

## **Identifikasi Bakteri Dan Studi Resistensi Antibiotik Enrofloksasin Serta Histopatologi Pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Di Kabupaten Pasuruan Jawa Timur**

### ***Identification Of Bacteria And Study Of Enrofloxacin Antibiotic Resistance And Histopathology In Dumbo Catfish (*Clarias gariepinus*) In Pasuruan District, East Java***

**Umi Utami Dewi<sup>1</sup>, Rr Juni Triastuti<sup>1</sup>, Laksmi Sulmartiwi<sup>1</sup>, Rikky Leonard<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>Program Magister Ilmu Perikanan, Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Airlangga, Jl. Mulyorejo, Surabaya 60115, Indonesia

<sup>1</sup>Departemen Kelautan, Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Airlangga, Jl. Mulyorejo, Surabaya 60115, Indonesia

<sup>1</sup>Departemen Teknik Keselamatan dan Kesehatan Kerja, Jurusan Teknik Permesinan Kapal, Politeknik Perkapalan Negeri Surabaya, Jl. Teknik Kimia, Kampus Sukolilo Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya 60111, Indonesia

\*Corresponding Author: rikkyleonard@ppns.ac.id

#### **ABSTRAK**

Kegiatan budidaya ikan lele dumbo tidak terlepas dari berbagai permasalahan salah satunya penyakit. Keberhasilan budidaya ikan lele dumbo dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah pengendalian serangan penyakit bakteri. Ikan lele dumbo rentan terhadap penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. Bakteri *A. hydrophila* dapat menyebabkan *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS). Pengendalian penyakit pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) sering menggunakan antibiotik jenis enrofloxacin. Penggunaan antibiotik dapat menimbulkan dampak negatif salah satunya dapat menimbulkan resistensi. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis jenis bakteri pada ikan lele dumbo di Kabupaten Pasuruan dan respon bakteri tersebut terhadap antibiotik enrofloxacin serta memperoleh gambaran histopatologi hati, ginjal dan limpa. Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif dan eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Sampel terdiri dari 25 sampel ikan lele dumbo yang diambil dari 5 kecamatan di Kabupaten Pasuruan. Kecamatan Beji 10 sampel, Kecamatan Rembang 6 sampel, Kecamatan Purwosari 3 sampel, Kecamatan Gempol 3 sampel dan Kabupaten Bangil 3 sampel. Inhibisi bakteri menggunakan 3 perlakuan enrofloxacin yaitu perlakuan A (5 µl), B (7,5 µl) dan C (10 µl). Analisis data menggunakan SPSS dengan uji ANOVA dan dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Aeromonas hydrophila* teridentifikasi pada 23 sampel dan *Aeromonas salmonicida* pada 2 sampel. Tidak terdapat resistensi bakteri *Aeromonas hydrophila* terhadap antibiotik jenis enrofloxacin yang ditunjukkan dengan rata-rata zona hambat terendah pada perlakuan A dosis 5 µl di Kecamatan Purwosari dan rata-rata zona hambat tertinggi diperoleh pada perlakuan C dosis 10 µl di Kecamatan Purwosari. Terjadi kerusakan pada ginjal, hati dan limpa ikan yang diberi *Aeromonas hydrophila*. Kesimpulan dari penelitian ini adalah dosis optimal enrofloxacin untuk ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) di Kabupaten Pasuruan adalah 5 µl.

**Kata kunci:** Lele Dumbo (*Clarias Gariepinus*), Enrofloxacin, Histopatologi, Pasuruan, Jawa Timur.

#### **ABSTRACT**

*Catfish farming activities are inseparable from various problems, one of which is disease. The success of African catfish farming is influenced by several factors, one of which is the control of bacterial disease attacks. African catfish are susceptible to diseases caused by *Aeromonas hydrophila* bacterial infections. *A. hydrophila**

bacteria can cause *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS). Disease control in African catfish (*Clarias Gariepinus*) often uses enrofloxacin antibiotics. The use of antibiotics can have a negative impact, one of which can cause resistance. This study aims to analyze the types of bacteria in African catfish in Pasuruan Regency and the response of these bacteria to enrofloxacin antibiotics and to obtain histopathological images of the liver, kidneys and spleen. This research is a descriptive and experimental research using Completely Randomized Design (CRD). The sample consisted of 25 African catfish samples taken from 5 sub-districts in Pasuruan Regency. Beji District 10 samples, Rembang District 6 samples, Purwosari District 3 samples, Gempol District 3 samples and Bangil District 3 samples. Bacterial inhibition used 3 enrofloxacin treatments, namely treatments A (5  $\mu$ l), B (7.5  $\mu$ l) and C (10  $\mu$ l). Data analysis used SPSS with ANOVA test and continued with Duncan's multiple range test.

The results showed that *Aeromonas hydrophila* was identified in 23 samples and *Aeromonas salmonicida* in 2 samples. There was no resistance of *Aeromonas hydrophila* bacteria to the enrofloxacin type antibiotic as indicated by the lowest average inhibition zone in treatment A dose of 5  $\mu$ l in Purwosari District and the highest average inhibition zone was obtained in treatment C with a dose of 10  $\mu$ l in Purwosari District. Kidney, liver and spleen damage occurred in fish treated with *Aeromonas hydrophila*. The conclusion of this study is that the optimal dose of enrofloxacin for African catfish (*Clarias gariepinus*) in Pasuruan Regency is 5  $\mu$ l.

**Keywords:** Dumbo Catfish (*Clarias Gariepinus*), Enrofloxacin, Histopathology, Pasuruan District, East Java.

## PENDAHULUAN

Ikan lele dumbo merupakan salah satu jenis ikan unggulan untuk budidaya air tawar karena teknologi budidayanya telah banyak dikuasai oleh masyarakat, serta memiliki peluang pasar yang cukup tinggi (Wahjuningrum dkk., 2013). Kegiatan budidaya ikan lele dumbo tidak terlepas dari berbagai permasalahan salah satunya penyakit. Penyakit merupakan kendala utama bagi keberhasilan produksi. Munculnya penyakit dapat terjadi karena beberapa faktor seperti kepadatan ikan yang tinggi selama pemeliharaan, pengangkutan benih, penanganan dan pengelolaan kualitas air yang buruk (Thanikachalam *et al.*, 2010).

Salah satu penyakit yang sering menyerang lele dumbo adalah bakteri. Bakteri yang dilaporkan sebagai agen penyakit bakteri pada ikan lele dumbo adalah *Aeromonas* sp., *Pseudomonas* sp., *Edwardsiella* sp. dan *Vibrio* sp (Sarjito dkk., 2013). Gejala klinis yang ditunjukkan oleh ikan yang terinfeksi bakteri adalah nafsu makan menurun, ikan cenderung tidak aktif, berenang tidak wajar, insang pecah, bercak putih, pucat dan bersisik. Agen penyebab penyakit dari bakteri *Aeromonas caviae* juga telah dilaporkan oleh Sarjito dkk., (2013). Penyakit ini dapat menyebabkan angka kematian lebih dari 60% dalam waktu 7 hari. Ikan lele dumbo rentan terhadap penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. Bakteri *A. hydrophila* dapat menyebabkan *Motil Aeromonas Septicemia* (MAS), septicemia hemoragik, penyakit maag atau penyakit luka merah (Rey *et al.*, 2009).

Tujuan penelitian adalah menganalisis jenis bakteri pada ikan lele dumbo dan respon bakteri tersebut terhadap antibiotik enrofloksasin serta memperoleh gambaran histopatologi hati, ginjal dan limpa di Kabupaten Pasuruan.

Berbagai upaya telah dilakukan untuk meminimalisir potensi kerugian ekonomi akibat penyakit, baik pencegahan maupun pengobatan. Kegiatan pencegahan yang dapat dilakukan adalah dengan menggunakan vaksin dan probiotik (Thanikachalam *et al.*, 2010) dan fitofarmaka (Galina *et al.*, 2009). Selain upaya tersebut, masyarakat sudah terbiasa menerapkan penggunaan obat ikan khususnya antibiotik dalam pengobatan penyakit ikan. Antibiotik menjadi pilihan yang biasa digunakan petani untuk mengatasi masalah tersebut. Antibiotik adalah antibakteri yang diperoleh dari mikroorganisme. Antibakteri biasanya digunakan dalam akuakultur selama siklus produksi, baik dalam pembesaran maupun pembenihan (Rodríguez *et al.*, 2005).

Antimikroba adalah obat yang dapat menghambat atau mengganggu pertumbuhan mikroba seperti antivirus, antibakteri, antijamur dan antiprotozoa. Pemerintah Indonesia telah mengatur penggunaan antimikroba khususnya antibiotik yang diperbolehkan dalam budidaya perikanan sesuai dengan Peraturan Menteri Kelautan dan Perikanan nomor 1/PERMEN-KP/2019 tentang Obat Ikan. Terdapat 6 (enam) jenis antibiotik yang diperbolehkan digunakan oleh pembudidaya ikan,

yaitu: erythromycin, enrofloxacin, chlortetracycline, oxytetracycline, tetracycline dan sulfadiazine.

