

Gambaran Patologi Hepar Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) yang Diinfeksi Bakteri *Edwardsiella tarda*

Featuring Liver Pathology Of *Clarias gariepinus* That Were Infected By *Edwardsiella tarda*

Ratu Meidiza¹, Arimbi², Poedji Hastutiek²

¹)Student, ²) Veterinary Pathology Departement, ³) Veterinary Parasitology Departement
Faculty of Veterinary Medicine, Airlangga University

Abstract

This research aimed to know the changed damage of liver *Clarias gariepinus* were infected by *Edwardsiella tarda*. Twenty four of *Clarias gariepinus* with average weight of 20-25 gram, size 10-12 cm were randomly divided into four groups of treatment (P0, P1, P2, and P3). Six repetition each those are given with the dosage of *Edwardsiella tarda* 3×10^6 CFU/ml except P0 (control). At the macroscopic observed, show that liver become swollen and pale. The histopathological features of hepar were examined under light microscope in 400 times magnification. Scoring method were using Bernet Scoring Method to examined the presence of degeneration, necrotic, congestion and infiltration of leucosyt. Then, Kruskal-Wallis test followed with Mann-Whitney test of statistical analysis. The result showed change in liver of *Clarias gariepinus*. The most severe damage was occurred on P2. It cause in histopathology examination showed lesion such necrotic area with infiltration of inflammatory cells and there was an increased of erythrocyte infiltration in blood vessels compared with P1 and P3.

Keywords : *Clarias gariepinus*, *Edwardsiella tarda*, Pathology, Liver.

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perubahan kerusakan hepar dari *Clarias gariepinus* yang diinfeksi dengan *Edwardsiella tarda*. Dua puluh empat *Clarias gariepinus* dengan berat rata-rata 20-25 gram, ukuran 10-12 cm dibagi secara acak menjadi 4 kelompok perlakuan (P0, P1, P2, dan P3). Masing-masing perlakuan dilakukan enam kali pengulangan dengan dosis *Edwardsiella tarda* 3×10^6 CFU/ ml kecuali kontrol (P0). Pada pengamatan mikroskopis menunjukkan bahwa hepar telah mengalami pembengkakan dan pucat. Pengamatan histopatologi menggunakan mikroskop cahaya dengan 400 kali pembesaran. Metode penilaian Bernet's Scoring digunakan untuk menentukan adanya degenerasi, nekrosis, dan kongesti dan infiltrasi leukosit. Kruskal-Wallis digunakan untuk pengujian statistika diikuti dengan pengujian Mann-Whitney. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi perubahan pada hepar *Clarias gariepinus*. Kerusakan parah terjadi pada perlakuan P2. Hal ini disebabkan pada pengamatan histopatologi menunjukkan adanya lesi seperti nekrosis dengan pembengkakan sel dan meningkatnya infiltrasi eritrosit pada pembuluh darah dibandingkan dengan P1 dan P3.

Kata kunci : *Clarias gariepinus*, *Edwardsiella tarda*, Patologi, Hepar

PENDAHULUAN

Kebutuhan ikan dari tahun ketahun mengalami peningkatan seiring dengan penambahan penduduk. Salah satu jenis ikan yang sangat diminati masyarakat adalah ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) karena memiliki berbagai kelebihan diantaranya pertumbuhan cepat dalam waktu yang relatif singkat dan memiliki kemampuan tinggi untuk beradaptasi terhadap lingkungan (Purnamasari, 2012). Teknologi budidaya ikan lele dumbo yang digunakan di Indonesia sama seperti sistem budidaya perikanan lainnya dengan padat tebar yang tinggi serta pemberian pakan tambahan yang optimal (Setiaji, 2009)

Sistem budidaya padat tebar tinggi menimbulkan banyak penyakit. Salah satu organisme yang paling mendominasi penyebab timbulnya penyakit ikan pada usaha budidaya adalah bakteri, diantaranya *Edwardsiella tarda* yang dilaporkan dapat menyerang ikan air tawar dan laut, salah satunya ikan budidaya jenis *catfish* di Amerika (Sari dkk., 2014). *Edwardsiella tarda* merupakan bakteri patogen penyebab *Edwardsiellosis*, *Emphisematous Putrefactive Disease of Catfish* (EPDC) dan *Red Pest*

(Narwiyani dan Kurniasih, 2011; Ikhsan, 2013; Ratnawati, 2013;).

