# HISTOPATOLOGI HATI DAN GINJAL IKAN PATIN (Pangasionodon hypopthalmus) YANG DIINJEKSI BAKTERI Aeromonas hydrophila

#### Safratilofa

Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian Universitas Batanghari Jl. Slamet Riyadi, Broni Jambi. 36122. Telp. +62074160103 email: osa.safra@yahoo.com

# Abstract

Aeromonas hydrophila is one of the pathogen that cause Motil Aeromonad Septicaemia (MAS) disease in "Patin" fishery. This study was conducted to see pathological changes in "Patin" that injected by Aeromonas hydrophila. Target of observed organs were its liver and kidney. The Bacterial infection was done by intramaskular injection with a concentration of 108 CFU / ml. Before the infection application it needed to apply a bacteria confirmation test first with API 20 E as a media to convince that the species of using bacteria was really A. hydrophila. This research was a descriptive study. The results showed that there had inflammatory cells infiltration, extensively degenerately and necrosis. There had been extensively necrosis in the liver organ.

**Keywords:** Histology, Aeromonas hydrophila, Pangasionodon hypopthalmus

# **Abstrak**

Aeromonas hydrophila merupakan salah satu patogen penyebab timbulnya penyakit Motile Aeromonad Septicaemia (MAS) pada usaha budidaya ikan patin. Penelitian ini bertujuan untuk melihat perubahan patologi pada ikan patin yang diinjeksi dengan bakteri Aeromonas hydrophila. Organ target yang diamati melalui histologi yaitu hati dan ginjal. Infeksi bakteri dilakukan melalui injeksi secara intramaskular dengan kepadatan 10<sup>8</sup> CFU/ml. Sebelum digunakan, dilakukan uji konfirmasi bakteri terlebih dahulu dengan media API 20 E yang menunjukkan bahwa spesies bakteri yang digunakan adalah A. hydrophila Penelitian ini merupakan penelitian yang bersifat deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan pada organ ginjal sudah terjadi infiltrasi sel radang secara ekstensif, degenerasi dan nekrosis. Pada organ hati sudah terjadi nekrosis secara ekstensif.

**Kata kunci:** Histologi, Aeromonas hydrophila, Pangasionodon hypopthalmus

# **PENDAHULUAN**

Usaha budidaya ikan Patin (Pangasionodon hypopthalmus) sering mengalami permasalahan antara lain kegagalan produksi akibat serangan wabah penyakit. Salah satu patogen penyebab timbulnya penyakit pada usaha budidaya adalah bakteri, di antaranya bakteri Aeromonas hydrophila. A.hydrophila merupakan penyebab penyakit Motile Aeromonas Septicaemia (MAS) yang dinamakan juga dengan penyakit bercak merah (Angka Menurut Kamiso (2004), bakteri A. hydrophila menyerang semua jenis ikan air tawar di daerah tropis, sehingga sangat berbahaya bagi budidaya ikan air tawar. Bakteri ini sering menimbulkan wabah penyakit dalam tingkat kematian tinggi (80-100%) dan dalam waktu singkat (1-2 minggu). Yin et al. (2010) juga menambahkan bahwa infeksi bakteri A. hydrophila dapat menimbulkan kematian hingga 80%.

Patologi merupakan studi penyakit mencakup fungsional dan perubahan morfologi serta reaksi yang berkambang pada organisme akibat adanya infeksi patogen

