



**IMUNOGENISITAS KOMBINASI VAKSIN INAKTIF *WHOLE CELL*
Aeromonas salmonicida DAN JINTAN HITAM (*Nigella sativa*)
PADA IKAN MAS (*Cyprinus carpio*)**

Nur` Ani Okta Trilia^{*†}, Agus Setyawan[‡], Y.T. Adiputra[‡] dan Wardiyanto[‡]

ABSTRAK

Furunculosis dan *carp erythrodermatitis* merupakan penyakit pada ikan yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas salmonicida*. Vaksin inaktif *whole cell A. salmonicida* saat ini sedang dikembangkan untuk menanggulangi penyakit tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui imunogenisitas kombinasi vaksin inaktif *whole cell A. salmonicida* dengan imunostimulan dari jintan hitam (*Nigella sativa*) pada ikan mas (*Cyprinus carpio*). Sebanyak 180 ekor ikan mas dimasukkan kedalam 18 akuarium dengan 6 perlakuan yang berbeda dan diulang sebanyak 3 kali. Perlakuan yang dilakukan terdiri dari kontrol (tanpa vaksin dan jintan hitam), pemberian jintan hitam 5%, pemberian vaksin, vaksin yang ditambah jintan hitam 1%, vaksin yang ditambah jintan hitam 2.5%, vaksin yang ditambah jintan hitam 5%. Vaksin diberikan dengan cara penyuntikan secara intraperitoneal dengan kepadatan bakteri 10^7 sel/ikan dan jintan hitam diberikan melalui pakan sebanyak tiga kali dalam sehari. Pengambilan contoh darah ikan untuk diuji titer antibodi, total leukosit, dan hematokrit ikan dilakukan saat sebelum vaksinasi, 7 hari setelah vaksinasi, dan 7 hari setelah *booster*. Hasil penelitian menunjukkan kombinasi vaksin inaktif *whole cell A. salmonicida* yang ditambah jintan hitam 5% mampu meningkatkan titer antibodi ikan hingga 2^7 dibandingkan kontrol yang hanya meningkat hingga 2^5 dan tanpa jintan hitam yang hanya meningkat hingga 2^4 , kombinasi ini juga mampu meningkatkan jumlah leukosit pada ikan dengan rendahnya nilai hematokrit dan mampu mengembalikan kondisi tubuh dalam keadaan seimbang dalam waktu 7 hari.

Kata kunci : *A. salmonicida*, vaksin inaktif, jintan hitam, imunostimulan, ikan mas

Pendahuluan ikan mas (*Cyprinus carpio*). Ikan mas Ikan air tawar yang umum dikonsumsi dikenal sebagai komoditas yang dan dibudidayakan di Indonesia yaitu berprospek cerah, karena memiliki

* Mahasiswa Jurusan Budidaya Perairan Fakultas Pertanian Universitas Lampung

† Email : Moeslimanee@yahoo.com

‡ Dosen Jurusan Budidaya Perairan Fakultas Pertanian Universitas Lampung Jl. Prof. Soemantri Bojonegoro Gedong Meneng No.1 Bandar Lampung 35145

harga jual yang tinggi, selain itu ikan mas juga memiliki pertumbuhan yang relatif cepat, fekunditas dan sintasan yang tinggi, dapat diproduksi secara massal serta memiliki peluang pengembangan skala industri (Cahyono, 2002).

A. salmonicida merupakan bakteri penyebab penyakit *furunculosis*. Akibat dari serangan bakteri *Aeromonas* sp. yang diantaranya adalah *A. salmonicida* di Indonesia pada akhir tahun 1980 terjadi kematian ikan mas sebanyak 125 ribu ekor di daerah budidaya di Jawa Barat. Kejadian tersebut menyebabkan penurunan produksi dan kerugian berkisar 4 milyar rupiah (Anonim, 2007).

Hingga kini, metode yang banyak digunakan untuk menanggulangi penyakit pada ikan budidaya adalah pengobatan dengan zat kimia atau antibiotik. Penggunaan antibiotik yang berlebihan dapat menyebabkan bakteri menjadi resisten. Untuk menghindari hal tersebut, resisten ketahanan tubuh perlu dilakukan dengan vaksinasi.

