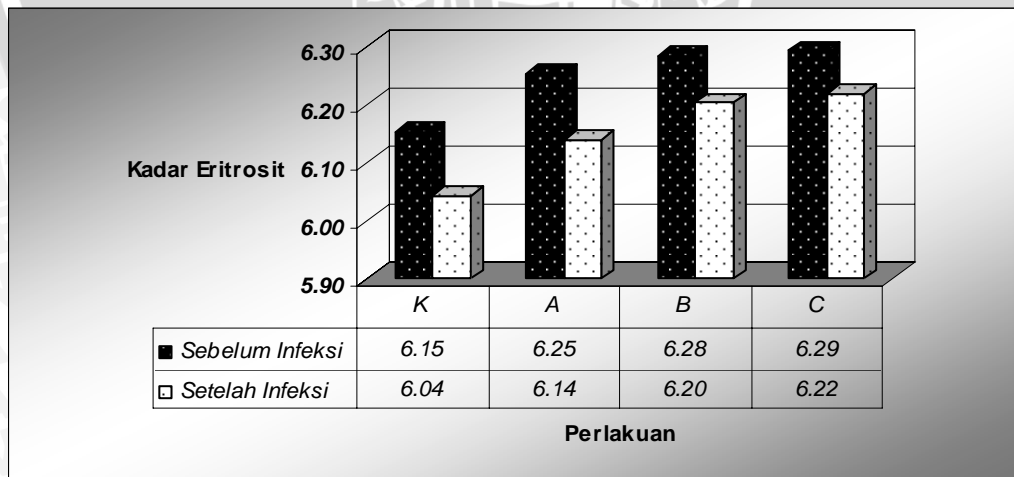
Rendahnya kadar haemoglobin pada ikan yang terinfeksi berkaitan dengan menurunnya proses oksigenasi oleh sel darah merah akibat adanya infeksi bakteri dan pendarahan. Sedangkan kadar haemoglobin pada ikan sebelum

infeksi masih tinggi karena ikan masih dalam kondisi yang baik sehingga jumlah eritrositnya masih tinggi dan mempengaruhi kadar hemoglobin. Menurunnya kadar hemoglobin pada ikan dipengaruhi oleh status kesehatan ikan dan rendahnya jumlah eritrosit. Menurut Fujaya (2004), semakin rendah jumlah sel darah merah maka semakin rendah pula kandungan hemoglobin dalam darah.

Jumlah Hb yang menurun setelah ujiantang merupakan indikasi adanya infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. Kadar hemoglobin yang menurun akan menyebabkan kemampuan untuk mengikat oksigen menjadi berkurang dan metabolisme menjadi rendah. Bila terus berlanjut akan menyebabkan kondisi ikan lemah dan kematian pada ikan (Sadikin, 2002).

4.6 Eritrosit Ikan Lele dumbo (*Clarias griepinus*) Sebelum Dan Sesudah Uji Tantang Dengan Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Rata-rata jumlah eritrosit ikan lele dumbo (*Clarias griepinus*) sebelum dan sesudah ujiantang bakteri *Aeromonas hydrophila* pada beberapa perlakuan disajikan pada Gambar 17 berikut ini



Gambar 17. Pengaruh Pemberian Ekstrak Jintan Terhadap Jumlah Eritrosit Ikan Lele Dumbo Setelah Uji Tantang Dengan Bakteri *Aeromonas hidrophila*

Nilai rata-rata jumlah eritrosit pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) sebelum infeksi berkisar antara 6.15 sel/mm³ sampai 6.29 sel/mm³ dan setelah dilakukan infeksi mengalami penurunan menjadi 6.04 sel/mm³ sampai 6.22 sel/mm³. Hal ini sesuai yang dilakukan Zaoui, et,al (2001) menyatakan bahwa eritrosit pada Tikus menurun jumlahnya dari 7.23 x 10⁶ sel/ml menjadi 7.05 x 10⁶ sel/ml setelah diberi ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*). Al-Okbi, et al (2000), menyatakan bahwa terjadi penurunan eritrosit pada pasien *rheumatoid arthritis* setelah diberi jintan hitam (*Nigella sativa*)

Hasil sidik ragam (Lampiran 7) menunjukkan bahwa nilai F hitung yaitu 115.27 berada di atas nilai F tabel 1 % (7.59). Hal ini berarti bahwa pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) sebagai immunostimulan pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) dengan konsentrasi yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap jumlah eritrosit ikan lele setelah dilakukan uji tantang dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*, hal ini berarti menerima H1 dan menolak H0.