Menurut Zafran dkk. (2020), pemilihan obat/antibiotik ini biasanya berdasarkan ketersediaan pasar, bukan berdasarkan uji laboratorium sehingga hasilnya mengecewakan dimana masih terjadi kematian ikan budidaya. Pemilihan antibiotik yang tidak tepat, baik jenis maupun dosisnya dapat mengakibatkan penyakit yang tidak dapat disembuhkan. Dampak negatif lainnya adalah terbentuknya strain bakteri yang resisten terhadap antibiotik tersebut, terjadinya residu antibiotik pada tubuh ikan dan pada lingkungan budidaya itu sendiri. Resistensi antibiotik dapat terjadi karena beberapa sebab, antara lain penggunaan dosis yang tidak sesuai, penggunaan dalam jangka waktu yang lama, dan penggunaan yang terlalu sering.

Resistensi muncul karena bakteri mampu melakukan perubahan secara internal untuk menahan serangan antibiotik secara terus menerus. Bakteri memiliki kemampuan untuk menghasilkan enzim yang dapat menguraikan antibiotik dan memperkuat membran selnya sehingga tidak dapat ditembus oleh antibiotik. Proses ini menyebabkan antibiotik tidak lagi efektif membunuh bakteri penyebab penyakit. Oleh karena itu perlu kehati-hatian dalam memilih antibiotik yang akan digunakan dalam pengendalian penyakit bakteri pada budidaya ikan.

Ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) merupakan salah satu komoditas ekspor perikanan budidaya terbesar ke Uni Eropa, khususnya dari Kabupaten Pasuruan, Jawa Timur. Oleh karena itu ada persyaratan dari Uni Eropa untuk memantau residu produk budidaya dengan mengambil sampel empat komoditas yaitu udang, bandeng, nila, lele dumbo. Dari hasil pemantauan residu yang dilakukan oleh Dinas Kelautan dan Perikanan Provinsi Jawa Timur pada tahun 2021 dan 2022, ditemukan adanya residu enrofloksasin pada ikan lele dumbo di Kabupaten Pasuruan. Hal ini menunjukkan bahwa petani di Kabupaten Pasuruan masih menggunakan antibiotik secara berlebihan.

Penggunaan antibiotik yang meluas dan tidak terkontrol dapat memicu munculnya resistensi antimikroba. Saat ini resistensi antimikroba merupakan masalah global yang memerlukan perhatian serius dalam bidang kesehatan manusia, hewan termasuk ikan dan lingkungan. Khusus untuk hewan akuatik, OIE telah mengatur resistensi

antimikroba pada hewan akuatik yang tertuang dalam Kode Kesehatan Hewan Akuatik 2014 pada bab 6. Pemilihan dan penggunaan antibiotik tidak akan menjadi masalah serius jika digunakan secara tepat untuk pengobatan sesuai dengan jenis bakteri penular, dosis dan mekanisme kerja antibiotik tersebut.

Penggunaan antibiotik tanpa diagnosis yang tepat akan mengakibatkan penggunaan yang berlebihan atau penyalahgunaan yang mengakibatkan resistensi antimikroba terhadap bakteri patogen pada ikan. Adanya resistensi antimikroba akan mengakibatkan ikan sakit sulit disembuhkan. Berdasarkan hal tersebut, diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai identifikasi bakteri dan kajian resistensi antimikroba enrofloxacin pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) di Kabupaten Pasuruan Jawa Timur.

## **METODE PENELITIAN**

### **Waktu dan Tempat**

Penelitian dilakukan selama satu tahun dari pengambilan sampel bulan September 2022-Januari 2023 di lima kecamatan dengan produksi lele dumbo terbesar di Kabupaten Pasuruan yaitu Kecamatan Beji, Rembang, Purwosari, Gempol dan Bangil. Hasil pengambilan sampel dari bulan Februari-april 2023 sesuai rincian tersebut kemudian dilakukan uji resistensi antimikroba di UPT Laboratorium Penguji Laboratorium Kesehatan Ikan dan Lingkungan Pasuruan. Sedangkan untuk analisis data dilakukan pada bulan Mei-Agustus 2023.

### **Alat dan Bahan Penelitian**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung reaksi, rak tabung reaksi, beaker glass, erlenmeyer, bunsen, gunting, LAF, spatula, inkubator, korek api, sprayer, segitiga, jarum ose, cawan petri, timbangan digital, mikropipet, hotplate, kulkas, nampan, gelas ukur, kamera, kompor gas, gunting, pipet volume, pipet serologi dan autoklaf.

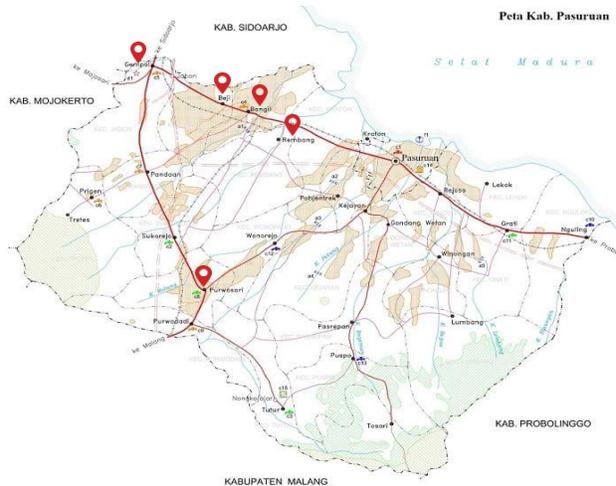
Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain ikan lele dumbo sakit. Media tumbuh yang digunakan adalah LBA (ekstrak ragi 5gr/liter, pepton 10 gr/liter, NaCl 10 gr/liter, agar 15 gr/liter), media gelatin (pepton 5 gr/liter, ekstrak daging sapi 3 gr/liter, gelatin 120 gr/liter), kain kering, tisu, kertas label, kapas, air suling, spiritus, aluminium foil, plastik pembungkus, NaFis 0,9%, bakteri, plastik PP,

alkohol 70%, kertas atau koran bekas, air, pulpen s, spidol, masker, sarung tangan dan tali. Antibiotik yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis antibiotik yang diperbolehkan oleh Kementerian Kelautan dan Perikanan di bidang budidaya yaitu jenis enrofloxacin.

Bakteri patogen yang menjadi sasaran penelitian ini adalah jenis bakteri yang memiliki kekerabatan dekat dengan patogen pada manusia dan jenis bakteri penyebab banyak penyakit ikan lele dumbo yaitu *Aeromonas hydrophila*. Penentuan jumlah isolat berdasarkan OIE Code dengan design prevalensi 5% dengan sensitivitas 95% dan spesifisitas 99%.

### Desain penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen dengan pendekatan kuantitatif (Samsundari dan Wirawan, 2015). Rancangan penelitian menggunakan metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Metode pengambilan sampel menggunakan simple random sampling. Sampel ikan lele dumbo yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari 5 (lima) kecamatan di Kabupaten Pasuruan.



**Gambar 1.** Denah Lokasi Pengambilan Sampel

Penentuan jumlah sampel di setiap kecamatan didasarkan pada jumlah kasus yang sering terjadi. Rincian pengambilan sampel sebagai berikut: Kecamatan Beji 10 sampel, Kabupaten Rembang 6 sampel, Kecamatan Purwosari 3 sampel, Kecamatan Gempol 3 sampel dan Kabupaten Bangil 3 sampel. Sehingga totalnya adalah 25 sampel ikan lele dumbo. Selanjutnya ikan lele dumbo dari masing-masing

lokasi yang telah ditentukan diambil masing-masing sebanyak 300 gram. Denah Kecamatan yang ditetapkan sebagai lokasi pengambilan sampel untuk penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 1.

### Prosedur Kerja

#### Persiapan Isolat dan Identifikasi Bakteri

Sampel ikan lele dumbo diambil dari ikan lele dumbo yang menunjukkan gejala sakit seperti terdapat luka pada tubuh, bercak merah, kulit mengelupas dan gerakan ikan yang tidak stabil. Sampel ikan yang didapatkan selanjutnya dilakukan pengambilan organ target seperti hati, ginjal dan limpa. Pengambilan organ target tersebut mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Austin dan Austin (2007), yang menyatakan bahwa bakteri *Aeromonas hydrophila* secara internal mengakibatkan adanya akumulasi cairan (asites), dan kerusakan pada organ-organ terutama ginjal dan hati. Penelitian Irianto (2005), menambahkan secara histopatologis tampak terjadinya nekrosis pada limpa, hati dan ginjal.

Bakteri diisolasi menggunakan media yang sesuai dan dikultur berdasarkan sifat fisiologi masing-masing bakteri dan identifikasi bakteri dilakukan berdasarkan karakteristik biokimiawi sesuai metode SNI atau metode lain yang sekurang-kurangnya setara.