Vaksinasi merupakan suatu upaya untuk menimbulkan ketahanan tubuh yang bersifat spesifik melalui pemberian vaksin. Pengembangan vaksin inaktif *whole cell Aeromonas salmonicida* pada ikan mas telah dilakukan di Jurusan Budidaya Perairan Unila. Hasil penelitian menunjukkan vaksin tersebut memiliki imunogenisitas yang cukup tinggi pada ikan mas yang ditunjukkan dengan titer antibodi yang mencapai 2^7 (Setyawan dkk., 2012).

Namun, penggunaan vaksin saja dalam meningkatkan kekebalan tubuh ikan dirasakan kurang maksimal, karena vaksin hanya meningkatkan ketahanan humoral dan hanya efektif pada agen patogen yang spesifik. Maka dari itu, selain penggunaan vaksin, untuk

menambah kekebalan tubuh ikan secara maksimal dapat dilakukan dengan pemberian imunostimulan. Imunostimulan adalah suatu zat yang termasuk dalam adjuvant, mempunyai kemampuan untuk meningkatkan ketahanan tubuh terhadap infeksi. Salah satu sumber imunostimulan adalah jintan hitam (*Nigella sativa*). Biji dari jintan hitam telah diuji pada hewan dan manusia memiliki kemampuan anti bakteri, anti hipertensi, dan antihelmintik. El-Kadi and Kandil (1986) melaporkan bahwa ekstrak jintan hitam 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%. Aktivitas immunostimulator ekstrak jintan hitam meliputi peningkatan jumlah sel darah putih (leukosit) terutama neutrofil, limfosit dan monosit serta ketahanan terhadap infeksi bakteri *Aeromonas*. Kemampuan anti bakteri ekstrak jintan hitam juga dilaporkan oleh (Ali *et al.*, 2007). Ekstrak jintan hitam merupakan bahan yang potensial untuk digunakan sebagai agen imunostimulan pada ikan lele dumbo yang terinfeksi *A. hydrophila* karena terbukti meningkatkan jumlah sel darah putih dan diferensial leukosit yang berperan dalam respon *immune nonspesifik*. Kombinasi antara vaksin inaktif *A. salmonicida* dan jintan hitam diharapkan ikan akan memiliki imunitas atau kekebalan tubuh secara maksimal terhadap berbagai macam infeksi patogen khususnya infeksi *A. salmonicida*.

Bahan dan Metode

Penyediaan bahan

Isolat bakteri *A. salmonicida* didapatkan dari Stasiun Karantina Ikan dan Penjaminan Mutu Hasil Perikanan Kelas I Panjang, Bandarlampung. Sedangkan ikan mas sebagai ikan uji diperoleh dari petani ikan di Kecamatan Pagelaran, Kabupaten Pringsewu.

Pembuatan vaksin inaktif A. salmonicida

Pembuatan vaksin inaktif *A. salmonicida* dengan cara mengkultur Isolat bakteri *A. salmonicida* pada media cair TSB, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Dilakukan pengkayaan dengan memindahkan inokulum *A. salmonicida* ke media TSA lalu diinkubasi kembali selama 24 jam pada suhu ruang. Bakteri *A. salmonicida* dipanen kemudian diinaktifasi dengan penambahan formalin 1% dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Untuk menghilangkan formalin dalam inokulum Dilakukan pencucian menggunakan PBS kemudian disentrifuse dengan kecepatan 4000 rpm selama 1 jam, untuk memastikan bakteri sudah inaktif, dilakukan uji viabilitas pada medium spesifik GSP dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang hingga bakteri tidak tumbuh lagi. Kepadatan vaksin in-aktif dihitung dengan spektrofotometer. UV-spektrofotometer ($\lambda=625$ nm) dengan mengacu larutan standar Mc Farland. Vaksinasi ikan dilakukan dengan tiga metode suntik (10^7 cfu/ikan).