Perhitungan hasil sidik ragam regresi dan grafik kurva respon (Lampiran 7) menunjukkan persamaan yang digunakan adalah persamaan regresi linier dengan rumus $Y = 1.9778x + 6.0627$ dengan nilai $R^2 = 0.9163$ dan $r = 0.952$. Nilai R^2 yang didapatkan yaitu 0.9163 hasil ini menunjukkan bahwa 91,6 % jumlah eritrosit ditentukan oleh variabel dalam setiap perlakuan, sedangkan 8.4% dipengaruhi oleh variabel lain.

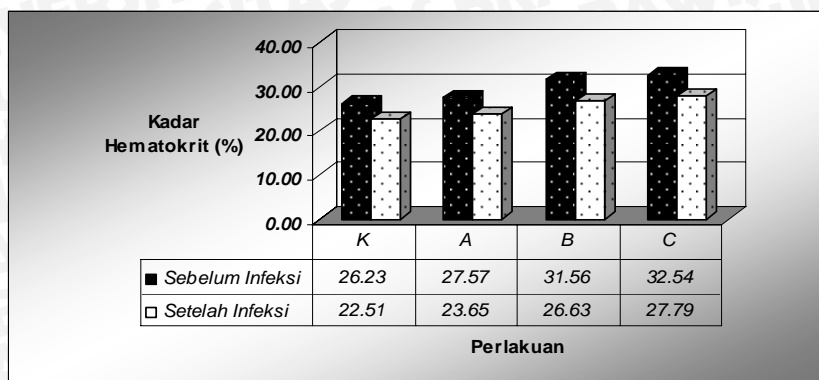
Penurunan jumlah eritrosit kemungkinan disebabkan oleh pecahnya pembuluh darah yang mengakibatkan terjadinya luka dan organ hematopoietic yang tidak dapat mengimbangi hilangnya eritrosit karena pendarahan. Irianto (2005) menyatakan kisaran sel darah merah pada ikan antara 1,05-3,0 x 10⁶ sel/ml.

Tingginya eritrosit pada ikan sebelum infeksi disebabkan karena kondisi lingkungan sesuai untuk kehidupan ikan dan tidak adanya faktor stres, sedangkan pada ikan yang diberi bakteri *A. Hydrophila* jumlah eritrositnya cenderung menurun. Pada ikan yang terinfeksi jumlah eritrositnya menurun disebabkan karena adanya benda asing yang masuk ke dalam tubuhnya sehingga jumlah eritrositnya berkurang karena tubuh harus berusaha melawan benda asing tersebut dan sel darah yang lebih banyak diproduksi adalah sel darah putih. Menurut Fujaya (2004), jumlah eritrosit setiap jenis ikan bervariasi tergantung pada spesies ikan, kondisi lingkungan, keadaan stress dan temperatur.

Sel eritrosit mempunyai komponen penyusun yang sangat banyak. Apabila tiap komponen ini mengalami gangguan, maka akan menyebabkan kerusakan dan sel eritrosit tidak dapat berfungsi sebagaimana mestinya. Tingkat kerusakan dapat terjadi pada tingkat membran dari sel itu sendiri. Keberadaan patogen ternyata juga mampu merusak membran sel eritrosit dalam kondisi akut (Sadikin, 2002). Sedangkan menurut Guyton (1997), kurangnya darah atau anemia dapat disebabkan oleh hilangnya darah yang terlalu cepat atau terlalu lambatnya produksi sel darah merah.

4.7 Hematokrit Ikan Lele dumbo (*Clarias griepinus*) Sebelum Dan Sesudah Uji Tantang Dengan Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Rata-rata jumlah hematokrit ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) sebelum dan sesudah ujiantang bakteri *Aeromonas hydrophila* pada beberapa perlakuan disajikan pada Gambar 18.



Gambar 18. Pengaruh Pemberian Ekstrak Jintan Terhadap Jumlah hematokrit Ikan Lele Dumbo Setelah Uji Tantang Dengan Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Nilai rata-rata jumlah hematokrit pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) sebelum infeksi berkisar antara 26.23 % sampai 32.54 % dan setelah dilakukan infeksi mengalami penurunan menjadi 22.51 % sampai 27.79 %. Hal ini sesuai yang dilakukan Zaoui, et,al (2001) menyatakan bahwa hematokrit pada Tikus menurun jumlahnya dari 40.99 % menjadi 39.26 % setelah diberi ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*). Meral et,al, (2004), menyatakan bahwa terjadi penurunan hematokrit pada Kelinci setelah diberi jintan hitam (*Nigella sativa*) dari 37 % menjadi 29 %.