#### Pengujian Uji Sensitivitas Antimikroba (AST)

Uji sensitivitas antibiotik dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar. Metode ini dilakukan dengan menggunakan kertas cakram antibiotik dan dihitung tingkat sensitivitas antibiotik berdasarkan zona hambat yang terbentuk.

Sebatang kapas steril dicelupkan ke dalam suspensi isolat bakteri target 0,5 McF, kemudian permukaan agar digoreskan secara diagonal dari kiri ke kanan. Ulangi 2-3 kali menggores permukaannya dari kiri ke kanan dengan mengubah/memutar posisi cangkir membentuk seperempat lingkaran. Lakukan hal yang sama untuk bakteri standar ATCC dan strain kontrol. Disk kertas antibiotik ditempatkan pada permukaan agar dengan jarak sedemikian rupa sehingga diharapkan tidak terjadi akumulasi zona hambat. Agar plate yang berisi cakram antibiotik diinkubasi selama 15-30 menit pada suhu ruang (18°C – 22°C), kemudian diinkubasi kembali pada suhu optimum bakteri selama 16-24 jam (CLSI, 2018

untuk Enterobacteriaceae). Zona penghambatan pertumbuhan bakteri kemudian diukur dalam milimeter. Berdasarkan hasil pengujian AST, hasil pengujian yang masuk dalam kategori Intermediate dan Sensitive kemudian dilanjutkan ke pengujian MIC.

### Pengamatan Histopatologi

Sampel ginjal, hati dan limpa diambil dengan menggunakan section set sebanyak 25 sampel. Sampel ginjal yang telah diambil dimasukkan ke dalam botol film dan diberi pengawet berupa larutan formalin 10% hingga sampel mengapung dalam larutan, dilanjutkan dengan pembuatan preparat histopatologi dan pengamatan preparat untuk hasil histopatologi.

Secara garis besar tahapan pembuatan histopatologi adalah fiksasi, processing, embedding, sectioning, staining dan observasi. Proses fiksasi yaitu pengambilan sampel insang ke dalam botol sampel dan pemberian larutan fiksasi dan larutan Davidson lebih baik dari formalin, dilanjutkan dengan pembuatan preparat histopatologi dan pengamatan preparat untuk hasil histopatologi.

### Analisis data

Pengolahan data dalam penelitian dilakukan dengan menghitung statistik ANOVA (*Analysis of Variance*) untuk mengetahui pengaruh dari perlakuan yang diberikan. Jika terdapat perbedaan yang signifikan, maka dilanjutkan dengan perhitungan Uji Jarak Berganda Duncan dengan derajat kepercayaan 0,05 untuk mengetahui perlakuan dengan hasil terbaik (Kusriningrum, 2012).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Identifikasi Bakteri

Isolasi bakteri dilakukan terhadap 25 sampel ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang berasal dari Kabupaten Pasuruan. Dari setiap isolasi bakteri diambil koloni bakteri yang dominan. Bakteri yang telah diisolasi selanjutnya digunakan peralatan API 20 NE (Biomerieux) untuk mengidentifikasi bakteri tersebut. API 20 NE digunakan untuk mengidentifikasi bakteri melalui uji biokimia. Hasil uji biokimia dapat diamati secara visual kemudian dimasukkan ke dalam program Apiweb untuk dicocokkan dengan database bakteri yang ada untuk menentukan spesies bakteri. Tingkat kecocokan

sampel bakteri dengan bakteri yang terdapat pada database program dianggap valid jika tingkat kecocokannya mencapai 80% atau lebih. Ketidaksesuaian hasil API 20 NE dapat terjadi karena setiap uji biokimia memiliki persentase kemungkinan menjadi positif atau negatif dan tidak memiliki kepastian hasil 100%.

Hasil pengamatan bakteri secara visual dan mikroskop ditunjukkan pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil penelitian identifikasi bakteri

No	Lokasi	Hasil Identifikasi Bakteri
1	Kecamatan Beji	<i>Aeromonas hydrophila</i>
2	Kecamatan Beji	<i>Aeromonas hydrophila</i>
3	Kecamatan Beji	<i>Aeromonas hydrophila</i>
4	Kecamatan Beji	<i>Aeromonas hydrophila</i>
5	Kecamatan Beji	<i>Aeromonas hydrophila</i>
6	Kecamatan Beji	<i>Aeromonas hydrophila</i>
7	Kecamatan Beji	<i>Aeromonas hydrophila</i>
8	Kecamatan Beji	<i>Aeromonas hydrophila</i>
9	Kecamatan Beji	<i>Aeromonas hydrophila</i>
10	Kecamatan Beji	<i>Aeromonas hydrophila</i>
11	Kecamatan Rembang	<i>Aeromonas hydrophila</i>
12	Kecamatan Bangil	<i>Aeromonas salmonicida</i>
13	Kecamatan Bangil	<i>Aeromonas salmonicida</i>
14	Kecamatan Gempol	<i>Aeromonas hydrophila</i>
15	Kecamatan Rembang	<i>Aeromonas hydrophila</i>
16	Kecamatan Rembang	<i>Aeromonas hydrophila</i>
17	Kecamatan Purwosari	<i>Aeromonas hydrophila</i>
18	Kecamatan Bangil	<i>Aeromonas hydrophila</i>

19	Kecamatan Rembang	<i>Aeromonas hydrophila</i>
20	Kecamatan Rembang	<i>Aeromonas hydrophila</i>
21	Kecamatan Rembang	<i>Aeromonas hydrophila</i>
22	Kecamatan Gempol	<i>Aeromonas hydrophila</i>
23	Kecamatan Gempol	<i>Aeromonas hydrophila</i>
24	Kecamatan Purwosari	<i>Aeromonas hydrophila</i>
25	Kecamatan Purwosari	<i>Aeromonas hydrophila</i>

Sumber (Dokumentasi Pribadi, 2022)

Dari hasil seluruh sampel uji penelitian diketahui bahwa bakteri yang teridentifikasi adalah bakteri gram negatif, hal ini ditunjukkan dengan munculnya lendir yang muncul pada saat pencabutan isolat bakteri yang telah disuspensi dalam cairan media KOH 3% yang telah diberikan pada sediaan dengan jarum loop steril. Sebagian besar bakteri patogen, seperti *Aeromonas hydrophila* dan *Aeromonas salmonicida* adalah bakteri gram negatif.

Menurut Haryani *et al.* (2012), *Aeromonas hydrophila* merupakan bakteri heterotrof uniseluler yang ditandai dengan tidak adanya membran yang memisahkan nukleus dengan sitoplasma. Bakteri ini berukuran 0,7 - 1,8 x 1,0 - 1,5  $\mu$ m dan memiliki flagel tunggal di salah satu ujungnya. Kemudian bakteri ini membentuk batang hingga kokus dengan ujung membulat.

Sifat oportunistik bakteri *A. hydrophila* membuat pembudidaya harus selalu waspada terhadap perubahan lingkungan yang dapat menyebabkan penyakit ini. Bakteri *A. hydrophila* memiliki kecenderungan untuk meningkatkan patogenisitasnya ketika terjadi penurunan kualitas air dan penurunan kondisi kesehatan ikan yang disebabkan oleh stres. Pada suhu 30°C, tingkat kematian ikan lele dumbo (*C. batrachus*), ikan mas (*Labeo rohita*), dan betok (*Anabas testudineus*) mencapai 60-100% selama 2-11 hari pemeliharaan (Sarkar dan Rashid, 2012).

### Uji Penghambatan Bakteri

Uji daya hambat antibiotik enrofloxacin terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* dimaksudkan untuk melihat seberapa besar zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram. Zona bening menunjukkan kemampuan antibiotik enrofloxacin dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Uji cakram dilakukan dengan dosis 5  $\mu$ l, 7,5  $\mu$ l, 10  $\mu$ l. Hasil uji inhibisi disajikan pada Tabel 2 di bawah ini.