Pembuatan pakan yang ditambah dengan jintan hitam

Pembuatan pakan yang ditambah dengan jintan hitam dengan cara menimbang pakan sesuai bobot ikan dengan FR 2% jintan hitam dicampurkan merata ke dalam pakan menggunakan putih telur sebagai

perekat dengan dosis jintan hitam yang digunakan pada penelitian ini yaitu: 1% jintan hitam /kg pakan, 2,5% jintan hitam /kg pakan, dan 5% jintan hitam /kg pakan. Pakan bercampur jintan hitam diberikan pada ikan mas setiap hari selama pemeliharaan dengan frekuensi pemberian pakan sebanyak 3 kali sehari yaitu pada pukul 08.00, 12.00, dan 16.00. Pakan yang diberikan sesuai perlakuan pada masing-masing akuarium.

Vaksinasi

Vaksinasi dilakukan dalam 5 perlakuan yaitu, kontrol, pemberian vaksin + jintan hitam 1%, pemberian vaksin + jintan hitam 2,5%, pemberian vaksin + jintan hitam 5%, pemberian jintan hitam 5%, dan pemberian vaksin saja. Pemberian vaksin dengan metode suntik (10^7 cfu/ikan) secara intrapetional. Tujuh hari setelah vaksinasi pertama, dilakukan penguatan (booster) vaksinasi dengan metode dan dosis yang sama. Selama vaksinasi, ikan dipelihara dalam akuarium dan diberi makan menggunakan *Feeding Rate* 2% pemberian pakan tiga kali sehari. Kualitas air selama pemeliharaan dijaga agar masih dalam kisaran normal untuk budidaya ikan mas. Pada saat sebelum vaksinasi, 7 hari sesudah vaksinasi, dan *booster* dilakukan uji titer antibodi, hematokrit, dan total leukosit pada ikan untuk mengetahui imunogenisitas pada ikan.

Titer Antibodi

Pengukuran titer antibodi bertujuan untuk menentukan jumlah antibodi yang dihasilkan akibat vaksinasi. Pengujian dengan metode aglutinasi mengacu pada prosedur standar mikroaglutinasi (Roberson, 1990) dengan sedikit modifikasi secara lengkap. Serum yang ada diambil dengan mikropipet secara hati-hati sehingga tidak tercampur lagi

dengan sel dara. Serum @ 25 ml dimasukkan kedalam sumuran 1 dan 2. PBS @ 25 ml dimasukkan kedalam sumuran 2 – 12. Sumuran kedua direpipeting untuk mengencerkan serum, kemudian dilanjutkan ke sumuran 3 sampai 11. Ag @ 25 ml dimasukkan kedalam sumuran 1 – 12. *mikrodiluton plate* digoyang – goyangkan selama 3 menit dengan pola membentuk angka 8. Hasil titer diinkubasi dalam refrigerator selama 1 malam. Dilakukan pengamatan reaksi aglutinasi pada masing – masing sumur. yang di tandai dengan adanya kabut wara keruh/putih atau dot yang menyebar ke seluruh sumuran yang berarti antibodi telah terbentuk.

Total Leukosit

Perhitungan total leukosit dilakukan dengan cara bilik hitung *haemocytometer* dan kaca penutupnya dibersihkan dengan etanol, kemudian dipasang kaca penutup pada *haemocytometer*. Sampel darah dihisap dengan pipet berskala sampai 0,5 dilanjutkan dengan menghisap larutan turk sampai skala 11 (pengenceran 1:20), kemudian digoyangkan selama 3 menit agar bercampur homogen. Empat tetesan pertama dibuang, tetesan berikutnya dimasukan ke dalam *haemocytometer* dengan meletakkan ujung pipet pada bilik hitung tepat batas kaca penutup dan dibiarkan selama 3 menit agar leukosit mengendap dalam bilik hitung. Bilik hitung diletakkan di bawah mikroskop menggunakan pembesaran lemah. Penghitungan dilakukan pada 4 kotak besar *haemocytometer*.