Gejala klinis pasca infeksi bakteri *E. tarda* menunjukkan adanya perubahan tingkah laku dan morfologi pada tubuh ikan. Perubahan tingkah laku terjadi pada penurunan respon makan, berenang lambat dan pola berenang ikan mendekati ke arah aerasi (Setyowati dkk., 2014). Bakteri *Edwardsiella tarda* juga menginfeksi organ internal dari ikan meliputi hepar, limfa dan ginjal (Firma *et al.*, 2012).

Organ yang dapat dijadikan indikator pengamatan saat terjadi infeksi bakteri salah satunya adalah hepar. Hepar merupakan organ yang berperan penting dalam proses metabolisme tubuh, sebagai alat sekresi dalam proses detoksifikasi dan berfungsi memfagosit benda asing yang masuk ke dalam organ hepar (Pramyrtha dkk., 2014). Hepar ikan adalah organ yang berfungsi untuk detoksifikasi sehingga rentan terhadap toksin yang dihasilkan bakteri (Keumalawati, 2016). Proses metabolisme tubuh akan terganggu jika hepar telah terpapar agen infeksi.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan kerusakan organ hepar ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) yang

diinfeksi *E. tarda* dilihat dari lama paparan dengan pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2016, di Laboratorium Departemen Patologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Identifikasi bakteri, pengenceran bakteri *E. tarda* dan pembuatan preparat dilakukan di Balai Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas I Surabaya.

Bahan dan alat Penelitian

Penelitian ini menggunakan 24 ekor ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) dengan ukuran 10-12 cm dengan berat badan 20-25 gram, umur 2 minggu yang di peroleh dari Balai Benih Ikan Kalen, Kecamatan Kedungpring, Kabupaten Lamongan, Jawa Timur. Bahan untuk penelitian adalah isolat bakteri *E. tarda* yang berasal dari isolasi sampel ikan lele dumbo yang sakit di Kabupaten Jombang, standar *Mc. Farland* no 1 air PDAM dan pakan ikan berbentuk pelet.

Bahan untuk pembuatan preparat histopatologi hepar yaitu larutan NBF

(*Neutral Buffered Formalin*) 10% untuk fiksasi, alkohol (kadar 70%, 80%, 85%, dan alkohol PA) untuk dehidrasi, *xylol* untuk *clearing*, paraffin untuk infiltrasi, gliserin untuk pembuatan blok paraffin, *Hematoxylin Eosin* (H&E) untuk pewarnaan dan entellan untuk proses *mounting*.

Peralatan yang digunakan adalah satu buah ember volume 5 liter untuk kontrol dan satu buah drum volume 60 liter untuk kelompok perlakuan, jaring ikan kecil dan kawat penutup. Pengambilan suspensi dan pengenceran bakteri *E. tarda* menggunakan pipet 0.1 ml dengan skala 0.001 ml, ose, cawan petri, tabung reaksi dan bunsen. Koleksi organ dan pengamatan preparat menggunakan scalpel steril, gunting steril, pinset, tatakan gabus dan pot salep. Peralatan untuk pembuatan preparat histopatologi hepar antara lain *tissue casset*, *tissue processor*, *freezer*, *water bath*, *object glass*, *cover glass*, *oven*, *hot plate*, mikrotom, mikroskop dan optilab.

Dosis Infeksi *Edwardsiella tarda*

Penentuan dosis infeksi *E. tarda* berdasarkan LD50 pada beberapa penelitian yang pernah dilakukan, yaitu dengan konsentrasi kepadatan $3,0 \times 10^6$ sel/ml

melalui injeksi intraperitoneal (Ikhsan, 2013).

Perlakuan

Persiapan penelitian dilakukan satu hari sebelum ikan lele dumbo datang, yaitu menyiapkan air di dalam ember dan drum, selanjutnya dibiarkan selama 24 jam sebelum ikan dimasukkan. Ikan lele dumbo dimasukkan ke dalam tempat yang telah disiapkan dan diadaptasi selama tiga hari sebelum diberi perlakuan.

