

Pengaruh Pemberian Bakteri *Lactobacillus plantarum* Terhadap Histopatologi dan Hematologi Ikan Patin Jambal (*Pangasius djambal*) yang Diinfeksi Bakteri *Edwardsiella tarda*

Sri Andayani, Heny Suprastyani, Galih Dandung Akbar Gumala*, Uswanul Oktafa, Nela Maulina Fatikah, Maulana Wahyudi*, Anisatul Farida, dan Randi Pratama

Program Studi Budidaya Perairan, Fak. Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya Malang
Jl. Veteran No. 1 Malang, Indonesia

Abstract.

Lactobacillus plantarum bacteria is one kind of environmental friendly lactat acid. It's not phatogenic and could slowed down the growth of phatogen bacteria. It also has a function as probiotic. This research purpose is to find the best dose and influence of *L. plantarum* bacteria in Patin Jambal fish's hispathology and hemathology that infected with *Edwardsiella tarda* bacteria. The cause of *L. Plantarum* submersion is to increase the immune system in Patin jambal (*P. djambal*) with 10^3 , 10^8 and 10^{13} cfu.ml⁻¹ dose in one week. The next step is given infection with *E. tarda*.submersion. During the infection blood is taken from all subjects to count erythrocytes, leucocytes, hematocrit and hemoglobin during this hour: 0,12,24,36. After three days of infection, sample are taken from liver, kidney and gill to observe the tissue and damage score. The next step is doing statistic analyze using F (ANOVA) test based on completely randomized design. Result analysis show different result (F count>F table). It can be concluded that *L. plantarum* bacteria give the best result for histopatologi and hematologi in Patin Djambal fish (infected with *E. tarda* bacteria with best dose in B 10^8 cfu.ml⁻¹.)

Keywords: *Lactobacillus plantarum*, Histopatologi, Hematologi, *Edwardsiella tarda*

1. PENDAHULUAN

Ikan patin jambal (*P. djambal*) merupakan salah satu primadona ikan konsumsi air tawar. Menurut [1] ikan air tawar yang banyak dibudidayakan dan mempunyai nilai ekonomis tinggi adalah jenis *catfish* salah satunya ikan patin jambal (*P. djambal*). Menurut [2], akhir-akhir ini, masyarakat banyak yang memelihara ikan tersebut tidak hanya untuk memenuhi keperluan gizi keluarga, akan tetapi dijadikan sebagai bisnis untuk mendapatkan penghasilan. Ikan patin memiliki daging yang tergolong enak, lezat, dan gurih. Selain itu, ikan ini mengandung protein yang tinggi dan kolesterol yang rendah. Ikan patin mengandung protein 68,69% dan lemak 5,8%. Ikan ini dapat mencapai ukuran besar dan dagingnya berwarna putih sehingga menjadi menarik bagi konsumen.

Namun, jenis ikan ini sangat rentan terhadap penyakit *Edwardsiellosis* yang disebabkan oleh bakteri *E. tarda*. Infeksi *E. tarda* dapat menyebabkan penurunan produktifitas pada ikan *catfish* dan dapat menyebabkan kerugian bagi pembudidaya ikan jenis ini. Menurut [3], keberadaan penyakit di dalam lingkungan perairan merupakan salah satu kendala di dalam pengembangan di sektor budidaya perikanan.

Salah satu upaya pencegahan masuknya bakteri yaitu dengan bantuan bakteri *Lactobacillus* sp. yang sering digunakan pula sebagai probiotik. Penggunaan probiotik saat ini mampu menggantikan penggunaan antibiotik. Probiotik merupakan salah satu bentuk pengendalian hayati dengan menggunakan musuh biologis bagi bakteri pathogen dalam memperkecil populasi penyakit. Menurut [4],

* Corresponding Author. Tel: +6285737307030
E-mail: Galihdag@gmail.com

memanfaatkan bakteri antagonis melalui mekanismenya, dengan cara menghasilkan senyawa bakteriosin yang dapat merusak struktur sitoplasma bakteri patogen sehingga memperkecil kelangsungan hidupnya di dalam tubuh inang. Probiotik memiliki keunggulan tidak menimbulkan resistensi sehingga aman untuk digunakan dalam jangka waktu panjang.

Metode pencegahan dan pengobatan penyakit ikan yang dapat dilakukan salah satunya adalah pengendalian secara biologis yaitu penggunaan mikroba *Lactobacillus* sp. *L. plantarum* merupakan salah satu jenis bakteri asam laktat yang sudah dikenal yang bersifat ramah lingkungan karena tidak patogenik dan dapat menguntungkan bagi organisme lain, seperti pada manusia yang mengkonsumsi ikan [5]

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui perubahan histologi yang meliputi organ insang, hati dan ginjal serta perubahan hematologi yang meliputi eritrosit, leukosit, hematokrit, dan hemoglobin ikan patin jambal (*P. djambal*) yang diberikan bakteri *L. plantarum* sebelum diinfeksi bakteri *E. tarda*.