Hematokrit

Sampel darah dimasukkan kedalam tabung hematokrit sampai kira-kira 4/5 bagian tabung, ujungnya (bertanda merah) disumbat dengan kretoseal.

Sentrifusi dengan sentrifuse hematokrit selama 15 menit dengan kecepatan 3.500 rpm. Pengukuran kadar hematokrit dilakukan dengan membandingkan volume padatan sel darah dengan volume seluruh darah pada skala hematokrit.

Hasil dan Pembahasan

Pada dasarnya vaksinasi adalah memasukkan antigen kedalam tubuh ikan yang sudah dihilangkan patogenisitasnya untuk merangsang sel-sel limfosit sehingga menimbulkan ketahanan humoral (spesifik). Antigen yang digunakan adalah antigen H, yaitu melemahkan bakteri *A. salmonicida* menggunakan formalin untuk menghasilkan vaksin inaktif bakteri *A. salmonicida*. Sebelum dilakukannya penelitian ini, telah dilakukan penelitian oleh Setyawan dkk. (2012) mengenai vaksin inaktif bakteri *A. salmonicida* yang hasilnya mampu meningkatkan titer antibodi pada ikan mas. Namun, dalam penelitian tersebut hanya mengamati respon imun adaptif saja yang diindikasikan dengan nilai titer antibody mencapai 2^7 . Penambahan immunostimulan jintan hitam dalam penelitian ini terbukti efektif meningkatkan respon imun ikan mas, baik respon imun adaptif dengan titer antibody 2^7 maupun respon imun innate dengan peningkatan total leukosit $5,7 \times 10^3 \text{ sel/mm}^3$ dan hematokrit antara 21%-44%.

Titer Antibodi

Hasil rata-rata titer mengalami peningkatan setiap minggunya, dari sebelum vaksinasi hingga sesudah vaksinasi II (*booster*). Perhitungan ANOVA pada selang kepercayaan 95% didapatkan hasil titer sebelum vaksinasi, vaksinasi I dan vaksinasi II menunjukkan berbeda nyata ($P < 0.05$)

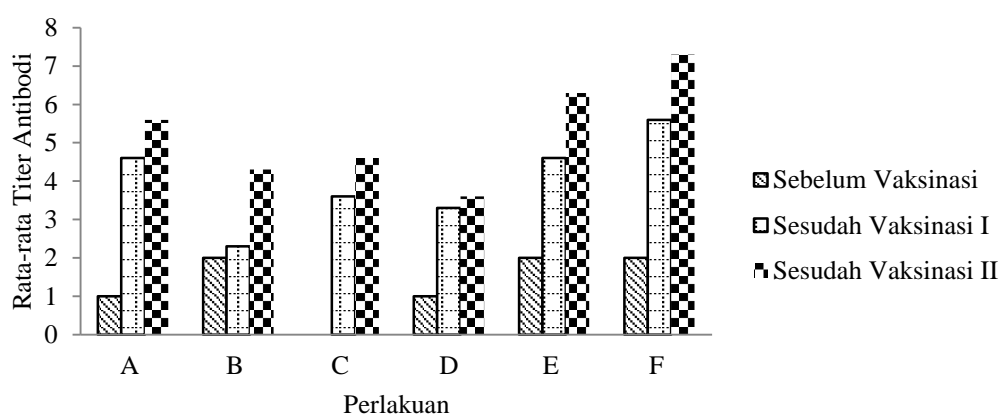
sehingga dilakukan uji lanjut BNT. Uji lanjut BNT pada saat sebelum vaksinasi menunjukkan perlakuan A, C, dan D berbeda nyata terhadap perlakuan B, E, dan F dan perlakuan B, E, dan F berbeda nyata dengan perlakuan A, C dan D. Uji lanjut BNT pada vaksinasi I menunjukkan perlakuan A, E, dan F berbeda nyata dengan perlakuan B, C, dan D, perlakuan B berbeda nyata terhadap semua perlakuan, perlakuan C dan D berbeda nyata dengan perlakuan A, B, E, dan F. Uji lanjut BNT pada vaksinasi II menunjukkan perlakuan A, E, dan F berbeda nyata terhadap

perlakuan B, C, dan D, perlakuan B, C, dan D berbeda nyata terhadap perlakuan A, E, dan F (Tabel 1).