Ikan lele dumbo sebanyak 24 ekor akan diberi perlakuan sebagai berikut:

P0 : Enam ekor ikan lele dumbo tanpa diinfeksi bakteri *E. tarda* dan dilakukan pembedahan pada hari ke-7

P1 : Enam ekor ikan lele dumbo diinfeksi bakteri *E. tarda* selama 3 hari dan dilakukan pembedahan pada hari ke-3

P2 : Enam ekor ikan lele dumbo diinfeksi bakteri *E. tarda* selama 5 hari dan dilakukan pembedahan pada hari ke-5

P3 : Enam ekor ikan lele dumbo diinfeksi bakteri *E. tarda* selama 7 hari dan dilakukan pembedahan pada hari ke-7

Pada kelompok perlakuan (P1, P2, P3), Ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) sebanyak 18 ekor dimasukkan ke dalam sebuah drum berwarna hitam dan diinfeksi

bakteri *E. tarda* sebanyak 0,1 ml secara injeksi intraperitoneal dengan konsentrasi 3×10^6 sel/ml untuk perlakuan tiap ekor ikan, sedangkan pada kelompok tanpa perlakuan (P0), enam ekor ikan dimasukkan ke dalam aquarium tanpa diinfeksi bakteri *E. tarda*. Kelompok perlakuan dan kontrol dalam drum serta ember diberi pakan yang sama sebanyak dua kali sehari setiap pagi dan sore.

Pada hari ke- 3, 5 dan 7 pasca infeksi bakteri, dilakukan pembedahan masing-masing sebanyak 6 ekor ikan perlakuan dan 6 ekor ikan kontrol pada hari ke-7 untuk pemeriksaan perubahan patologi secara makroskopis dan pembuatan preparat histopatologi hepar (Andriyanto dkk., 2009).

Pemeriksaan perubahan morfologi secara makroskopis hepar dilakukan dengan mengamati perubahan patologi anatomi secara makroskopis dari organ hepar. Pada pemeriksaan ini, dilakukan pengamatan kondisi fisik hepar ikan kelompok perlakuan yang dibandingkan dengan hepar ikan kelompok kontrol. Pemeriksaan mikroskopis hepar ikan lele dumbo dilakukan dengan pembuatan preparat histopatologi dan menggunakan mikroskop perbesaran 400 kali. Gambaran histopatologi hepar dinilai

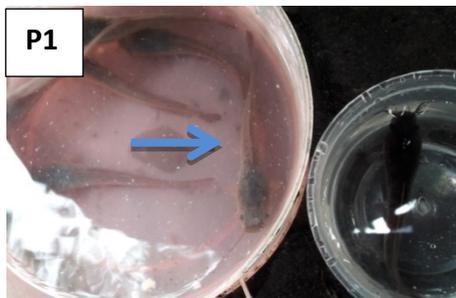
berdasarkan skoring derajat kerusakan hepar menurut Bernet *et al.* (1999) meliputi kongesti, degenerasi, nekrosis dan infiltrasi sel radang dengan menggunakan skor mulai 0 – 6, tergantung pada derajat dan luasnya perubahan: (0) tidak terjadi perubahan; (2) ringan; (4) sedang; (6) parah.

Penelitian ini menggunakan rancangan penelitian acak lengkap (RAL) dengan ulangan yang sama pada tiap perlakuan. Masing-masing perlakuan de-

yang disusun dalam bentuk tabel kemudian dianalisis menggunakan perangkat lunak komputer SPSS 20 *for windows*. Perolehan data menggunakan uji *Kruskal Wallis*. Apabila terdapat perbedaan antar perlakuan dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* dengan taraf signifikan 0,05.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gejala klinis mulai terlihat pada hari ke-3 pasca infeksi bakteri *E. tarda* hingga



Gambar 1 Gejala klinis hari ke-3 pasca infeksi bakteri *E. tarda* terjadi depigmentasi pada permukaan kulit ikan lele dumbo (→).



Gambar 2 Gejala klinis hari ke-5 pasca infeksi bakteri *E. tarda* terjadi hemoragi pada bagian caudal (→).



Gambar 3 Gejala klinis hari ke-7 pasca infeksi bakteri *E. tarda* terjadi ulser pada dorsal tubuh ikan (→).

ngan 6 ulangan (Kusriningrum, 2008). Data diperoleh dari uji statistik non parametrik

akhir pengamatan (hari ke-7). Pada hari ke-3 terlihat depigmentasi pada kulit, ikan

berenang secara vertikal dan terdapat hemoragi pada bagian caudal ekor ikan lele dumbo. Gejala klinis tampak semakin parah pada hari ke-5 pasca infeksi bakteri *E. tarda* terlihat hemoragi melebar ke permukaan tubuh ikan, ulcern pada bagian dorsal maupun abdominal ikan lele dumbo dan sirip geripis. Pada akhir pengamatan yaitu hari ke-7 pasca infeksi bakteri *E. tarda* gejala klinis yang terlihat tidak jauh berbeda dibandingkan hari ke-5 yaitu adanya ulcern di permukaan tubuh dan hemoragi.