**Tabel 2.** Hasil Uji Daya Hambat Bakteri

Sampel	Diameter Zona Hambat (mm)		
	(5 $\mu$ l)	(7,5 $\mu$ l)	(10 $\mu$ l)
Kecamatan Beji	24	34	41
Kecamatan Beji	24	33	42
Kecamatan Beji	25	35	43
Kecamatan Beji	26	36	42
Kecamatan Beji	25	34	43
Kecamatan Beji	24	33	42
Kecamatan Beji	26	36	42
Kecamatan Beji	25	34	43
Kecamatan Beji	25	34	44
Kecamatan Beji	24	32	41
Kecamatan Rembang	25	35	42
Kecamatan Bangil	26	36	41
Kecamatan Bangil	25	34	43
Kecamatan Gempol	26	35	44
Kecamatan Rembang	26	36	43
Kecamatan Rembang	24	33	41
Kecamatan Purwosari	25	34	44

Kecamatan Bangil	26	35	42
Kecamatan Rembang	26	34	42
Kecamatan Rembang	25	35	43
Kecamatan Rembang	25	34	43
Kecamatan Gempol	25	35	43
Kecamatan Gempol	26	36	44
Kecamatan Purwosari	24	33	43
Kecamatan Purwosari	24	33	43

Sumber (Dokumentasi Pribadi, 2022)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada perlakuan 1 dosis 5 µl diameter zona hambat berkisar antara 24 – 26 mm, sedangkan pada perlakuan 2 dosis 7,5 µl diameter zona hambat berkisar antara 32 – 36 mm dan pada perlakuan 3 dosis 10 µl diameter zona hambat berkisar antara 41 – 44 mm. Berdasarkan hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa zona hambat yang terbentuk termasuk dalam kategori kuat. Hal ini sesuai dengan Janata dkk., (2014), kriteria kekuatan aktivitas antibakteri yaitu diameter zona hambat ≤ 5 mm dikategorikan lemah, diameter 5-10 mm dikategorikan sedang, diameter 10-20 mm dikategorikan kuat dan zona hambat ≥ 20 mm dikategorikan sangat kuat.

Berdasarkan hasil pengamatan diameter zona bening pada disc test selama penelitian, masing-masing perlakuan didapatkan zona bening. Diameter zona bening hasil penelitian dipengaruhi oleh jumlah dosis yang digunakan, semakin tinggi dosis yang digunakan maka semakin besar diameter zona bening yang dihasilkan. Pernyataan ini sesuai dengan Sundari (1999), bahwa konsentrasi ekstrak yang diuji mempengaruhi diameter daerah hambat bakteri yang terbentuk. Semakin tinggi tingkat (konsentrasi) konsentrasi, semakin besar diameter daerah hambat. Hal ini sesuai dengan kandungan senyawa aktif pada masing-masing konsentrasi, dimana semakin tinggi konsentrasi

maka semakin tinggi pula senyawa dari masing-masing konsentrasi tersebut.

Setelah dilakukan pengukuran diameter zona hambat, kemudian dilanjutkan dengan analisis menggunakan ragam. Hal ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh dari setiap perlakuan yang telah diberikan. Berikut adalah tabel variansi zona bening hasil beberapa perlakuan dosis antibiotik enrofloxacin yang berbeda seperti disajikan pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Hasil uji ANOVA

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: Hasil Cakram

	(I) Perla kuan	(J) Perla kuan	Mean Differen ce (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LS D	5.0	7.5	-9.320 <sup>*</sup>	.277	.000	-9.87	-8.77
		10.0	-17.520 <sup>*</sup>	.277	.000	-18.07	-16.97
	7.5	5.0	9.320 <sup>*</sup>	.277	.000	8.77	9.87
		10.0	-8.200 <sup>*</sup>	.277	.000	-8.75	-7.65
	10.0	5.0	17.520 <sup>*</sup>	.277	.000	16.97	18.07
		7.5	8.200 <sup>*</sup>	.277	.000	7.65	8.75

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

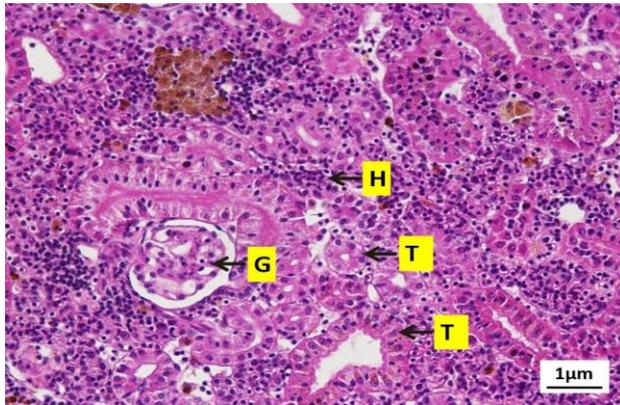
Sumber (Dokumentasi Pribadi, 2022)

Dari hasil uji ANOVA diperoleh hasil F hitung 2008,070 lebih besar dari F Tabel pada taraf signifikansi 0,05 yaitu 2,726. Dari data diatas diketahui bahwa karena 2008,07 > 2,726 maka Ho ditolak sehingga dengan menggunakan taraf signifikansi 0,05 dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata diameter zona hambat antara perlakuan 1, perlakuan 2 dan perlakuan 3.

**Histopatologi Ginjal Ginjal Ikan Normal dan Terinfeksi Bakteri *A. Hydrophilla***

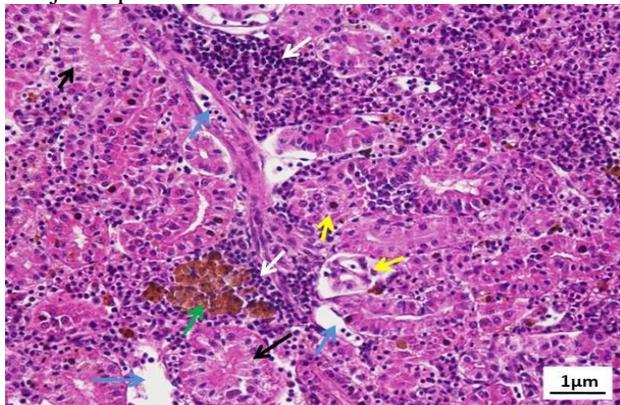
Berdasarkan hasil penelitian, penampakan jaringan ginjal pada ikan lele dumbo normal (tanpa infeksi bakteri dan tanpa antibiotik enrofloxacin

menunjukkan bentuk histologis yang normal seperti disajikan pada Gambar 2.



**Gambar 2.** Gambaran histologi ginjal normal, terdiri dari glomeruli (G), tubulus (T) dan jaringan hematopoietik (H). perbesaran 400x, HE.

Pada Gambar 2 terlihat bahwa jaringan ginjal ikan sehat menunjukkan gambaran normal tanpa ada kerusakan. Penampang jaringan di glomerulus dan tubulus terlihat normal. Penampilan jaringan ginjal di tubulus distal dan jaringan hematopoietik dalam kondisi normal. Sedangkan jaringan ginjal ikan yang terinfeksi bakteri menunjukkan beberapa kerusakan. Kerusakan yang terjadi meliputi degenerasi, makrofag, kongesti dan nekrosis. Gambar jaringan ginjal ikan yang terinfeksi *Aeromonas hydrophila* disajikan pada Gambar 3.



**Gambar 3.** Ginjal terinfeksi *Aeromonas hydrophila*. Degenerasi (panah hitam), MMC/Makrofag mengandung hemosiderin (panah hijau), sel radang infiltrasi (panah putih), dilatasi dan kemacetan pembuluh darah (panah biru) dan nekrosis (panah kuning). perbesaran 400x, HE.

Disfungsi yang terjadi pada glomerulus adalah terjadinya infiltrasi yang menyebabkan

kerusakan pada tubulus. Degenerasi adalah kondisi adanya zat abnormal pada jaringan, seperti terjadinya yang ditandai dengan gumpalan hitam pada ginjal. Perubahan patologis ikan teripang Korea (*Misgurnus anguillicaudatus*) yang terinfeksi *Aeromonas hydrophilla* yaitu degenerasi tubulus distal dan glomerulus serta jaringan hematopoietik nekrotik (Istikhahah, 2014).

Degenerasi lemak ditandai dengan jaringan bengkak dan vakuola. Jika banyak lemak yang menumpuk di dalam sel dan kehilangan kemampuan untuk memetabolisme lemak dengan baik, maka akan timbul apa yang disebut dengan degenerasi lemak dan merupakan respon lebih lanjut terhadap degenerasi hidropik (pembengkakan sel tingkat lanjut yang ditandai dengan adanya ruang-ruang kosong di dalam sel). sitoplasma sel dengan vakuola yang tampak membesar sehingga mendorong nukleus ke pinggir sel (Kalaiyarasi *et al.*, 2017). Sel yang mengalami degenerasi terus menerus akan mengalami kongesti. Kemacetan adalah suatu keadaan dimana terjadi peningkatan volume darah pada pembuluh darah yang melebar pada suatu bagian tubuh akibat trauma fisik akibat adanya parasit atau gangguan pada sistem peredaran darah (Hadi dan Alwan, 2012).

MMC ditandai dengan adanya area yang meradang dan kumpulan makrofag di sekitarnya (kuning). Menurut Ersas, (2008) adanya MMC (melano macrophages center) menandakan peradangan, yaitu adanya kumpulan makrofag akibat adanya respon perlindungan diri terhadap invasi parasit pada jaringan (Hadi dan Alwan, 2012). Aktivitas makrofag di hati juga merupakan biomarker histologis untuk keberadaan kontaminan (Kalaiyarasi *et al.*, 2017).

Infiltrasi sel radang merupakan respon tubuh akibat rangsangan berbahaya, seperti agen bakteri patogen yang berfungsi sebagai pertahanan non spesifik yang akan melokalisir patogen melalui fagositosis (Lukistyowati, 2012).