Nilai titer antibodi mengalami peningkatan disetiap minggunya, yaitu 2^2 hingga 2^4 untuk perlakuan jantan hitam saja, 2^1 hingga 2^4 untuk perlakuan vaksin yang ditambah jantan hitam 1%, 2^0 hingga 2^5 untuk perlakuan vaksin saja, dan 2^1 hingga 2^5 untuk perlakuan kontrol, 2^2 hingga 2^6 untuk perlakuan vaksin yang ditambah jantan hitam 2.5% dan , 2^2 hingga 2^7 untuk perlakuan vaksin yang ditambah jantan hitam 5% (Gambar 1).

Tabel 1. Titer Antibodi pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) ($^2\log Y$)

Perlakuan	Rata-rata Titer Antibodi		
	SV \pm SD	SV I \pm SD	SV II \pm SD
A (Kontrol)	1.00 \pm 0.00 ^a	4.67 \pm 1.15 ^a	5.67 \pm 1.55 ^a
B (JH 5%)	2.00 \pm 1.00 ^b	2.33 \pm 0.58 ^b	4.33 \pm 0.58 ^b
C (Vaksin)	0.00 \pm 0.00 ^a	3.67 \pm 0.58 ^c	4.67 \pm 1.15 ^b
D (V + JH 1%)	1.00 \pm 1.00 ^a	3.33 \pm 0.58 ^c	3.67 \pm 1.53 ^b
E (V + JH 2,5%)	2.00 \pm 1.00 ^b	4.67 \pm 0.58 ^a	6.33 \pm 0.58 ^a
F (V + JH 5%)	2.00 \pm 1.00 ^b	5.67 \pm 0.70 ^a	7.33 \pm 0.58 ^a



Gambar 1. Titer Antibodi Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Hematokrit

Hasil analisa ragam (ANOVA) dengan taraf kepercayaan 95%, perlakuan tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ($P>0,05$) pada saat sebelum vaksinasi dan sesudah vaksinasi II. Perbedaan

nyata terlihat pada saat vaksinasi I. Hasil uji BNT yang didapat menunjukkan perlakuan A berbeda nyata terhadap semua perlakuan kecuali terhadap perlakuan D dan perlakuan B, C, E, dan F berbeda nyata dengan

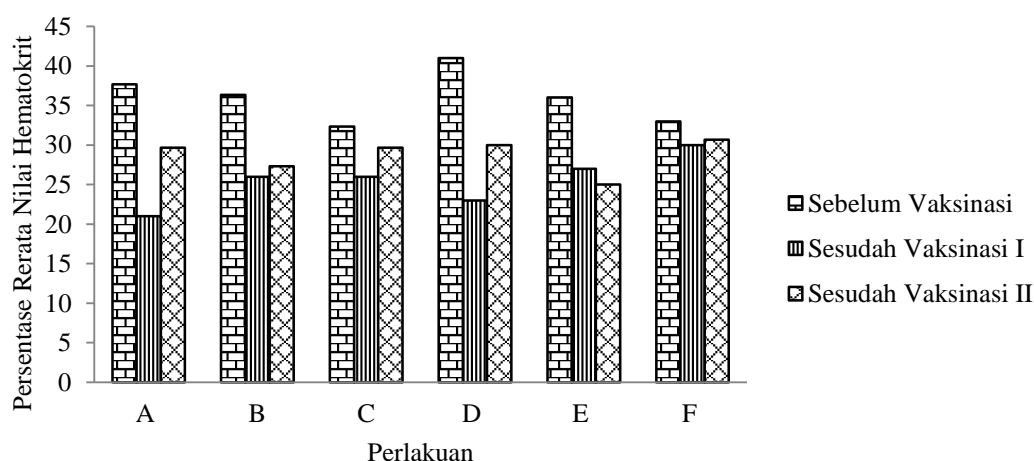
perlakuan A dan D (Tabel 2). Nilai hematokrit terendah terdapat pada perlakuan A(kontrol) yaitu 21 ± 1 dan nilai hematokrit tertinggi terdapat pada perlakuan D (vaksin + jintan hitam 1%) yaitu 41.00 ± 10.81 (Gambar 2).