(Plum. 1994). Pemeriksaan histopatologi pada ikan dapat memberikan gambaran perobahan jaringan yang terinfeksi patogen dan untuk mendeteksi adanya komponenekomponen patogen yang bersifat infektif melalui pengamatan secara mikro terhadap perubahan abnormal ditingkat jaringan. Jaringan yang bisa dijadikan indikator pengamatan adalah ginjal dan hati. Ginjal merupakan organ ekskresi dengan fungsi menyaring sisa-sisa metabolisme untuk dibuang dalam entuk urin. Bakteri *A. hydrophila* yang masuk kedalam darah dengan mudah mencapai organ-organ penting pada ikan seperti pada sinusoid ginjal. Selanjutnya ginjal akan dimanfaatkan oleh bakteri sebagai tempat memperbanyak diri, serta mengambil nutrisi yang ada disekitarnya untuk proses metabolisme. Hati merupakan pusat metabolisme tubuh, organ hati menghasilkan cairan empedu sebagai emulsifikator lemak yang berperan penting dalam proses pencernaan makanan (Sukenda *et al.* 2008). Berdasarkan hal tersebut perlu dilakukan pengamatan perubahan patologi melalui histologi organ ginjal dan hati ikan patin yang diinjeksi dengan bakteri *A. hydrophila*.

# **METODOLOGI PENELITIAN**

Kegiatan penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kesehatan Ikan (LKI), Departemen Budidaya Perairan (BDP), Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan (FPIK), Institut Pertanian Bogor (IPB). Penelitian ini dilaksanakan selama satu bulan yaitu bulan Juli 2014.

Ikan uji yang digunakan adalah ikan patin yang berasal dari pembudidaya di daerah Parung, Bogor dengan bobot rata-rata 6±0,26 g. Ikan dipelihara dalam akuarium berukuran 60x30x40 cm<sup>3</sup>. Ikan ditebar sebanyak 10 ekor/akuarium. ikan diberi pakan komersial sebanyak 2 kali sehari yaitu pagi dan sore hari secara *at satiation*. Ikan uji dipelihara selama 14 hari

Bakteri uji yang digunakan adalah *A. hydrophila* yang berasal dari koleksi Laboratorium Kesehatan Ikan(LKI), Departemen Budidaya Perairan (BDP), Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan (FPIK), Institut Pertanian Bogor (IPB). Sebelum digunakan, dilakukan uji konfirmasi bakteri terlebih dahulu dengan media API 20 E yang menunjukkan bahwa spesies bakteri yang digunakan adalah *A. hydrophila*. Hasil bakteri uji seperti pada Gambar Tabel 1. Ikan uji diinjeksi dengan bakteri *A. hydrophila* sebanyak 0,1 ml/ekor secara *intramuskuler* pada bagian punggung di belakang operkulum ikan dengan konsentrasi bakteri 10<sup>8</sup> CFU/ml.

Tabel 1. Hasil pengujian isolat bakteri A. hydrophila dengan kit API 20 E

Active ingredients	Hasil
2-nitrophenyl ßdgalactopyranoside	+
L-arginine	+
L-lysine	+
L-ornithine	-
Trisodium citrate	-
Sodium thiosulfate	-
Urea	-
L-tryptophane	-
Sodium pyruvate	+
Gelatin (bovine origin)	+
D-glucose	+
D-mannitol	+
	2-nitrophenyl ßdgalactopyranoside L-arginine L-lysine L-ornithine Trisodium citrate Sodium thiosulfate Urea L-tryptophane Sodium pyruvate Gelatin (bovine origin) D-glucose

Jurnal Akuakultur Sungai dan Danau Vol. 2 No. 2 Tahun 2017 Hal. 83 – 88

ISSN Print 2503-4766

ISSN Online 2597-8837

INO	Inositol	-
SOR	D-sorbitol	-
RHA	L-rhamnose	-
SAC	D-sucrose	+
MEL	D-melibiose	-
AMY	Amygdalin	-
ARA	Amygdalin	-
OX	(see oxidase test package insert)	+

VERY GOOD IDENTIFICATION TO THE GENUS						
Strip	API 20 E V4.1					
Profile	7007124					
Note	POSSIBILITY OF Vibrio fluvialis					

Significant taxa	% ID	T	Tests against							
Aeromonas hydrophila/caviae/sobria 2	89.8	0.7	CIT	80%	IND	85%	AMY	75%		
Aeromonas hydrophila/caviae/sobria 1	10.1	0.56	LDC	25%	IND	85%	VP	25%	AMY	75%
			ARA	75%						