Menurut Alifia (2013), kongesti adalah banyaknya darah di pembuluh darah sehingga kapiler darah membengkak. Menurut Solikhah dan Syaningrum (2015), kongesti ditandai dengan dilatasi (talangiectasis) pembuluh darah akibat peningkatan jumlah eritrosit.

Kemacetan adalah peningkatan jumlah darah di dalam pembuluh darah, yang secara mikroskopis menunjukkan bahwa kapiler darah tampak melebar berisi eritrosit. Kemacetan ditandai dengan

melebarnya kapiler darah yang berwarna lebih merah dan berukuran lebih besar dari kapiler normal. Kemacetan pada tingkat yang parah akan menyebabkan pembuluh darah pecah atau meninggalkan sirkulasi kardiovaskular (arteri, vena dan kapiler) yang pada akhirnya menyebabkan kematian sel atau nekrosis.

Kematian sel lokal (nekrosis) biasanya terjadi di dalam tubuh, atau mungkin karena stres dari zat antar sel. Kerusakan jaringan nekrotik pada hati ikan dapat ditandai dengan hilangnya struktur jaringan (Gambar 2c). Nekrosis dapat ditandai dengan adanya piknosis (Meidiza, 2017). Pycnotic itu sendiri (Gambar 2c) dapat ditandai dengan pengurangan / penyusutan ukuran sel.

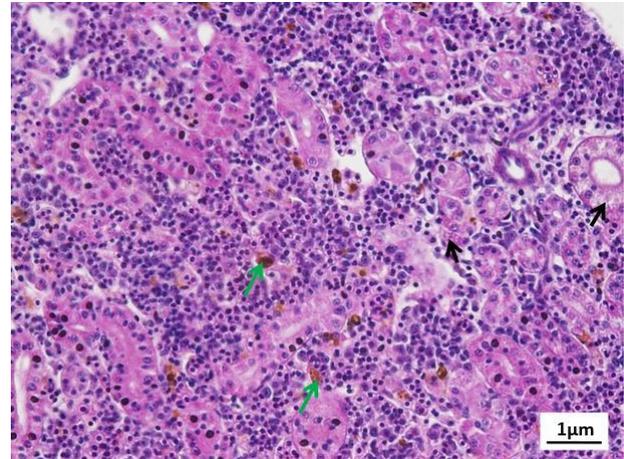
Menurut Tresnati *et al.* (2007), fungsi ginjal dimulai pada glomerulus yang tersusun dari kapiler darah. Glomerulus adalah bagian pembentuk ultrafilter dari plasma. Ultrafilter akan masuk ke kapsul Bowman dan menuju ke lumen tubulus. Penyaringan melalui berbagai segmen tubulus mengakibatkan perubahan volume dan komposisi cairan yang disaring akibat proses reabsorpsi dan sekresi di sepanjang tubulus.

Menurut Adleend (2015), histopatologi ginjal diambil karena hampir 25% dari seluruh aliran darah mengalir ke kedua ginjal. Banyaknya aliran darah ke ginjal menyebabkan paparan ginjal terhadap bahan-bahan yang beredar dalam sistem sirkulasi cukup tinggi, sehingga zat toksik akan mudah menyebabkan kerusakan jaringan ginjal berupa perubahan struktur dan fungsi ginjal. Racun yang masuk ke dalam ginjal dapat menyebabkan berbagai kelainan pada struktur dan fungsi nefron. Kerusakan nefron dapat terjadi pada tubulus, sel darah ginjal, atau kapiler darah di ginjal. Gangguan pada sel darah dapat merusak glomerulus dan kapsul Bowman, sehingga akan mengganggu kelancaran aliran darah di dalam kapiler glomerulus. Kerusakan tubulus dapat terjadi pada sel epitel, termasuk degenerasi dan atrofi sehingga lumen melebar. Kerusakan lebih lanjut dapat mengakibatkan kematian nefron. Kematian nefron terjadi karena degenerasi sel. Degenerasi sel adalah kemunduran sel yang menyebabkan perubahan bentuk dan fungsi.

#### Ginjal Ikan Setelah Pemberian Enrofloxacin

Ginjal yang diobati dengan antibiotik enrofloxacin menunjukkan histopatologi ginjal yang lebih baik daripada ginjal yang terinfeksi *Aeromonas hydrophila*. Hal ini menunjukkan bahwa antibiotik

enrofloxacin mampu mengatasi efek infeksi *Aeromonas hydrophila*. Gambaran histopatologi ginjal seperti disajikan pada Gambar 4.



**Gambar 4.** Ginjal yang telah diberikan enrofloxacin terlihat mengalami degenerasi (panah hitam), hemosiderin (panah hijau) Perbesaran 400x, HE.

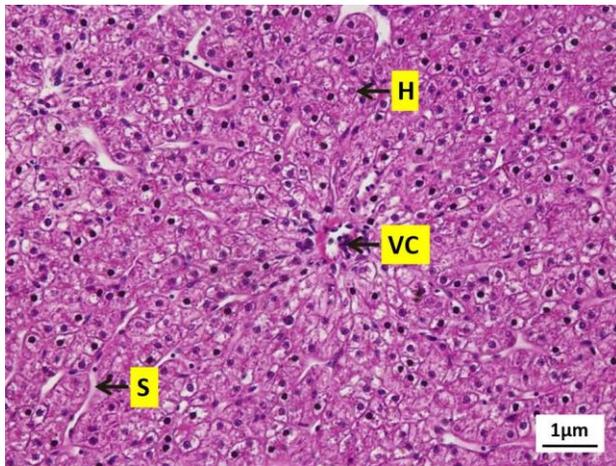
Dari pengamatan yang diperoleh, meskipun masih ditemukan degenerasi, kerusakan tersebut bersifat sementara, dan dapat pulih kembali (reversible) jika paparannya hilang. Selain itu, adanya endapan hemosiderin menandakan telah terjadi perdarahan (hemorrhage) pada ginjal. Adapun kerusakan lain tidak ditemukan, dan dapat dianggap ginjal dalam kondisi normal.

#### Histopatologi Hati

##### Ginjal Ikan Normal dan Terinfeksi Bakteri *A. Hydrophila*

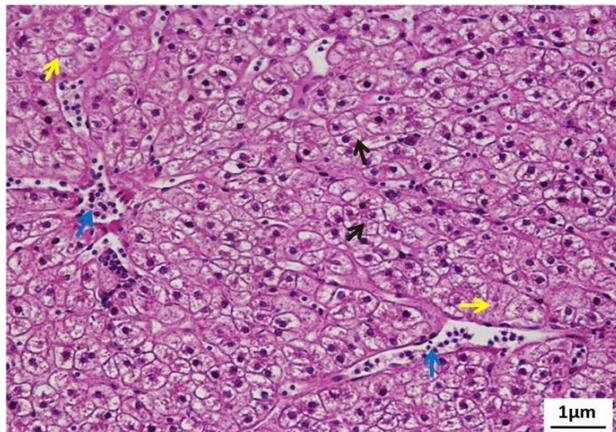
Berdasarkan penelitian histopatologi hati ikan lele dumbo, hasil jaringan hati ikan lele dumbo normal (tanpa infeksi bakteri dan tanpa antibiotik enrofloxacin) menunjukkan bentuk histologi yang normal seperti disajikan pada Gambar 5.

Pada Gambar 5 terlihat bahwa jaringan hati ikan yang sehat menunjukkan gambaran yang normal tanpa adanya kerusakan. Bagian jaringan yang terdiri dari hepatosit, vena sentral dan sinusoid terlihat normal.



**Gambar 5.** Histologi hati normal, terdiri dari hepatosit (H), vena sentral (VC) dan sinusoid (S). perbesaran 400x, HE.

Sedangkan jaringan hati ikan yang terinfeksi bakteri menunjukkan kerusakan. Kerusakan yang terjadi antara lain degenerasi, dilatasi sinusoid dan kongesti dan nekrosis. Gambar jaringan hati ikan yang terinfeksi *Aeromonas hydrophila* disajikan pada Gambar 6.



**Gambar 6.** Hati yang terinfeksi *Aeromonas hydrophila* mengalami degenerasi (panah hitam) dan dilatasi & kongesti sinusoidal (panah biru), dan nekrosis (panah kuning). perbesaran 400x, HE.

Degenerasi merupakan tanda awal kerusakan akibat toksin yang bersifat sementara (reversibel) dan sel masih dapat pulih atau kembali normal jika paparan toksin dihentikan. Degenerasi parenkim merupakan degenerasi paling ringan yang ditandai dengan pembengkakan sitoplasma dan sitoplasma granular, hal ini disebabkan sel tidak mampu menghilangkan air sehingga tertimbun di dalam sel

dan organel sel juga menyerap air dan membengkak sehingga menyebabkan sitoplasma tampak granular (Harada *et al.*, 1999).