Pengamatan organ hepar dilakukan dengan prosedur bedah bangkai pada hari ke 3, 5 dan 7 pasca infeksi. Hepar normal

ukuran yang terlihat lebih besar dibandingkan P0 serta warna hepar menjadi pucat.

Hasil analisis statistik dengan uji *Kruskall Wallis* dapat dilihat pada Tabel 1 berikut ini:

Berdasarkan hasil analisis pada Tabel 1 menunjukkan adanya perbedaan nyata ($P < 0,05$) antara tiap kelompok P0, P1, P2, dan P3. Tahap berikutnya dilakukan dengan uji *Mann-Whitney*. Skor kerusakan hepar terendah ($2,20 \pm 1,00$) terlihat pada kelompok P0 yang berbeda nyata dengan kelompok P1, P2, dan P3. Kelompok P1 menunjukkan hasil berbeda nyata dengan

Tabel 1 Hasil skoring hepar ikan lele dumbo menggunakan uji *Kruskall Wallis*

PERLAKUAN	KETERANGAN	Mean \pm SD
P0	Tanpa diinfeksi bakteri <i>E. tarda</i>	2,20 ^a \pm 1,00
P1	Diinfeksi bakteri <i>E. tarda</i> selama 3 hari dan dilakukan pembedahan pada hari ke-3	5,40 ^b \pm 2,46
P2	Diinfeksi bakteri <i>E. tarda</i> selama 5 hari dan dilakukan pembedahan pada hari ke-5	10,0 ^c \pm 0,80
P3	Diinfeksi bakteri <i>E. tarda</i> selama 7 hari dan dilakukan pembedahan pada hari ke-7	9,53 ^c \pm 1,50

Keterangan: a,b,c: Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$). SD: Standar Deviasi.

terlihat pada P0 dengan warna kecoklatan dan tidak terjadi pembengkakan, sedangkan pada P1, P2, P3 terlihat perubahan pada

kelompok P2 dan P3. Sedangkan kelompok P2 tidak berbeda nyata dengan kelompok P3. Perhitungan kerusakan hepar tertinggi (10,0

$\pm 0,80$) akibat infeksi bakteri *E. tarda* terlihat pada kelompok P2.

Kelompok P0 menunjukkan tidak adanya perubahan dari gejala klinis, lesi makroskopis maupun mikroskopis. Pada kelompok perlakuan P1, P2, P3 terdapat lesi makroskopis ikan lele dumbo yang diinfeksi bakteri *E. tarda* yaitu terjadi depigmentasi kulit, ulcera, hemoragi pada permukaan tubuh ikan, serta pembengkakan dan perubahan warna pada organ hepar. Lesi tersebut disebabkan oleh toksin yang telah masuk ke dalam tubuh ikan.

Hemolisin yang dihasilkan oleh *E. tarda* mampu memecah sel darah merah,

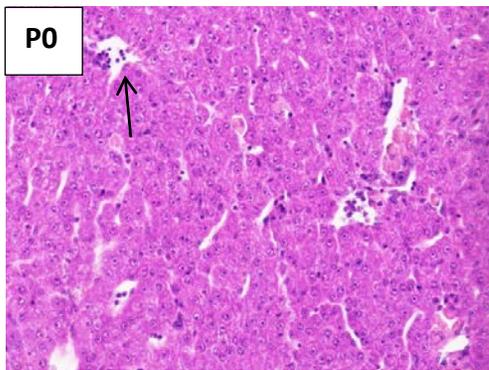
sehingga sel darah keluar dari pembuluh dan menimbulkan warna kemerahan pada permukaan kulit (Keumalawati, 2016). Lesi makroskopis lain yaitu berupa depigmentasi kulit. Lesi ini disebabkan oleh *E. tarda* menyerang bagian epidermis kulit ikan yang di dalamnya terdapat sel pigmen *chromatophore* dan kolagen yang dapat memperkuat struktur kulit, selanjutnya berkembang hingga ke bagian dermis dan otot sehingga menyebabkan kulit kehilangan pigmen warna (Ratnawati dkk., 2013).