Hasil pengamatan menunjukkan nilai hematokrit ikan yang bervariasi. Nilai hematokrit tertinggi didapatkan sebelum perlakuan, setelah perlakuan mengalami penurunan, dan pada

booster meningkat kembali. Namun nilai hematokrit ikan berada dalam kisaran nilai normal. Peningkatan nilai hematokrit menunjukkan peningkatan sel-sel darah merah, peningkatan faktor-faktor selular darah ini selanjutnya akan menjadi efektor bagi peningkatan respon pertahanan spesifik (antibodi) yang lebih cepat dalam kuantitas yang memadai untuk meredakan infeksi *A. salmonicida*.

Tabel 2. Hematokrit Pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Perlakuan	Rata-rata Hematokrit (%)		
	SV \pm SD	SV I \pm SD	SV II \pm SD
A (Kontrol)	37.67 ± 02.88^a	21.00 ± 1.00^a	29.67 ± 1.52^a
B (JH 5%)	35.67 ± 03.05^a	26.00 ± 4.00^b	27.33 ± 3.78^a
C (Vaksin)	32.33 ± 04.04^a	26.33 ± 1.52^b	29.67 ± 2.08^a
D (V + JH 1%)	41.00 ± 10.81^a	23.33 ± 2.51^a	30.00 ± 1.73^a
E (V + JH 2,5%)	36.00 ± 04.58^a	26.67 ± 2.51^b	25.00 ± 1.00^a
F (V + JH 5%)	33.00 ± 09.00^a	30.33 ± 3.78^b	30.67 ± 3.51^a



Gambar 2. Hematokrit Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Total Leukosit

Jumlah leukosit ikan sesudah vaksinasi I mengalami peningkatan dan sesudah vaksinasi II mengalami penurunan mendekati keadaan normal. Hasil analisa ragam (ANOVA) dengan taraf kepercayaan 95%, perlakuan tidak

menunjukkan perbedaan yang nyata ($P > 0.05$) terlihat pada saat sebelum vaksinasi dan sesudah vaksinasi II. Perbedaan yang nyata terlihat pada saat vaksinasi I. Perlakuan A berbeda nyata terhadap semua perlakuan, perlakuan B berbeda nyata terhadap semua

perlakuan kecuali terhadap perlakuan C, perlakuan D berbeda nyata terhadap semua perlakuan, dan perlakuan E dan F berbeda nyata terhadap perlakuan A, B, C, dan D (Tabel 3). Nilai leukosit terendah pada akhir perlakuan didapatkan pada perlakuan B (Jintan hitam 5%) yaitu 39.216 sel/mm³ dan nilai leukosit tertinggi didapatkan oleh perlakuan F (vaksin + jintan hitam 5%) yaitu 51.883 sel/mm³, diikuti perlakuan E (vaksin + jintan hitam 2.5%) yaitu 50.066 sel/mm³, perlakuan C (vaksin) yaitu 46.716 sel/mm³, perlakuan D (vaksin + jintan hitam 1%) yaitu 41.833 sel/mm³, dan perlakuan A (kontrol) yaitu 40.166 sel/mm³ (Gambar 3)

Total sel darah putih pada ikan yang diberi vaksin ditambah jintan hitam secara umum mengalami peningkatan yang lebih tinggi dibandingkan kontrol pada saat vaksinasi I, hal ini berkaitan dengan fungsi sel darah putih dalam tubuh yaitu sebagai alat pertahanan dan sel darah putih mengalami penurunan pada saat vaksinasi II, hal ini karena sel-sel dalam tubuh mengalami *homeostatis*, yaitu kembali dalam kondisi seimbang. Leukosit membantu membersihkan tubuh dari benda asing, termasuk invasi patogen melalui sistem imun dan respon lainnya. Ikan yang kemasukan mikroorganisme akan menghasilkan banyak leukosit untuk mensintesa antibodi dan memfagosit bakteri (Moyle and Cech, 2004).