Degenerasi parenkim memiliki nama lain, yaitu degenerasi pembengkakan berawan, degenerasi albuminous, dan pembengkakan berawan. Ciri dari degenerasi ini adalah pembengkakan dan kekeruhan sitoplasma akibat endapan protein. Degenerasi ini terjadi akibat bergesernya air ekstraseluler ke dalam sel akibat zat toksik salah satunya timbal (Sarjadi, 2003). Kerusakan hanya terjadi pada sebagian kecil struktur sel. Kerusakan ini menyebabkan oksidasi sel terganggu, sehingga proses pembuangan air juga terganggu. Sehingga terjadi penumpukan air di dalam sel (Istikhomah dan Lisdiana, 2015).

Dilatasi (pelebaran) sinusoid hati adalah tanda kerusakan sinusoid hati. Dilatasi sinusoid pada hepar mencit diduga disebabkan oleh adanya hepatosit yang mengalami nekrosis (Hayati dan Sunaryo, 2014). Hepatosit yang mengalami nekrosis memiliki bentuk yang tidak beraturan, sehingga susunan hepatosit di dalam lobulus juga menjadi tidak beraturan. Akibatnya, sinusoid yang berdekatan dengan hepatosit menjadi melebar. Pelebaran sinusoid juga dapat disebabkan oleh tingginya kadar racun dalam darah yang melewati sinusoid ke vena sentral (Madihah, *et al.*, 2017).

Berdasarkan Surasa *et al.* (2014), sinusoid dapat dengan mudah bersentuhan dengan racun dari hepatosit. Dinding sinusoid terdiri dari sel-sel endotel. Sinusoid dan hepatosit hanya dibatasi oleh celah subendotel yang mengandung mikrovili dari hepatosit. Ini memfasilitasi kontak antara permukaan hepatosit dan sinusoid, sehingga memfasilitasi pertukaran senyawa termasuk racun. Kemacetan atau biasa disebut bendung darah, secara mikroskopis ditunjukkan dengan adanya sel-sel darah yang terdapat pada pembuluh darah, dan letaknya memenuhi lumen pada pembuluh darah. Kemacetan adalah peningkatan volume darah akibat pelebaran pembuluh darah kecil (kapiler) (Robbins dan Kumar, 1992).

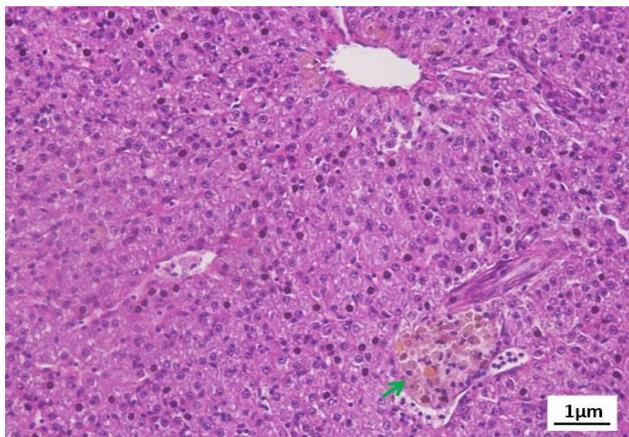
Nekrosis merupakan stadium lanjut dari degenerasi karena terlalu banyak bahan yang harus diserap kembali oleh sel hepatosit yang mengakibatkan kematian sel. nekrosis adalah kematian sel hati. Kematian sel terjadi bersamaan dengan pecahnya membran plasma. Hal ini disebabkan ketika lemak menumpuk dalam jumlah banyak yang mengakibatkan kematian sel-sel hati. Nekrosis diawali dengan terjadinya reaksi

peradangan pada hati berupa pembengkakan hepatosit dan kematian jaringan. Kerusakan yang terlihat pada struktur sel hati yang terdapat pada konsentrasi yang berbeda menunjukkan efek racun, yaitu bakteri yang terus-menerus terpapar pada ikan. Tingkat kerusakan hati dikategorikan menjadi tiga, tingkat ringan adalah perlemakan hati yang ditandai dengan pembengkakan sel. Tingkat kerusakan sedang adalah kongesti dan perdarahan, sedangkan tingkat parah ditandai dengan nekrosis (Darmono, 1995). Pada penelitian ini, kerusakan jaringan hati ikan lele dumbo meliputi tingkat kerusakan sedang dan berat.

Adanya nekrosis menyebabkan respon inflamasi pada jaringan yang masih hidup di sekitar nekrosis. Respon inflamasi ditunjukkan dengan adanya jaringan berwarna merah akibat banyaknya eritrosit. Respon inflamasi ini bertujuan untuk memulihkan jaringan dan menekan agen penyebab nekrosis. Sel yang mengalami nekrosis tidak dapat diserap oleh sel fagosit sehingga dapat melarutkan unsur sel sehingga dapat mengeluarkan enzim litik. Namun jika infeksi berlanjut, menyebabkan sel kehilangan kemampuan untuk beregenerasi sehingga akan memicu fibrosis (Sukarni *et al.*, 2012).

#### Hati Ikan Setelah Pemberian Enrofloxacin

Ginjal yang diobati dengan antibiotik enrofloxacin menunjukkan histopatologi hati yang lebih baik daripada hati yang terinfeksi *Aeromonas hydrophila*. Hal ini menunjukkan bahwa antibiotik enrofloxacin mampu mengatasi efek infeksi *Aeromonas hydrophila*. Gambaran histopatologi hati seperti disajikan pada Gambar 7.



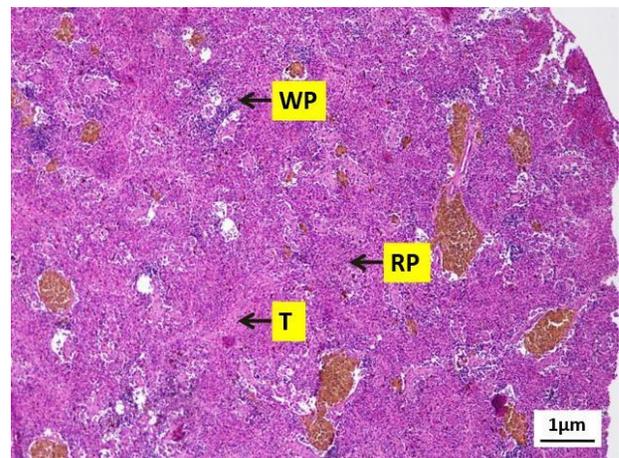
**Gambar 7.** Hati yang telah diberi enrofloxacin tampak normal, tetapi makrofag masih normal ditemukan (panah hijau). perbesaran 400x, HE.

Dari pengamatan yang diperoleh, meskipun makrofag masih ditemukan. Kehadiran makrofag juga menunjukkan bahwa sebelumnya ada agen toksik yang menyebabkan kerusakan sel hati dan mengaktifkan makrofag untuk fagositosis. Namun, kerusakan berkurang seiring waktu dengan perawatan.

#### Histopatologi Limpa

##### Limpa Ikan Normal dan Terinfeksi Bakteri *A. Hydrophilla*

Berdasarkan penelitian histopatologi limpa ikan lele dumbo, hasil gambaran jaringan limpa pada ikan lele dumbo normal (tanpa infeksi bakteri dan tanpa antibiotik enrofloxacin) menunjukkan histologi normal. Pada penelitian ini, gambaran histopatologi limpa ikan lele dumbo normal menunjukkan limpa ikan normal pulpa merah. dan pulpa putih Pulpa putih terdiri dari sel limfoid, terdapat arteri sentral dan bergabung dengan pulpa merah Pulpa merah terdiri dari jaringan sel retikuler dan sinusoid berisi sel darah merah Penampakan limpa normal seperti pada gambar pada Gambar 8.

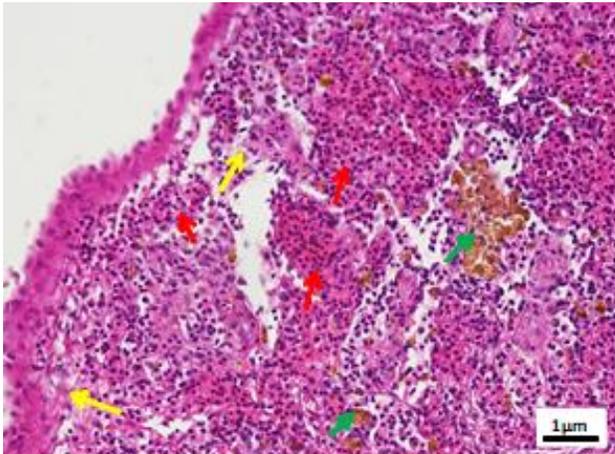


**Gambar 8.** Gambaran histologis limpa normal, terdiri dari tuberkel (T), pulp putih (WP) dan bubur merah (RP). Perbesaran 100x, HE.