Hasil sidik ragam (Lampiran 8) menunjukkan bahwa nilai F hitung yaitu 68.82 berada di atas nilai F tabel 1 % (7.59). Hal ini berarti bahwa pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) sebagai immunostimulan pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) dengan konsentrasi yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap jumlah hematokrit ikan lele setelah dilakukan uji tantang dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*, hal ini berarti menerima H1 dan menolak H0.

Perhitungan hasil sidik ragam regresi dan grafik kurva respon (Lampiran 8) menunjukkan persamaan yang digunakan adalah persamaan regresi linier dengan rumus $Y = 62.7333x + 22.322$ dengan nilai $R^2 = 0.9636$ dan $r = 0.980$. Nilai R^2 yang didapatkan yaitu 0.9636, hasil ini menunjukkan bahwa 96.3 %

jumlah hematokrit ditentukan oleh variabel dalam setiap perlakuan, sedangkan 3.7 % dipengaruhi oleh variabel lain.

Hematokrit adalah presentase volume seluruh sel darah merah yang ada di dalam darah yang diambil dalam volume tertentu (Sadikin, 2002). Nilai hematokrit ini berhubungan dengan jumlah sel darah merah (Bond, 1979), nilai hematokrit selalu berubah-ubah tergantung kepada faktor nutrisi dan umur (Randall, 1970). Nilai hematokrit sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain : lingkungan, jenis kelamin, spesies, dan umur ikan yang diambil darahnya. Menurut Kwang (1996) sejauh ini pemberian immunostimulan tidak mempunyai efek samping. Nilai hematokrit ini berhubungan dengan jumlah sel darah merah (Bond, 1979), nilai selalu berubah – ubah tergantung kepada faktor nutrisi dan umur (Randall, 1970)

Kondisi hematokrit yang mengalami penurunan setelah uji tantang (berbeda nyata antar kelompok sebelum uji tantang dan sesudah uji tantang), menunjukkan adanya pengaruh infeksi (*Aeromonas hydrophilla*) terhadap kondisi menurunnya jumlah hematokrit. Wedemeyer dan Yasutake (1977) menyatakan menurunnya kadar hematokrit dapat dijadikan petunjuk mengenai rendahnya kandungan protein, defisiensi vitamin atau ikan mendapatkan infeksi.

4.8 Pengamatan Kualitas Air

Selama penelitian berlangsung, pengukuran kualitas air dilakukan yang meliputi suhu ($^{\circ}\text{C}$), oksigen terlarut (DO), dan pH pada tiap wadah media pemeliharaan. Faktor-faktor tersebut turut diperhatikan selama penelitian berlangsung karena air dapat mempengaruhi kelangsungan hidup ikan itu sendiri. Selama pengamatan berlangsung suhu air berkisar antara 24.30-24.80 $^{\circ}\text{C}$, untuk DO (*Disolved oxygen*) berkisar antara 5.89 – 7.1 ppm, sedangkan

untuk pH berkisar antara 7.04 – 7.68. Data hasil pengamatan terhadap kualitas air media pemeliharaan setiap perlakuan disajikan pada lampiran 9.

Pemberian imunostimulan digunakan untuk mencegah terjadinya penyakit dan hal tersebut harus didukung dengan kualitas air yang layak untuk tumbuh dan bereproduksi secara normal. Hasil pengukuran kualitas air yang meliputi suhu, DO (oksigen terlarut), dan pH selama penelitian menunjukkan nilai yang tidak berbeda. Hal ini menunjukkan bahwa pada perlakuan yang berbeda dengan beberapa kali ulangan tidak memberikan pengaruh yang berbeda terhadap kualitas air media. Sehingga dapat dikatakan bahwa nilai kualitas air selama perlakuan adalah homogen.

Anderson *et al* (1995) dalam Alifudin (2003) menambahkan bahwa imunostimulan dapat meningkatkan produksi radikal oksidatif, aktifitas fagositosis, imunoglobulin plasma dan aman bagi ikan. Aspek keamanan dalam penggunaan imunostimulan ini merupakan hal utama yang harus diperhatikan sehingga tidak menimbulkan stress pada ikan yang dapat memicu terjadinya penyakit pada ikan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) tidak menimbulkan dampak negatif sehingga aman digunakan sebagai immunostimulan.