Kualitas Air

Parameter kualitas air yang diukur dalam penelitian ini adalah : suhu air, oksigen terlarut, dan pH air. Secara terperinci terlihat bahwa kualitas air disemua perlakuan tidak berbeda nyata, baik suhu, oksigen terlarut, dan pH berada dalam kisaran normal sehingga tidak berpengaruh nyata terhadap perlakuan artinya perbedaan hasil

(perubahan parameter imunitas dan perubahan gejala lainnya) disebabkan karena perbedaan perlakuan bukan karena kualitas air yang berbeda (Tabel 4).

Nilai hematokrit, total leukosit, dan titer antibodi memiliki hubungan satu dengan lainnya. Pada awal pemeliharaan sebelum vaksinasi semua nilai berada pada keadaan standar, sesudah vaksinasi I nilai hematokrit menurun, nilai leukosit meningkat, dan nilai titer antibodi meningkat. Meningkatnya jumlah leukosit karena adanya benda asing yang masuk kedalam tubuh ikan, sehingga bagian leukosit bekerja untuk membersihkan benda asing dari tubuh dengan cara fagositosis. Meningkatnya total leukosit memicu meningkatnya respon innate sehingga ikan memiliki kekebalan tubuh yang baik. Menurunnya nilai hematokrit manandakan jumlah sel darah merah dalam tubuh menurun, menurunnya jumlah sel darah merah dikarenakan jumlah sel darah putih dalam darah sedang diproduksi banyak untuk membersihkan masuknya benda asing dalam tubuh. Dari gambaran diatas terdapat korelasi antara jumlah leukosit dan jumlah eritrosit dalam tubuh ikan. Meningkatnya nilai titer antibodi menunjukkan bahwa antibodi mampu mengeliminasi antigen yang masuk ke dalam tubuh.

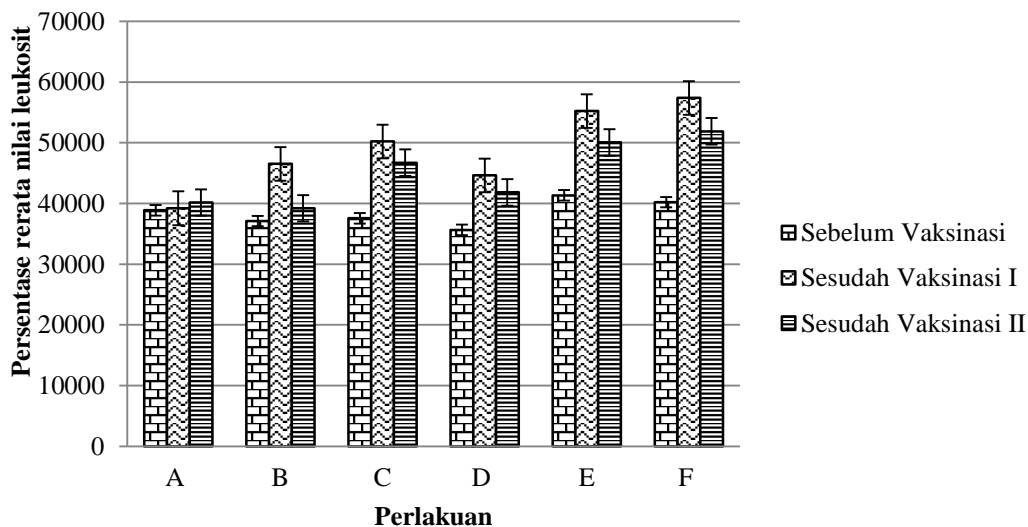
Setelah pemberian vaksinasi II (*booster*) jumlah leukosit mengalami penurunan, nilai hematokrit mengalami peningkatan dan nilai titer antibodi meningkat. Meningkatnya nilai hematokrit dan menurunnya jumlah leukosit terjadi dimungkinkan karena sel-sel tubuh akan mengalami *homeostatis*. *Homeostatis* adalah suatu keadaan komposisi kimia dan fisiokimia yang konstan pada medium internal