Next taxon	% ID	- 1	les	ts aga	iinst					
Vibrio cholerae	0.1	0.08	ADH	1%	ODC	97%	CIT	75%	IND	99%
Complementary test(s)	GLUCG	SEg	ESC (	HYD.)		0/129 F	₹	M	ETHYL	. RED
Aeromonae caviae			_			_				

Complementary test(s)	GLUCOSEg	ESC (HYD.)	0/129 R	METHYL RED
Aeromonas caviae	-	+	+	+
Aeromonas hydrophila	+	+	+	86%
Vibrio fluvialis	0%	NT	-	NT
Aeromonas sobria	+	-	+	-

Pembuatan preparat Histologi dilakukan tahapan sebagai berikut :

- 1. Sampel ginjal dan hati diambil dari ikan uji, sampel direndam dalam larutan BNF 10 % selama 24 jam.
- 2. Dehidrasi dalam alkohol 70%, 80%, 90%, 95% dan 100% (tahap I) dan 100% (tahap II) masing-masing selama 2 jam.
- 3. *Clearing* dengan alkohol dan xilol (xilol I, xilol II dan xilol III) masing-masing 30 menit.
- 4. *infiltrasi* dalam larutan paraffin cair (58° C) dan didiamkan hingga mengeras. Agar lebih keras lagi jaringan yang berada dalam paraffin dimasukkan kedalam refrigerator.
- 5. *Embedding* (blocking), dilakukan pemotongan jaringan (5  $\mu$ m), hasil potongan direndam dalam air hangat dengan suhu  $\pm 53^{\circ}$  C dan ditata diatas gelas objek.
- 6. *Deparafinisasi* dengan alkohol 100%, 95%, 90%, 80%, 70% dan 50%, masingmasing 2 menit dan dicuci dengan air kran selama 2 menit.
- 7. Pewarnaan dengan hematoksilin selama 10 menit dan dicuci dengan air kran selama1 menit, selanjutnya pewarnaan dengan Eosin selama 3 menit dan dicuci dengan air kran seama 1 menit.
- 8. Dehidrasi dengan alkohol 50% I, 50% II, 70%, 85%, 90%, dan 100% masingmasing 2 menit selanjutnya dengan Xylol I dan xylol II masing-masing 2 menit.
- 9. Sediaan ditetesi dengan perekat Permount TM kemudian ditutup dengan cover glass.
- 10. Setelah perekat mengering jaringan preparat diamati dibawah mikroskop untuk melihat kerusakan-kerusakan yang terjadi pada masing-masing organ.

Hasil histologi dianalisis secara deskriptif mengacu pada metode Adinata *et al.* (2012) yaitu berdasarkan jumlah kerusakan pada organ ikan pada beberapa bagian organ. Jika jumlah kerusakan organ hanya di satu bagian (fokal), di beberapa tempat (multifokal), dan di semua tempat (difus), maka diberi tanda berturut-turut +, ++, +++.

Data yang diproleh selama penelitian dianalisa secara deskriptif.

# HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil histopatologi ginjal dan hati ikan patin disajikan pada Gambar 1. Dari Gambar 1 menunjukkan pada ikan yang diinfeksi dengan *A.hydrophila* mengalami kerusakan organ ginjal dan hati paling parah bila dibanding dengan yang tidak diinjeksi dengan *A.hydrophila*. Ginjal yang diinfeksi *A.hydrophila* sudah terjadi infiltrasi sel radang secara ekstensif, degenerasi dan nekrosis. Begitupula pada organ hati sudah terjadi nekrosis secara ekstensif.