Anderson (1974), menyatakan bahwa ikan-ikan yang diimmunisasi pada suhu 25° C akan memproduksi antibodi secara baik, bahkan ketika dipindahkan ke suhu 12° C. Dijelaskan juga, sel-sel fagosit akan aktif melakukan fagositosis partikel asing pada suhu 21° C. Sedangkan suhu antara 18° - 21° C, partikel asing akan terikat pada permukaan sel fagosit tetapi tidak terjadi fagositosis.

Menurut Nabib dan Pasaribu (1989), bahwa kondisi suhu yang rendah cenderung memperlambat dan atau meniadakan pembentukan antibodi. Suhu di bawah suhu kritis mengakibatkan reaksi kekebalan tidak dapat berkembang. Pernyataan ini sependapat dengan Ellis (1988) yang mengatakan bahwa, reaksi

pembentukan antibodi spesifik akan lebih cepat bila ikan dipelihara pada suhu 28° C dari pada suhu 15° C. Dari hasil pengamatan suhu air selama penelitian sangat menunjang untuk proses pembentukan tanggap kebal non-spesifik ikan, yakni antara 24.30-24.80°C.

pH air media mempunyai peranan dalam meningkatkan proses fagositosis. pH air media selama penelitian berada pada kisaran nilai antara 7.04 – 7.68. Menurut Volk and Wheeler (1993), bahwa konsentrasi ion hidrogen larutan sangat mempengaruhi aktivitas suatu enzim. Hal ini karena asam amino yang merupakan pusat aktif enzim harus berada dalam keadaan ionisasi yang tepat agar menjadi aktif. Enzim hanya dapat bekerja secara baik dengan aktivitas yang maksimum bila kondisi pH optimal antara 6 – 8.



V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) sebagai immunostimulan terhadap hematologi ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) setelah uji tantang dengan bakteri *Aeromonas hydrophila* dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Berdasarkan pengamatan hematologi dan analisis regresi menunjukkan bahwa ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) merupakan bahan yang potensial untuk digunakan sebagai agen immunostimulan pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* karena terbukti dapat meningkatkan jumlah sel darah putih dan diferensial leukosit yang sangat berperan dalam respon imun non-spesifik.
2. Perlakuan tertinggi adalah perlakuan C (konsentrasi 9 %) dengan jumlah sel darah putih (leukosit) sebelum uji tantang 25516.67 sel/mm³ dan sebesar 97243.33 sel/mm³ setelah uji tantang.
3. Aktivitas immunostimulator ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) pada benih ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) meliputi peningkatan jumlah sel darah putih (leukosit) terutama neutrofil, limfosit dan monosit serta ketahanan terhadap infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* yang ditunjukkan dengan tingkat kelangsungan hidup yang tertinggi mencapai 90 %.