2. MATERI DAN METODE PENELITIAN

2.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Budidaya Ikan divisi Penyakit dan Kesehatan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang pada tanggal 15 Maret sampai dengan 10 Mei 2017.

2.2. Bahan dan Materi

Bakteri *E. tarda* diperoleh dari koleksi Balai Karantina Ikan dan Pengendalian Mutu Ikan Kelas I Surabaya II, bakteri *L. plantarum* diperoleh dari koleksi Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang, ikan patin yang digunakan berukuran 10-13cm diperoleh dari kelompok pembudidaya ikan Mina Makmur Desa Sumbergempol Tulungagung.

Media tumbuh bakteri yang digunakan antara lain TSA (*Tryptic Soy Agar*), TSB (*Tryptic Soy Broth*), aquades, alkohol 70 %, bahan untuk pemeriksaan darah diperlukan Na-Sitrat 3,8%, larutan Turk, larutan Hayem, HCl 0,1 N, lilin, pipet kapiler hematokrit, dan zat untuk mengawetkan organ adalah formalin.

2.3. Metode Penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). RAL merupakan rancangan yang cocok digunakan untuk kondisi lingkungan, alat, bahan dan media

yang homogen. Penelitian ini menggunakan perlakuan A (10^3 cfu.ml⁻¹), B (10^8 cfu.ml⁻¹) dan C (10^{13} cfu.ml⁻¹). Selain itu dilakukan pengamatan pada kontrol (+) (infeksi *E. tarda* tanpa diberikan *L. plantarum*) dan kontrol (-) (diberikan *L. plantarum* tanpa diberikan infeksi *E. tarda*). Seluruhnya dilakukan pengulangan 3 kali.

Ikan uji diadaptasikan selama 3 hari, kemudian dilakukan perendaman *L. plantarum* selama 7 hari guna guna meningkatkan imunitas pada ikan yang diuji, selanjutnya dilakukan infeksi *E. tarda* selama 3 hari dengan metode perendaman.

2.4. Pengambilan Organ

Pengambilan organ insang, hati dan ginjal dilakukan pada jam ke-72 pasca penginfeksi. Caranya yaitu ikan patin dimatikan terlebih dahulu kemudian dibedah mulai dari anus dilanjutkan ke bagian perut mengarah ke *dorsal* kemudian perut dibuka menggunakan pinset untuk memudahkan pengambilan sampel. Setelah itu diambil organ dan dimasukkan dalam botol sampel lalu diberi larutan fiksasi menggunakan larutan formalin 10%, dilanjutkan dengan pembuatan dan pengamatan preparat hasil histopatologi.

2.5. Pembuatan Preparat Histopatologi

2.5.1. Tahap Fiksasi

Sampel hati, insang dan ginjal yang akan diamati jaringannya diambil dengan cara pembedahan ikan. Jaringan tersebut kemudian direndam dalam larutan davidson's selama 24 jam.

2.5.2. Tahap Dehidrasi

Tahap dehidrasi dilakukan dengan penarikan air secara bertahap menggunakan alat *auto technicon* selama 20 jam. Tabung *auto technicon* terdiri atas alkohol 70% selama 1 jam, alkohol 80% selama 1 jam, alkohol 90% selama 2 jam, alkohol 96% selama 2 jam, alkohol *absolute* 1 selama 2 jam dan alkohol *absolute* 2 selama 2 jam.

2.5.3. Tahap Clearing

Tahap *clearing* untuk mentransparankan serta menggantikan larutan alkohol dari jaringan. Dilakukan dengan mencelupkan kedalam larutan xylol 1 selama 1 jam, xylol 2 selama 2 jam dan xylol 3 selama 2 jam.

2.5.4. Tahap Impregnasi

Tahap impregnasi bertujuan untuk menyamakan keadaan jaringan dengan bahan pengeblokan (*embedding*). Dilakukan dengan

mencelupkan bahan ke parafin cair dengan suhu 56-60°C selama 2 jam, kemudian dilanjutkan dengan mencelupkan kembali kedalam parafin cair dengan suhu 56-60°C selama 2 jam.

2.5.5. Tahap Embedding (Pengeblokan)

Tahapan ini bertujuan untuk memudahkan penyayatan dengan menggunakan mikrotom. Setelah penyayatan bahan yang sudah diblok selesai, langkah berikutnya adalah memasukkan hasil sayatan ke dalam *waterbath* (suhu 40°C), kemudian pilih hasil sayatan yang terbaik dan siapkan obyek glass (untuk persiapan pewarnaan HE (*Hemotocyn Eosin*), sebelumnya obyek glass harus diolesi dengan perekat polylinin. Berikutnya, keringkan pada oven dengan suhu 50 - 60°C selama 30 menit.

2.5.6. Teknik Pewarnaan Jaringan dengan Menggunakan HE (*Hemotocyn Eosin*)

Pewarnaan dengan menggunakan HE dilakukan dengan beberapa tahapan yaitu deparafinisasi, hidrasi, cat utama, dehidrasi dan *clearing*.