Gambar 1 Histopatologi ginjal dan hati ikan patin

Perlakuan	Diagnosa Ginjal	Analisis	Diagnosa Hati	Analisis
Tanpa A.hydrophilla	20 um			
Diinjeksi A.hydrophilla	D D D D D D D D D D D D D D D D D D D	I (+++) D (++) N(+++)	$\bigcup_{N}^{D} \bigvee_{N}$	D (+) V(+) N(+++)

Penyakit ikan adalah suatu bentuk abnormalitas dalam struktur atau fungsinya yang disebabkan oleh organisme hidup melalui tanda-tanda yang spesifik. Sedangkan menurut Sachlan *dalam* Afrianto (1992). Penyakit ikan merupakan salah satu kendala dalam usaha budidaya. Secara ekonomis masalah penyakit dapat merugikan usaha budidaya karena dapat menurunkan produksi dan kualitas ikan, bahkan dapat menyebabkan kematian massal atau kegagalan produksi. Penyakit ikan adalah segala sesuatu yang dapat menimbulkan gangguan pada ikan, baik secara langsung maupun tidak langsung. Banyak mikroorganisme yang bersifat patogen pada ikan salah satunya adalah bakteri. Salah satunya adalah bakteri *A. hydrophila*.

Patologi merupakan studi penyakit mencakup fungsional dan perubahan morfologi serta reaksi yang berkambang pada organisme akibat adanya infeksi patogen (Plum. 1994). Pemeriksaan histopatologi pada ikan dapat memberikan gambaran perobahan jaringan yang terinfeksi patogen dan untuk mendeteksi adanya komponenekomponen patogen yang bersifat infektif melalui pengamatan secara mikro terhadap perubahan abnormal ditingkat jaringan. Jaringan yang bisa dijadikan indikator pengamatan adalah ginjal dan hati.

Ginjal merupakan organ ekskresi pada semua hewan vertebrata.Ginjal mengesekresi produk metabolisme seperti ammonia dan mempunyai fungsi penting dalam memelihara homeostatis. Unit ginjal yang digunakan sebagai organ ekskresi adalah nephron. Sebuah nephron tersusun dari badan malphigi dan saluran kemih. Badan malphigi terdiri dari glomerolus dan kapsul bowman. Badan malphigi dihasilkan urin sederhana. Waktu urin sederhana melewati saluran kemih, bahan-bahan penting diserap kembali dan bahan-bahan tidak penting mengalir keluar dari tempat ini. Ginial mengalami kerusakan oleh substansi beracun dan infeksi penyakit glomerolus yang rusak tidak dapat melakukan regenerasi sedangkan saluran kemih dapat melakukan regenerasi. Pada penelitian ini,hasil pengamatan histopatologi pada ginjal ikan patin kerusakan yang ditemukan berupa infitrasi sel radang, degenerasi dan nekrosis. Hasil analisis menunjukkan kerusakan berkisar pada multifokal (++) untuk degenerasi hingga difus (+++) untuk infiltrasi sel radang dan nekrosis. Hal ini diduga terjadi karena infeksi dari bakteri A. hydrophila yang masuk kedalam darah dengan mudah mencapai organorgan penting pada ikan seperti ginjal. Selanjutnya ginjal akan dimanfaatkan oleh bakteri sebagai tempat memperbanyak diri, serta mengambil nutrisi yang ada disekitarnya untuk proses metabolisme, hal ini mengakibatkan kerusakan jaringan pada ginjal ikan patin. Menurut Jun et. al (2010), pada ginjal ikan korean cyprinid loach (Misgurnus anguillicaudatus) yang terinfeksi A. hydrophila terjadi degenerasi pada tubulus distal dan artropi pada jaringan hematopoetik