5.2 Saran

Ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dapat digunakan sebagai immunostimulan dan perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan menaikkan konsentrasi untuk mengetahui konsentrasi terbaik serta pengaruhnya terhadap parameter lain seperti pertumbuhan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 2005. **Basic Technique In Fish Haematology**.
http://www.equalex.org/elearning/fish_haematology/english
- _____. 2007. **Health Library. Full Blood Count**.
- _____. 2008. **Lele**. Diakses tanggal 19 Januari 2009.
<http://diskan.jabarprov.go.id/images/galeri/Lele.JPG>
- Afrianto, E., dan E. Liviawaty. 1992. **Pengendalian Hama Dan Penyakit Ikan**. Penerbit Kanasius. Yogyakarta. 89 hal
- Akhtar M.S., dan Riffat S. 1991. **Field Trial of Saussurea Lappa Roots Against Nematodes and *Nigella sativa* Seed Againsts Cestodea in Children**. J. Pakistan Med Assoc ; 41 (8). 185-187 p.
- Aksoy A., S. Turkey, M. Tuter, G. dan Ustun. 2001. **Investigation of Substrate Selectivity of *Nigella sativa* Seed lipase (S)**. Chemical Engineering department. Istambul Teknik University. Turkey. 134 p 161-171
- Al-Jassir, M.S. 1992. **Chemical Composition of Black Cumin (*Nigella sativa*) Seed Growing in Saudi Arabia Food Chemistry**. Saudi Arabia. 239-242 p.
- Alifuddin, M. 2003. **Pencegahan Dan Pengobatan Penyakit Ikan**. Jurusan Budidaya Perairan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. IPB. Bogor. 89 hal
- Andayani, S. 2007. **Pengaruh Bioaktif Alkaloid Ubur-ubur (*Bougainvillia* sp) sebagai Immunostimulan Terhadap Aktifitas Bakterisida, Respon Immun Non Spesifik serta Kelulushidupan (RPS) Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*)**. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang. 135 hal
- Anderson, dan Douglas P. 1974. **Fish Immunology**. Diseases Of Fishes. T.F.H. Publications, Inc, Ltd. 218 hal
- _____.1992. **Immunostimulants, Ajuvants, and Vaccine Carriers in Fish: Applications to Aquaculture**. *Annual. Rev. of Fish Diseases*. 254 hal
- Angka S. L., BP. Priosoeryanto, BW. Lay dan E. Harris. 2004. **Penyakit *Motile Aeromonas Septicaemia* Pada Ikan Lele Dumbo**. Forum Pasca Sarjana Vol. 27. Hal : 339-350
- Arif, A. 2005. **Mukjizat Kesembuhan Dalam Jintan Hitam, Madu, Bawang Putih Dan Bawang Merah**. Al-Qowam. Solo. 42 hal
- Aviesiena., 2000. **Primary Properties Of Black Seed**. On Line. [http : // www. Blacksedusa.com/black.seed.htm](http://www.Blacksedusa.com/black.seed.htm). Diakses 14 februari 2009. 11 (6)

- Bellanti, Joseph A, Kadlec, dan Josef V. 1993. **Immunologi Umum**. Imunologi III. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 647 hal.
- Bijanti, R. 2005. **HEMATOLOGI IKAN (Teknik Pengambilan Darah Dan Pemeriksaan Hematologi Ikan)**. Bagian Ilmu Kedokteran Dasar Veteriner. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya. 31 hal
- Bond, 1979. **Biology of Fishes**. W.R Saunders, Philadelphia, London Toronto. 147 hal
- Buchanan, R.E., dan Gibbons, N.E. 1974. **Gram Negative Facultatively Anaerobic Rods**. In: Shewan, J.M., and M. Veron. *Bergey's Manual Determinative Bacteriology*. William and Wilkins Baltimore. USA. Page 290-350.
- Bullock, G.L. D. A. Conroy and S.F. Sniezko. 1971. **Bacterial Disease of Fish**. TF.H. Publication . England.145 p.
- Cipriano, and Rocco C. 2001. ***Aeromonas Hydrophila And Motile Aeromonad Septicemias of Fish***. Fish and Wildlife Service Division of Fishery Research Washington, D. C. 20-240
- Dalimunthe, S. 2006^a. **Diktat Kuliah Manajemen Penyakit Ikan. Laboratorium Parasit Dan Penyakit Ikan**. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang. 77 hal
- _____. 2006^b. **Penuntun Praktikum Parasit Dan Penyakit Ikan. Laboratorium Parasit Dan Penyakit Ikan**. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang. 56 hal
- Dugencie, S.K., Arda, N and Candan, A. 2003. **Some Medicinal Plants As Immunostimulant For Fish**. *Journal of Ethnopharmacology* (88) : 99-106p.
- Dwidjoseputro, D. 1987. **Dasar-Dasar Mikrobiologi**. Penerbit Djambatan. Jakarta. 215 hal.
- _____.1998. **Dasar-Dasar Mikrobiologi**. Penerbit Djambatan. Jakarta. 214 hal.
- Dzen, M Sjoekoer., dan Roekistiningsih. 2003. **Bakteriologi Medik**. Tim Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Malang. 375 hal
- Effendi, 1979. **Biologi Perikanan Bagian I**. Study Natural Hystory. Fakultas Perikanan Institut Pertanian Bogor. Bogor. 147 hal
- Effendi, dan Zukesti. 2003. **Peranan Leukosit Sebagai Anti Inflamasi Alergik Dalam Tubuh**. Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara. USU digital library. 98 hal