organisme. Homeostatis merupakan manifestasi keberadaan sejumlah factor biologis yang konstan seperti indikasi kuantitatif, karakteristik suatu organisme pada kondisi normal. Termasuk temperature tubuh, konsentrasi ion dan ratio ion-ion aktif yang berhubungan dengan biologis dan

sebaliknya (Hernawati, 2012). Sedangkan antibodi pada ikan tetap mengalami peningkatan, hal ini terjadi karena antibodi bekerja kembali mengingat antigen yang pernah masuk kedalam tubuh dan mempersiapkan diri lebih baik dan efektif dengan masuknya antigen dalam tubuh.

Tabel 3. Total Leukosit Pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Perlakuan	Rata-rata Total Leukosit (X 10 ³ sel/mm ³)		
	SV ± SD	SV I ± SD	SV II ± SD
A (Kontrol)	38±3.9 ^a	40±2.3 ^a	39±8.4 ^a
B (JH 5%)	37±2.8 ^a	39±2.4 ^b	46±3.1 ^a
C (Vaksin)	37±5.4 ^a	46±8.4 ^b	50±1.9 ^a
D (V + JH 1%)	35±7.2 ^a	41±6.3 ^c	44±1.7 ^a
E (V + JH 2,5%)	41±4.0 ^a	50±1.2 ^d	55±1.9 ^a
F (V + JH 5%)	40±2.8 ^a	51±3.2 ^d	57±2.8 ^a



Gambar 3. Leukosit Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Tabel 4. Data Kisaran Kualitas Air Selama Penelitian

Perlakuan	Pagi			Sore		
	pH	Suhu (°C)	DO (mg/l)	pH	Suhu (°C)	DO (mg/l)
A	7	26,0	4,90	7,1	27,25	4,25
B	7	25,8	5,15	7,1	26,20	5,00
C	7	25,5	5,20	7,2	26,10	4,65
D	7	25,2	4,58	7,1	26,25	4,85
E	7	25,6	4,90	7,2	26,10	5,05
F	7	26,2	5,25	7,1	26,30	4,20

Kesimpulan

Hasil yang diperoleh selama penelitian, pemberian kombinasi vaksin *whole cell A. salmonicida* dan immonostimulan jintan hitam dengan kadar 2.5% - 5% yang dicampurkan dalam pakan mampu meningkatkan imonogenisitas ikan mas.

Whole cell Aeromonas

salmonicida pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). Aquasains 1: 17-21.

Daftar Pustaka

- Ali, O., Basbulbul, G. and Aydin T. 2007. Antimitotic and antibacterial effects of the *Nigella sativa* L. Seed. *Caryologia*. 60 : 270-272.
- Anonim, 2007. Metode Standar Pemeriksaan HPIK Golongan Bakteri. Pusat Karantina Ikan. 66 hal.
- Cahyono, B. 2002. Budidaya Air Tawar. Kanisius. Yogyakarta. 10-14 hal.
- El-Kadi A and Kandil O. 1986. Effect of *Nigella sativa* (the black seed) on immunity. Proceeding of the 4th International Conference on Islamic Medicine, Kuwait. *Bulletin of Islamic Medicine*. 4: 344-348
- Hernawati. 2012. Mineral dan Homeostatis. FMIPA UPI. Bandung. 1-17 hal.
- Moyle P.B and Cech Jr J.J. 2004. Fishes. An Introduction to Ichthyology. 5th Ed. Prentice Hall. USA.
- Roberson, B.S., 1990. Bacterial Agglutination. In: Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Anderson, D.P., Roberson, B.S., & Muiswinkel, J. (Eds.). *Techniques in Fish Immunology*. SOS Publications. Fair Haven. New Jersey. pp.81-86.
- Setyawan, A., Hudaidah, S., Zulfikar Z.R., dan Sumino. 2012. Imunogenisitas Vaksin Inaktif