Limpa merupakan salah satu organ pertahanan tubuh. Limpa memiliki fungsi menyaring darah dan mengkoordinasikan respon imun. Secara histologi limpa terdiri dari 2 bagian yaitu stroma dan parenkim. Stroma terdiri dari kapsul dan trabekula, sedangkan parenkim limpa terdiri dari pulpa putih yang merupakan sistem kekebalan untuk melawan infeksi dan pulpa merah bertugas mengeluarkan bahan yang tidak perlu dari darah seperti sel darah merah yang rusak (Guyton dan Hall, 2000). Pulpa

merah terdiri dari makrofag, sel plasma, dan elemen darah; pulp putih terdiri dari limfosit yang tersusun rapat di dalamnya dan arteri sentral di tengahnya (Matheos *et al.*, 2013). Pulp putih ini adalah jaringan limfatik yang menyebar ke seluruh limpa sebagai nodul limpa dan sebagai selubung limfatik periarterial. Serabut retikuler dan sel retikuler membentuk jaringan stroma dalam tiga dimensi yang mengandung fragmen limfosit, makrofag, dan sel lain yang serupa dengan yang terlihat pada limfoglandula (Setiasih *et al.*, 2011).

Pada pengamatan jaringan limpa ikan yang terinfeksi bakteri menunjukkan beberapa kerusakan. Kerusakan yang terjadi antara lain makrofag, perdarahan dan nekrosis. Gambar jaringan hati ikan yang terinfeksi *Aeromonas hydrophila* disajikan pada Gambar 9.



**Gambar 9.** Limpa terinfeksi *Aeromonas hydrophila*. Makrofag yang mengandung hemosiderin (panah hijau), perdarahan (panah merah), dan nekrosis (panah kuning). Perbesaran 400x, HE.

Pratiwi dan Manan (2015) menjelaskan bahwa darah dan zat asing yang melewati kapiler masuk ke limpa melalui arteri. Zat asing diaglomerasi atau difagositosis oleh MMC yang berada di sekitar lapisan arteri. Pusat melanomakrofag akan meningkat jumlah dan ukurannya saat ikan mengalami stres. Peningkatan MMC juga dapat terjadi karena keterlibatan dalam proses detoksifikasi, imunitas bawaan dan adaptif (Haraez dan Zapata, 1991; Agius dan Roberts, 2003). Menurut Manrique *et al.* (2014) MMC berfungsi untuk menghancurkan dan mendetoksifikasi zat endogen atau eksogen seperti benda asing dan aktivitas metabolisme sel.

Pengamatan histopatologi pada limpa ikan yang terinfeksi *Aeromonas hydrophila* menunjukkan proliferasi makrofag. Adanya makrofag berfungsi sebagai respon imun untuk mengeliminasi benda asing seperti bakteri. Adanya bakteri di limpa akan mengaktifkan sel radang, limfosit dan makrofag. Proliferasi makrofag dianggap sebagai proses fagositosis bakteri. Nagi *et al.* (2018) melaporkan infeksi *Edwardsiella tarda* pada ikan nila, ditemukan kelainan patologis salah satunya adalah proliferasi makrofag pada limpa. Lesi histopatologis juga terjadi pada lele dumbo dan *Protopterus annectens* yang terinfeksi *Edwardsiella tarda* yaitu: proliferasi makrofag, peradangan, nekrosis dan terjadi perdarahan pada limpa (Adriyanto *et al.* 2009; Rousselet *et al.* 2018).

Pada penelitian ini infeksi *Aeromonas hydrophila* pada ikan lele dumbo menyebabkan gangguan sirkulasi pada darah yaitu kongesti dimana terjadi peningkatan jumlah darah dan telah menyebabkan darah keluar dari pembuluh darah atau hemoragi. Menurut Asnita (2011), hemoragi menandakan keluarnya darah dari pembuluh darah, baik keluar tubuh maupun ke jaringan tubuh, tampak bercak hemoragi pada lapisan mukosa organ tubuh. Ikan yang terinfeksi biasanya dalam keadaan stress karena beberapa faktor dan menunjukkan warna kulit gelap dengan hemoragik yang luas tidak beraturan pada permukaan tubuh dan pangkal sirip. Selain itu, ikan juga menunjukkan gejala asites. Perdarahan juga bisa disebabkan oleh infeksi bakteri patogen.

Nekrosis pada limpa tikus putih disebabkan oleh serangan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Nekrosis dapat disebabkan oleh beberapa hal antara lain kurangnya suplai darah, adanya toksin, tidak ada persarafan saraf, temperatur, sinar radioaktif dan trauma mekanik (Berata *et al.*, 2011). Selain itu, juga ditemukan nekrosis, meski hanya di beberapa area pengamatan di limpa, kemungkinan sel tidak mampu mengatasi infeksi.

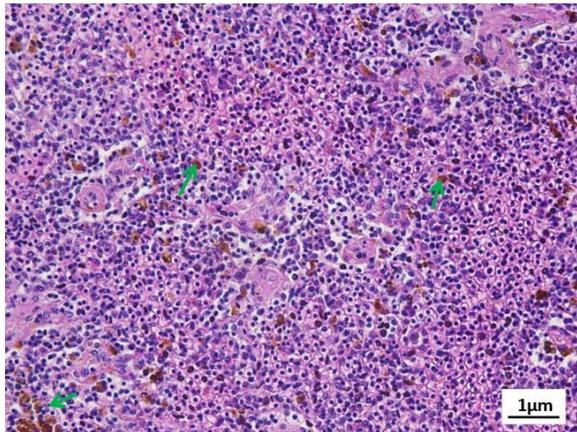
Menurut Tasykal (2015), nekrosis diawali dengan bentuk pengecilan nukleus, pembengkakan hepatosit dan kematian jaringan. Pembengkakan sel ditunjukkan dengan adanya vakuola (ruang kosong). Ketika sel membengkak, sel akan kehilangan fungsi membrannya. Sel akan mengeluarkan materi sel dan kemudian kematian sel atau nekrosis akan terjadi.

Enrofloxacin sebagai obat immunosupresan bekerja dengan cara mereduksi dan menghambat limfosit dan makrofag perifer, sehingga efek enrofloxacin menyebabkan kematian sel pada folikel

limfoid (pulpa putih) limpa. Namun, limfosit pada pulpa merah kurang sensitif terhadap glukokortikoid jika dibandingkan dengan pulpa putih. Glukokortikoid mempengaruhi molekul protein dalam limfosit, yaitu reseptor yang terdapat dalam sitoplasma di luar membran mitokondria yang merangsang mekanisme apoptosis. Perbedaan sensitivitas reseptor glukokortikoid ini mempengaruhi struktur pulpa putih di limpa (Luzicova dan Epimova, 2009). Jika kerja apoptosis ini terus terjadi, sel-sel limpa akan mengalami nekrosis.

### Limpa Ikan Setelah Pemberian Enrofloxacin

Limpa yang diobati dengan enrofloxacin menunjukkan gambaran histopatologis limpa yang lebih baik daripada limpa yang terinfeksi *Aeromonas hydrophila*. Hal ini menunjukkan bahwa antibiotik enrofloxacin mampu mengatasi efek infeksi *Aeromonas hydrophila*. Gambaran histopatologi limpa seperti disajikan pada Gambar 10.



**Gambar 10.** Limpa yang dirawat menunjukkan makrofag (panah hijau). Perbesaran 400x, HE.

Dari pengamatan yang diperoleh, meskipun makrofag masih ditemukan. Pada jaringan limpa yang mengalami kerusakan hanya makrofag yang jumlahnya menurun dibandingkan sebelumnya, sehingga dapat diartikan telah terjadi penurunan infeksi *Aeromonas hydrophila* akibat fagositosis oleh makrofag. Munculnya makrofag sebagai sel fagosit dapat dipicu oleh agen toksik, selain itu banyaknya sel yang rusak juga dapat mengaktifkan makrofag untuk proses fagositosis di dalam tubuh.

### Data Kualitas Air

Kondisi kualitas air media pemeliharaan merupakan kunci utama terkait dengan perubahan kondisi ikan, kondisi air yang baik dan memenuhi syarat dapat mengurangi terjadinya stres bahkan penyakit. Selama penelitian dilakukan pengukuran kualitas air yang meliputi suhu, pH dan oksigen terlarut (DO) di lokasi pengambilan sampel ikan lele dumbo di Kabupaten Pasuruan. Hasil pengukuran kualitas air selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Parameter Kualitas Air di Lokasi Pengambilan Sampel

No	Parameter	Kisaran Parameter Pemeliharaan	Akbar <i>et al.</i> , 2010
1	Temperature	25 °C – 26,5 °C	22 °C – 37°C
2	pH	7,0 – 7,5	6,5 – 8
3	Dissolved Oxygen	6,5 mg/l – 7,7 mg/l	> 4 mg/l

Sumber (Dokumentasi Pribadi, 2022)

Pada tabel di atas terlihat bahwa hasil nilai kualitas air media pemeliharaan yang diukur pada saat sampling menunjukkan nilai yang memenuhi syarat sehingga tidak mempengaruhi kondisi fisiologis ikan. Boyd (1979), menyatakan bahwa peningkatan kandungan kualitas air akibat metabolisme cenderung menimbulkan gangguan fisiologis dan memicu stres pada ikan, sehingga perlu dilakukan pemantauan secara berkala selama pemeliharaan.