- El-Fataty, H.M. 1975. **Isolation and Structure Assignment of an Antimicrobial Principle From The Volatile Oil of *Nigella sativa* L. Seeds.** Pharmazie. 109-11
- El-Kadi, A., Kandil, O., 1986. **Effect Of *Nigella sativa* (The Black Seed) on Immunity.** Proceedings of The 4th International Conference on Islamic Medicine, Bull. Islamic. Med., Kuwait : 4; 344-8
- Ellis, A.E., 1988. **Fish Vaccination.** (Eds.Ellis, A.E.) P 1-19.Academic Press.Harcourt Brace Jovanovich, Publishers London : 225.
- 1999. **Immunity to Bacteria in Fish.** Journal of Fish and Shellfish Immunology. 209 hal
- Esteban, M. A. , Cuesta, A., Betuna, J and J. Meseguer. 2001. **Immunomodulatory Effects of Dietary Intake of Chitin on Gilthead Seabream (*Sparus aurata* L) Innate Immune System.** J. Fish and Shellfish Immunology. Vol 11. 303-313p.
- Fange, R. 1994. **Blood cells, Haemopoiesis and lymphomyeloid Tissues in Fish.** Journal of Fish dan Shellfish Immunology. Academic Press. 269-273
- Febriani, 2004. **Studi Pemanfaatan Khamir Laut Sebagai Sumber Protein Nabati Dalam Pakan Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) Dan Ikan Patin (*Pangasius sp*).** Prosiding Seminar Nasional Penanggulangan Hama Dan Pnyakit Ikan 18-19 Mei. Purwokerto
- Fujaya, Y. 2004. **Fisiologi Ikan.** Dasar Pengembangan Teknik Perikanan. Penerbit Rineka Cipta. Jakarta. 179 hal
- Galindo, V.J. and Hosokawa, H. 2004. **Immunostimulants: Toward Temporary Prevention of Diseases in Marine Fish.** Kochi University, Faculty of Agriculture. Laboratory of Fish Nutrition B200 Monobe, Nankoku, Kochi 783-8502 JAPAN. Hal 279-319
- Gandasoebrata, R. 1985. **Penuntun Laboratorium Klinik.** PT Dian Rakyat. Anggota IKAPI. Jakarta. 177 Hal
- Gasperz, V. 1991. **Metode Perencanaan Percobaan.** CV. Armico. Bandung. 472 hal
- Guyton,A.C., dan John E.H.1987. **Buku Ajar Fisiologi Kedokteran.** Alih Bahasa: Irawati S., LMA Ken A.T., dan Alex S. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. Hal 543-553.
- Guyton, A.C., and Hall, J.E. 1997. **“White Blood Cells and Chematactic Attraction”.** Texbook of Medical Physiology, 9th d. P. 434
- Haq, A., Lobo PI, Al-Tufail M, Rama NR and Al-sedairy, ST. 1999. **Immunomodulatory Effect of *Nigella sativa* Proteins Fractionated by Ion Exchange Chromatography.** Int J Immunopharmacol : 21:283-95

- Hanafy, MS., and Hatem, ME. 1991. **Studies on The Antimicrobial Activity of *Nigella sativa* Seed (black cumin)**. J Ethnopharmacol; 34:275-8
- Hayes. 2000. ***Aeromonas hydrophila***. Oregon State University. <http://hmsc.oregonstate.edu/classes/MB492/hydrophilahayes>
- Hendrik, H. 2007. **Habbatus Sauda'. Tibbun Nabawiy S.A.W Dalam Menangani Berbagai Penyakit Dan Memelihara Kesehatan Tubuh**. Penerbit Pustaka Al-Ummat. Surakarta. 192 hal
- Irianto, A., 2005. **Patologi Ikan Teleostei**. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.256 hal.
- Jawetz, E., Melnik J.L., and Adelberg, E.A. 1980. **Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan**. Edisi 14. Alih bahasa; G. Bonang . EGC Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta. 753 hal
- Johnny dan Roza, 2004. **Peningkatan Kekebalan Larva Ikan Kerapu Bebek (*Cromileptes altivelis*) Dengan Menggunakan Immunostimulan Terhadap Infeksi VNN**. Prosiding Seminar Nasional Penanggulangan Hama Dan Pnyakit Ikan 18-19 Mei. Purwokerto. Hal 11-15
- Johnny, F., Zafran, D. Rona, dan K. Mahardika. 2003. **Hematologi Beberapa Spesies Ikan Laut Budidaya**. dalam Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia. Edisi Aquakultur. Badan Riset Kelautan Perikanan dan Departemen Kelautan dan Perikanan. 9 (4)
- Kasule, D.H. 2000. **Prophetic Medicine: Between The Nash And Emperical Experience**. Diakses Pada Tanggal 28 November 2008 <http://www.rbh.nthames.nhs.uk.com>
- Katzer, G. 2006. ***Nigella sativa***, (online), Diakses Tanggal 28 November 2008 http://www.uni-graz.at/~katzer/engl/Nige_sat.htm,
- Khairuman, SP dan Amri, K. 2006. **Budidaya Lele Dumbo Secara Intensif**. PT Agromedia Pustaka. Jakarta. 89 hal
- Kwang L. C. 1996. **Immune Enhancer in The Control of Desease in Aquaculture**. Encap Technology Pte Ltd, Singapore. 99-128.
- Mac Arthur, J.I and T.C. Fletcher. 1985. **Phagocytosis In Fish**. In Fish Immunology. Academic Press. London. 226-30
- Mahyuddin, K. 2008. **Panduan Lengkap Agribisnis Lele**. Penebar Swadaya. Jakarta. 168 hal
- Makmuryanto, D. 2005. **Efektivitas Penggunaan Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Vibrio harveyi* Secara In Vitro**. Skripsi. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang. 105 hal