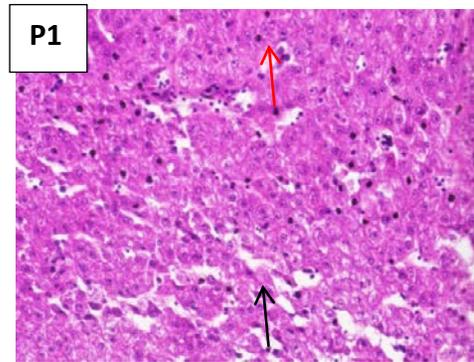
Gambar 4 Lesi makroskopis organ hepar akibat infeksi *E. tarda* dengan adanya pembengkakan dan perubahan warna pada organ (→).

Pembengkakan dan perubahan warna pada organ hepar yang terinfeksi *E. tarda* disebabkan oleh meningkatnya kerja hati untuk mengumpulkan, menetralkan serta menghilangkan zat-zat toksin yang masuk melalui peredaran darah (Aryanto, 2011). Infeksi *E. tarda* menunjukkan gejala klinis

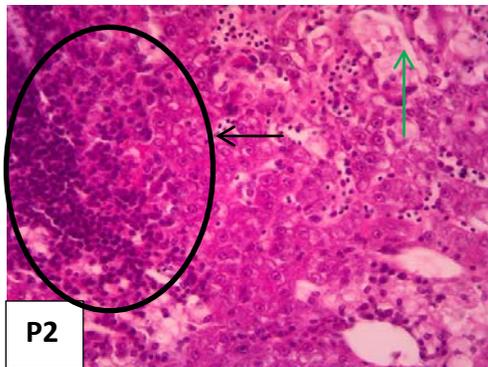
ikan berenang secara vertikal. Ikan lele dumbo yang terinfeksi akan mengeluarkan mucus (lendir) sebagai perlindungan terhadap serangan bakteri. Akan tetapi mukus tersebut menutup permukaan lamela insang sehingga pertukaran O₂ dengan CO₂ terhambat, sehingga transportasi oksigen ke



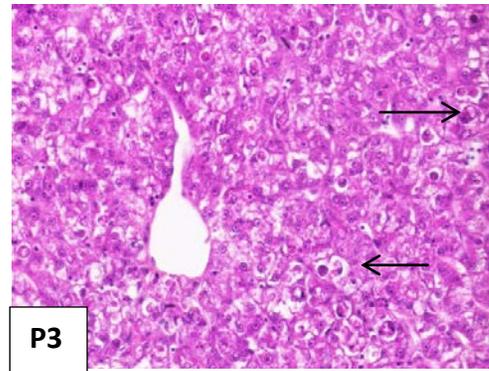
Gambar 5 Gambaran mikroskopis hepar kelompok P0 menunjukkan vena sentralis tampak normal (→).



Gambar 6 Gambaran mikroskopis hepar kelompok P1 menunjukkan sinusoid melebar (→) dan inti sel hepar piknosis (→).



Gambar 7 Gambaran mikroskopis hepar kelompok P2 menunjukkan infiltrasi sel radang pada jaringan hepar (→) dan jaringan yang mengalami degenerasi hidropik (→).



Gambar 8 Gambaran mikroskopis hepar kelompok P3 menunjukkan reaksi fagosit dari sel radang pada jaringan hepar (→).

seluruh tubuh tidak lancar dan menyebabkan inkoordinasi saat berenang (Mashelly, 2015).

Pada gambaran makroskopis kelompok P0, P1 dan P3 terlihat adanya degenerasi hidropik, kongesti, infiltrasi sel radang dan nekrosis. Degenerasi merupakan reaksi sel terhadap jejas yang masih *reversible*, tetapi bila penyebabnya tidak segera dihilangkan maka dapat berlanjut pada kematian sel. Nekrosis ditandai dengan adanya piknosis dan karyolisis. Piknotis ditandai dengan pengerutan inti sel, kariolisis ditandai dengan inti sel memudar atau lisis.