### KESIMPULAN

Dari hasil penelusuran bakteri pada sampel ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) di 5 kecamatan di Kabupaten Pasuruan, jenis bakteri yang teridentifikasi adalah *Aeromonas hydrophila*. Tidak terdapat resistensi bakteri *Aeromonas hydrophila* terhadap antibiotik jenis enrofloxacin yang ditunjukkan dari hasil diameter zona hambat berkisar antara 24 – 26 mm (dosis 5 µl), sedangkan pada dosis 7,5 µl diameter zona hambat berkisar antara 32 – 36 mm dan pada dosis 10 µl Diameter zona hambat berkisar antara 41 – 44 mm. Terjadi kerusakan pada ginjal, hati dan limpa ikan yang telah diberi *Aeromonas hydrophila*. Kerusakan pada ginjal meliputi degenerasi, pusat makrofag melano, infiltrasi sel inflamasi, dilatasi pembuluh darah dan kongesti dan nekrosis. Kerusakan hati termasuk

degenerasi, dilatasi sinusoid dan kongesti dan nekrosis. Kerusakan limpa termasuk makrofag, perdarahan dan nekrosis.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Alifia, F. 2013. Histopatologi Insang Ikan Bandeng (*Chanos chanos Forskall*) Yang Tercemar Logam Timbal (Pb). *Jurnal Balik Dewa*. 4 (1): 38-45.
- Asnita. 2011. Identifikasi cacing parasitik dan perubahan histopatologi pada ikan bunglon batik jepara (*Cryptocentrus leptocephalus*) dari kepulauan seribu. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. 70 hlm.
- Austin, B. 1993. *Bacterial Fish Pathogens. In Disease in Farmed and wild fish*. Ellis Horwood Ltd Publisher Chichester, p364.
- Austin, B and D. A. Austin. 2007. *Aeromonadaceae representatives (Aeromonas salmonicida)*. In: *Bacterial Fish Pathogens: Diseases in Farmed and Wild Fish*, 4th Ed. Chichester, UK. Praxis Publishing. Pp: 24-314.
- Berata, I., Winaya, I., Adi, A., Adnyana, I., dan Kardena, I. 2011. *Patologi veteriner umum*. Denpasar: Swasta Nulus.
- Galina J, Yin G, Ardo L, Jeney Z. 2009. The use of immunostimulating herbs in fish: an overview of research. *Fish Physiology and Biochemistry* 35: 669–676.
- Guyton, A. C. and E. J. Hall. 2011. *Textbook of Medical Physiology*. 12th ed. Saunders Elsevier. pp 1112.
- Hadi, A. A. dan S. F. Alwan. 2012. Histopathological changes in gills, liver and kidney of freshwater fish, tilapia zillii, exposed to aluminium. *International Journal of Pharmacy & Life Sciences*. 3 (11): 2071-2081.
- Haryani, A., R. Grandiosa, I. D. Buwono dan A. Santika. 2012. Uji efektivitas daun pepaya (*Carica papaya*) untuk pengobatan infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan mas koki (*Carassius auratus*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 3 (3): 213-220.
- Hayati, H. Sunaryo dan T. H. Syahbandono. 2014. Efek hepatoprotektor fraksi asetat daun sangitan (*Sambucus canadensis* L.) pada tikus sprague dawley. *Media Farmasi*. 11 (1): 55–61.
- Irianto, A., 2005. *Patologi Ikan Teleostei*. Gadjah Mada Univesity Press, Yogyakarta. 256 hlm.
- Istikhomah dan Lisdiana. 2015. Efek hepatoprotektor ekstrak buah pedada (*Sonneratia caseolaris*) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*). *Journal of Life Science*. 4 (1): 1-8.
- Jannata, R. H., A. Gunadi dan T. Ermawati. 2014. Daya antibakteri ekstrak kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*. 2 (1): 23-28.
- Kalaiyarasi, T., Jayakumar. N, Jawahar P., Ahilan B dan Subburaj A. 2017. Histological Changes in The Gill and Liver of Marine Spotted Catfish, *Arius maculatus* from Sewage Disposal Site, Therespuram off Thothupudi Southeast Coast of India. *Journal of Entomology and Zoology Studies*. 5 (5): 1710-1715.
- Kusriningrum. 2012. *Perancangan Percobaan*. Airlangga University Press. Surabaya. hal 21.
- Luzicoza, E. M. and O. A. Evimova. 2009. Reaction of Bcl-2 Positive Splenic Cells to Glucocorticoids. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 147 (2) : 257-261.
- Madihah, N. Ratningsih, D. M. Malini, A. H. Faiza dan J. Iskandar. 2017. Uji toksisitas akut ekstrak etanol kulit buah jengkol (*Archidendron pauciflorum*) terhadap tikus wistar betina. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*. 3(1): 33–38.
- Manrique, W. G., G. S. Claudiano, T. R. Perillo, M. P. Castro, M. A. P. Figueiredo, M. A. A. Belo, J. R. E. Moraes, and F. R. Moraes. 2014. Response of splenic melanomacrophage centers of *Oreochromis niloticus* (Linnaeus 1758) to inflamatory stimuli by BCG and foreign bodies. *Journal of Applied Ichthyology*. 30 (5):1001-1006.
- Matheos, C., P. Lintong dan C. Kairupan. 2013. Gambaran histologik jaringan limpa tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinfeksi *Eschericia coli* dan diberi madu. *Jurnal e-Biomedik (eBM)*. 1 (2): 961-965.

- Pratiwi, H. C. dan A. Manan. 2015. Teknik dasar histologi pada ikan gurami (*Osphronemus gouramy*). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 7(2):153-158.
- Rey A, Verjan N, Ferguson HW, Iregul C. 2009. Pathogenesis of *Aeromonas hydrophila* strain KJ99 infection and its extracellular products in two species of fish. *Veterinary Record* 164: 493–499.
- Robbins, S. L. dan V. Kumar. 1992. *Buku Ajar Patologi II (Basic Pathology Part II)*. Jakarta: EGC-Penerbit Buku Kedokteran. 523 hlm.
- Rodriguez, A., E. Gisbert, G. Rodriguez and F. C. Orvay. 2005. Histopathological observations in European glass eels (*Anguilla anguilla*) reared under different diets and salinities. *Aquaculture*. 244: 203- 214.
- Samsundari, S. and Wirawan, G.A., 2015. Analysis of the application of biofilters in recirculation systems for aquaculture water quality eel (*Anguilla bicolor*). *Jurnal Gamma*, 8(2), pp.86-97.
- Sarjito, S. B. Prayitno dan A. H. C. Haditomo. 2013. *Buku Pengantar Parasit Dan Penyakit Ikan*. UPT UNDIP Press Semarang. 95 hlm.
- Sarkar, M. J. A., and M. M. Rashid. 2012. Pathogenicity of the bacterial isolate *Aeromonas hydrophila* to catfishes, carps and perch. *Journal of the Bangladesh Agricultural University*. 10 (1): 157–161.
- Setiasih NLE, Suwiti NK, Suastika P, Piraksa IW, Susari NNW. 2011. Studi Histologi Limpa Sapi Bali. *Bul. Vet. Udayana* 3(1): 9-15.
- Sukarni, Maftuch dan H. Nursyam. 2012. Kajian penggunaan ciprofloxacin terhadap histologi insang dan hati ikan botia (*Botia macracanthus*, Bleeker) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Experimental Life Science*. 2 (1): 6-12.
- Surasa, N. J., N. R. Utami dan W. Isnaeni. 2014. Struktur mikroanatomi hati dan kadar kolesterol total plasma darah tikus putih strain wistar pasca suplementasi minyak lemuru dan minyak sawit. *Biosaintifika*. 6 (2): 141-151.
- Thanikachalam, K., Marimutu K and Xavier R. 2010. Effect of garlic peel on growth, hematological parameters and disease resistance against *Aeromonas hydrophila* in African catfish *Clarias gariepinus* (Bloch) fingerlings. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 3: 614– 618.
- Tresnati, J., M. I. Djawad dan A. S. Bulqish. 2007. Kerusakan ginjal ikan pari kembang (*Dasyatis kuhli*) yang diakibatkan oleh logam berat timbel (Pb). *J. Sains & Teknologi*. 7 (3): 153-160.
- Wahjuningrum, D., R. Astrini dan M. Setiawati. 2013. Pencegahan *Aeromonas hydrophila* pada benih ikan lele menggunakan bawang putih dan meniran. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 12 (1): 86–94.
- Zafran, S. Ismi, I. Mastuti dan K. Mahardika. 2020. Isolasi dan karakterisasi bakteri yang diisolasi dari larva ikan kerapu hibrida cantik yang terserang penyakit ekor buntung. *Journal of Fisheries and Marine Research*. 4 (2): 194-200.