- Marwan. 2004. **Pengaruh Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Terhadap Kadar GSH, MDA, Jumlah Serta Fungsi Sel Magrofag alveolar patu Tikus Wistar Yang Dipapar asap Rokok Kronis**. Tesis. Program Studi Biomedik. Minat Anatomi Histologi Kedokteran. Program Pascasarjana. Universitas Brawijaya. Malang. 136 hal
- Meral, I., N. Donmez, and B. Baydas. 2004. **Effect of *Nigella sativa* L. On Heart Rate and Some Haematological Values of Alloxan-induced Diabetic Rabbits**. Faculty of Veterinary Medicine. Yuzuncu Yil University. Turkey. 7-53
- Miyazaki, T. And Jo, Y. 1985. **A Histopathological Study on Motile *Aeromonad* Disease in Ayu**. Fish Pathology. Edisis 20: halaman 55-59
- Murdjani, M., Y. L. Nur'Aini, dan G. Triastutik. 2003. **Hama Penyakit Ikan dan Udang Pada Usaha Pembenihan**. BBAP. Situbondo. 17 hal.
- Nabib, R. dan F. H. Pasaribu. 1989. **Patologi dan Penyakit Ikan**. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jendral Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor. 158 hal.
- Najiyati, S. 2007. **Memelihara Ikan Lele Dumbo Di Kolam Taman**. Penebar Swadaya. Jakarta. 83 hal
- Nazir., 1988. **Metode Penelitian**. Penerbit Ghalia. Jakarta. 662 hal.
- Pelczar, M. J. dan E.C.S. Chan. 1988. **Dasar-dasar Mikrobiologi**. Jilid 2. Penerjemah : Hadioetomo. UI Press. Jakarta. 997 hal.
- Puspowardoyo, H dan Djariah, A.S. 2002. **Pembenihan Dan Pembesaran Lele Dumbo Hemat Air**. Penerbit Kanasius. Yogyakarta. 109 hal
- Prajitno, A. 2007. **BAKTERI. Penyakit Ikan – Udang**. Penerbit Universitas Negeri Malang (UM press). Malang. 115 hal
- Price, S., A., dan Lorcaine, M. W. 1984. **Patofisiologi Konsep Klinik Proses-Proses Penyakit** ; Alih bahasa : A. Dharma. Edisi 2, Bag I. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 225-229
- Raa, J. 2000. **The Use of Immune-Stimulants in Fish and Shellfish Feeds. Avances en Nutricion Acuicola V**. Memoras del V Simposium Internacional de Nutricion Acuicola. 19-22 Nopember 2000. Merida, Yucatan. Mexico. 63-7
- Randall D. J. 1970. **The Circulatory System**. In Fish Physiology ed: W.S Hoar, D.J Randall. Vol 4 London Academic Press p: 133-172.
- Ruangpan dan Kitio. 1992. **Laboratory Manual of Standardized Methods for Antimicrobial Sensitivity Test for Bacteria Isolated from aquatic Animals and Environment**. SEAFDEC Aquaculture Department. 55p
- Rustidja. 1997. **Kromosom Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Polyploid**. Fakultas perikanan Universitas Brawijaya. Malang. 68 hal