Hati merupakan kelenjar pencernaan yang paling besar dan tersusun dari sel parenkhim (hepatosit) dan jalinan serabut.Pembuluh darah arteri hati dan vena bermuara kedalam hati, sedangkan saluran empedu meninggalkan hati menuju usus. . Hasil pengamatan histopatologi pada hati ikan patin kerusakan yang ditemukan berupa degenerasi, vakuolisasi dan nekrosis. Hasil analisis menunjukkan kerusakan lebih parah terjadi pada perlakuan kontrol negatif yaitu berkisar pada fokal (+) untuk degenerasi dan vakuolisasi hingga difus (+++) untuk nekrosis. Hal ini diduga karena A.hydrophila masuk melalui metabolisme proses pencernaan ikan patin, sehingga terjadi kerusakan pada organ hati. Menurut Sukenda et al. (2008), hati merupakan pusat metabolisme tubuh, organ hati menghasilkan cairan empedu sebagai emulsifikator dalam proses pencernaan makanan. Hasil pengamatan Asniatih et al. (2013), perobahan patologi pada hati ikan lele dumbo yang diinfeksi A.hydrophila, menunjukkan adanya degenerasi sel dan nekrosis. Salikin et al. (2014) menyatakan, hasil pengamatan gambaran histopatologi diperoleh adanya kerusakan berupa nekrosi. degenerasi melanomakrofag pada organ hati ikan mas Cyprinus carpio yang diinfeksi Aeromonas caviae.

# KESIMPULAN DAN SARAN

# Kesimpulan

Hasil pengamatan histopatologi pada ginjal dan hati ikan patin yang diinfeksi *A.hydrophila*. (1) Pada ginjal kerusakan yang ditemukan berupa infitrasi sel radang, degenerasi, dan nekrosis. (2) Pada hati kerusakan yang ditemukan berupa degenerasi, vakuolisasi dan nekrosis

#### Saran

Disarankan untuk melakukan pengamatan pada organ, ikan dan bakteri penginfeksi yang berbeda.

# **DAFTAR PUSTAKA**

- Adinata MO, Sudira IW, Berata IK. 2012. Efek ekstrak daun asibata *Angelica keisken* terhadap gambaran histopatologi ginjal mencit *Mus musculus*. *Buletin Veteriner Udayana*. 4(2): 55-62.
- Angka SL, Priosoeryanto BP, Lay BW, Harris E. 2004. Penyakit *motile aeromonads* septicaemia pada ikan lele dumbo. *Prosiding Forum Pascasarjana*. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Asniatih, Idris M dan Sabilu K. 2013. Studi Histopatologi pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) yang Terinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Jurnal Mina Laut Indonesia. 3 (12): 13-21
- Plumb JA. 1994. Health Maintenance of Cultured Fishes, Principal Microbial Diseases. CRC press. Amerika. 239 p
- Jun JW, Kim JH, Gomez, DK, Choresca CH, Han JE, Shin PS dan Park SC 2010. Occurrence of Tetracycline- Resistant *Aeromonas hydrophila* in korean cyprinid loach (*Misgurnus anguillicaudatus*). African Journal of Microbiology Research. 4 (9): 849-855
- Kamiso HN. 2004. Status penyakit ikan dan penggendaliaanya. *Makalah Seminar Nasional Penyakit ikan dan Udang IV Purwekerto*. Pp 18-19
- Salikin RQ, Sarjito, Prayitno SB. 2014. Pengaruh perendaman ekstrak daun binahong *Anredera cordifolia* terhadap mortalitas dan histologi hati ikan mas *Cyprinus carpio* yang diinfeksi bakteri *Aeromonas caviae*. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 3 (3): 43-50.
- Sukenda L, Jamal, D Wahjuningrum dan A Hasan., 2008. Penggunaan Kitosan Untuk Pencegahan Infeksi *Aeromonas hydrophila* pada Ikan lele dumbo *Dumbo clarias SP*. Jurnal Akuakultur Indonesia 7 (2): 159-169
- Yin G, Ardo L, Thompson KD, Adams A, Jeney Z, Jeney G. 2010. Chinese Herbs (Astragalus radix and Ganodermalucidum) Enhance Immune Respons of carps, Cyprinus carpio and Protection Againts Aeromonas hydrophila. Fish and Shellfish Immunology 26 (1):140-145