Infiltrasi sel radang merupakan respon tubuh akibat adanya rangsangan berbahaya, seperti agen patogen bakteri berfungsi sebagai pertahanan non-spesifik yang akan melokalisasi patogen melalui fagositosis (Lukistyowati, 2012). Pada kelompok P3 (hari ke-7 pasca infeksi bakteri) terjadi penurunan kerusakan walaupun tidak signifikan dimana P3 ($9,53 \pm 1,50$) dan P2 ($10,0 \pm 0,80$). Hal ini terjadi karena adanya reaksi fagosit oleh sel radang dan terjadi regenerasi sel yang baru. Sel radang yang berasal dari pembuluh darah dan pertama kali masuk ke jaringan infeksi adalah neutrofil. Neutrofil telah masuk ke

dalam jaringan sekitar 2-3 hari dari terjadinya infeksi sebagai respon perlindungan (Arimbi dkk., 2015). Hepar masih sanggup melakukan regenerasi bahkan hingga sembuh, jika penyebab kerusakan berkurang atau hilang (Ratnawati dkk., 2013).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, diambil kesimpulan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan kerusakan organ hepar ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang diinfeksi bakteri *Edwardsiella tarda* meliputi kongesti, degenerasi, nekrosis dan infiltrasi sel radang berdasarkan lama paparannya.

DAFTAR PUSTAKA

- Arimbi, A. Azmijah, H. Plumeriastuti, T.V. Widiyatno, dan D. Legowo. 2015. Patologi Umum Veteriner Edisi 2 [Buku]. Airlangga Univ. Press. Surabaya. 188hlm.
- Bernet, D., H. Schmidt, W. Meier, P. Burkhardt, and T. Wahli. 1999. Histopathology in Fish: Proposal for Protocol to Assess Aquatic Pollution. J. of Fish Dis. 22(1): 25-34
- Andriyanto, S., Haririah, Y.Yulianti, S.I. Purnomo, S.T Astuti, Nurlaila, T. Samudro dan B.P Priosoeryanto. 2009. Deteksi *Edwardsiella tarda* secara Immunohistokimia pada Ikan Patin (*Pangius pangius*). J. of Vet. Sci. and Med. 1(1): 7-12

- Firma, R.R Amalia, U. Sari, C. Chusbul, A. Amri, and Siregar. 2012. Detection of *Edwardsiella tarda* in Catfish (*Clarias sp.*) by Fluorescent Antibody technique (FAT). J. Akuakultur Indo. 11(1) : 96-102.
- Ikhsan, M.N. 2013. Upaya Pengendalian Infeksi Bakteri *Edwardsiella tarda* pada Ikan Lele (*Clarias sp.*) Menggunakan Ekstrak Kunyit (*Curcuma longa*) [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Keumalawati, L.T. 2016. Efek Perendaman Ekstrak *Spirulina platensis* terhadap Hepatopankreas Ikan Gurame (*Osfrophonemus gouramy*) yang Diinfeksi *Aeromonas hydrophilla* [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Lukistyowati, I. 2012. Studi Efektifitas Sambilotto (*Andrographis paniculata Ness*) untuk Mencegah Penyakit *Edwardsiellosis* pada Ikan Patin (*Pangius hypophthalmus*). J. Berkala Perikanan. 40(2): 56-74
- Marshelly, EVD. 2015. Gambaran Histopatologi Insang Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hidrophila* [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya
- Narwiyani, S., dan Kurniasih. 2011. Phylogenetic Tree dari Empat isolat *Edwardsiella tarda* di Indonesia. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta. J. Biota. 16(2): 348-353
- Pramyrtha, E., Anwar, C., Kuncorojakti, S., dan Yustinasari, L.R. 2014. Buku Ajar Histologi Veteriner Jilid 2. Departemen Anatomi Veteriner. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya. 146 hlm.
- Purnamasari. 2012. Tingkat Infeksi Ektoparasit pada Benih Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) [Skripsi]. Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin Makassar.
- Sari, D.R., Prayitno, S.B., Sarjito. 2014. Pengaruh Perendaman Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*) terhadap Kelulushidupan dan Histologi Ginjal Ikan Lele (*Clarias gariepinus*) yang Diinfeksi Bakteri *Edwardsiella tarda*. J. of Aquac. and Tech. 3(4): 126-133.
- Setiaji, Agung. 2009. Efektifitas Ekstrak Daun Pepaya *Carica Papaya* untuk Pencegahan dan Pengobatan Ikan Lele Dumbo *Clarias sp.* Yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* [Skripsi]. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor.
- Setyowati, E., Prayitno, S.B., dan Sarjito. 2014. Pengaruh Perendaman Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*) terhadap Kelulushidupan dan Histologi Hati Ikan Patin (*Pangius hypophthalmus*) yang Diinfeksi Bakteri *Edwardsiella tarda*. J. of Aquaculture Management and Tech. Semarang. 3(4): 174-182.