- Sadikin, H.M. 2002. **Biokimia Darah**. Cetakan I. Widaya Medika. Jakarta. 127 hal.
- Sakai, M. 1999 **Current Research Status of Fish Immunostimulants**. *Aquaculture* 172:63-92.
- Salomi M.J., Nair S.C., and Pannikar K.R. 1991. **Inhibitory Effect of *Nigella sativa* and Saffron (*Crocus sativus*) on Chemical Carcinogens in Mice**. *Nutr Cancer*. 226-7
- Salem, M.L. 2005. **Immunomodulatory And Therapeutic Properties of The *Nigella sativa* L. Seed**. Department of surgery, Section of Surgical Oncology, Medical University of south Carolina. Charleston. United State. 5 (2005) 1749-1770
- Shao, Z. J. Liu. J and L. X. Xiang. 2004. ***Aeromonas hydrophila* Induces Apoptosis in *Carasius auratus* Lymphocytes In Vitro**, *J. Aquaculture*, 229. 11-23p.
- Soetomo, H.A. 1987. **Teknik Budidaya Ikan Lele Dumbo**. Penerbit C.V."SINAR BARU". Bandung. 89 hal
- Sulaiman, S. 2008. **Hidup Sehat Dengan Habbatus Sauda'**. Al-Qowam Publishing. Solo. 117 hal
- Sunardi. 2008. **Pilih Resep Nabi Atau Resep Dokter?** PT Aqwam Media Profetika. Solo. 127 hal
- Susanto, H. 1988. **Budidaya Ikan Lele**. Penerbit Kanasius. Yogyakarta. 132 hal
- Suyanto. 2006. **Budidaya Ikan Lele**. Penerbit PT. Penebar Swadaya. Jakarta. 16 hal
- Tissera, MHA., Srikanthi, DG., and Serasinghe, P. 1996. **Effective Reduction of Serum Cholesterol by Baraka Oil (Oil of *Nigella sativa*)**. *Explanka Baraka Medical Journal*. 8-10
- Tizard. 1988. **Pengantar Immunologi**. Veteriner. Airlangga University Press. 497 hal
- Tumar. 2006. **Efektifitas Penggunaan Ekstrak Jinten Hitam (*Nigella sativa*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Aeromonas hydrophila* Secara In Vitro**. Skripsi. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang. 87 hal
- Urien, S. 1995. **Microfarm-K, A Microcomputer Interactive Program for Analysis and Simulation of Pharmacokinetics Process**. *Pharmacol. Res.* 12: 1225-30
- Vadstein, Olav. 1997.. **The use of immunostimulation in Marine Larviculture : Possibilities and Challenges Aquaculture**, Elsevier. 1-11
- Volk, W. A. And M. F. Wheeler. 1993. **Mikrobiologi Dasar**. Alih Bahasa : Markham. Edisi V. Penerbit Erlangga. Jakarta. 396 hal

Wedemeyer G.A dan Yasutake WT 1977. **Clinical Methods for the Assesment of the Effect Environmental Stress on Fish Health. Technical Papers of the U.S. Fish and Wildlife Service.** Us. Departement of the Interior 89:1-18.

White, R. 1991. **Diagnosis of *Areomonas hydrophila* Infection in Fish.** <http://www.addl.purdue.edu/newsletters/1991/aeromonas.html>. Diakses 1 Agustus 2006.

Wikipedia. 2007. **Sel Darah Putih.** Ensiklopedia Bebas Berbahasa Indonesia. http://id.wikipedia.org/wiki/sel_darah_putih. Diakses pada tanggal 19 Januari 2009

_____. 2006. **Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa*).** Diakses tanggal 28 November 2008. http://wikipedia.org/wiki/biji_jintan_hitam

Yitnosumarno, S. 1993. **Percobaan “Perancangan, Analisis dan Interpretasinya”.** PT.Gramedia Pustaka Utama, Jakarta. 133 hal

Yuniar F dan Tim Agriminakultura. 2008. **Bisnis Dan Budidaya Lele Dumbo Dan Lokal.** PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 121 hal

Yuniarti, T. 2008. **Ensiklopedia Tanaman Obat Tradisional.** Diterbitkan Oleh MedPress (Anggota IKAPI). Yogyakarta. 439 hal

Zaoui, A. Cherrah, Y. Alaoui, K. Mahassine, N. Amarouch, H dan Hassar, M 2001. **Effect of *Nigella sativa* Fixed Oil on Blood Homeostatis in Rat.** Morocco. Journal of Ethnopharmacology 79 (2002) 23–26