2.5.7. Tahap Mounting

Preparat dilem dengan menggunakan DPX *mounting* medium, kemudian ditutup dengan *cover glass* jangan sampai terjadi gelembung. Preparat dibiarkan dalam suhu ruangan sampai lem mengering. Dengan pewarnaan HE, inti yang bersifat asam akan berwarna ungu tua oleh Haematoksilin yang bersifat basa, sedangkan sitoplasma yang bersifat basa akan berwarna merah oleh eosin yang bersifat asam.

2.6. Pengambilan Sampel Darah

Pengambilan sampel darah dilakukan dengan menggunakan spuit yang telah dibasahi Na Sitrat 3,8% sebagai anti koagulan. Pengambilan darah dilakukan di pangkal ekor dengan cara disuntik dengan posisi jarum 45°. Sampel darah diambil pada jam 0, 12, 24, 36 selama penginfeksi.

2.7. Uji Hematologi

2.7.1. Leukosit

Darah sampel dihisap dengan pipet yang berisi bulir pengaduk berwarna putih sampai skala 0,5. Lalu, tambahkan larutan Turk's sampai skala 11, pipet diayun membentuk angka 8 selama 3-5 menit sehingga darah bercampur rata. Setelah itu, dua tetes pertama larutan darah dari dalam pipet dibuang. Kemudian teteskan larutan pada *haemocytometer*, setelah itu ditutup dengan gelas penutup. Cairan akan memenuhi ruang hitung secara kapiler. Jumlah sel darah putih atau leukosit total dihitung dengan bantuan mikroskop

dengan perbesaran 400 X. Jumlah leukosit total dihitung dengan cara menghitung sel yang terdapat dalam 4 kotak kecil, dan jumlahnya dihitung menurut rumus:

2.7.2. Eritrosit

Prosedurnya perhitungan jumlah eritrosit pertama darah dihisap dengan pipet yang berisi bulir pengaduk warna merah sampai skala 1, lalu tambahkan larutan Hayem's sampai skala 101. Pengadukan darah di dalam pipet dilakukan dengan mengayunkan tangan yang memegang pipet seperti membentuk angka delapan selama 3-5 menit sehingga darah tercampur rata. Dua tetes pertama larutan darah dalam pipet dibuang. Cairan yang dikeluarkan tersebut diasumsikan sebagai cairan yang tidak homogen antara darah dan Hayem's. Selanjutnya teteskan pada *haemocytometer* lalu ditutup dengan gelas penutup. Kemudian, dihitung jumlah sel darah merah dengan bantuan mikroskop dengan pembesaran 400 x. Jumlah sel darah merah dinyatakan dalam sel/ml. Jumlah eritrosit total dihitung sebanyak 5 kotak kecil dan jumlahnya dihitung menurut rumus:

$$\text{Eritrosit} = \text{jumlah sel eritrosit} \times 10^4$$

$$\text{Leukosit} = \text{jumlah sel eritrosit} \times 50$$

2.7.3. Hematokrit

Pengukuran kadar hematokrit yaitu dengan cara ujung pipet mikrohematokrit dicelupkan ke dalam *tube* yang berisi darah. Darah diambil sebanyak $\frac{3}{4}$ bagian tabung. Ujung tabung yang telah berisi darah ditutup dengan lilin malam dengan cara menancapkan ujung tabung ke dalam lilin malam sehingga terbentuk sumbat *cryptoceal*. Tabung mikrohematokrit tersebut disentrifugasi selama 4 menit pada 5000 rpm dengan posisi tabung yang bervolume sama berhadapan agar putaran sentrifuge seimbang. Panjang bagian darah yang mengendap dan panjang total volume darah yang terdapat di dalam tabung diukur dengan menggunakan table perhitungan hematokrit. Kadar hematokrit merupakan banyaknya sel darah (digambarkan dengan padatan atau endapan) dalam cairan darah. Kadar hematokrit dinyatakan dalam %.

2.7.4. Hemoglobin

Pengukuran kadar hemoglobin yaitu dengan cara darah sampel dihisap dengan pipet sahli sampai skala 20 mm³ atau pada skala 0.2 ml. Darah dalam pipet dipindahkan ke dalam tabung Hb-meter yang telah diisi HCl 0,1 N sampai skala 10 (merah). Darah tersebut lalu diaduk dengan batang pengaduk selama 3-5 menit. Akuades ditambahkan ke dalam tabung sampai warna

darah tersebut seperti warna larutan standar yang ada dalam Hb-meter tersebut. Skala hemoglobin dapat dilihat pada skala jalur gr % (kuning) yang berarti banyaknya hemoglobin dalam gram per 100 ml darah.

2.8. Parameter Penunjang

Parameter penunjang dalam penelitian ini adalah pengamatan kualitas air dan tingkat kelulushidupan ikan selama penelitian.

2.9. Analisis Data

Data yang diperoleh kemudian dilanjutkan dengan dilakukan analisis secara statistik menggunakan analisis keragaman atau uji F (ANOVA). Hal ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan (variabel bebas) terhadap respon parameter yang diukur atau uji F. Apabila nilai uji F berbeda nyata atau berbeda sangat nyata maka dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT) untuk menentukan perbedaan antar dua perlakuan.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

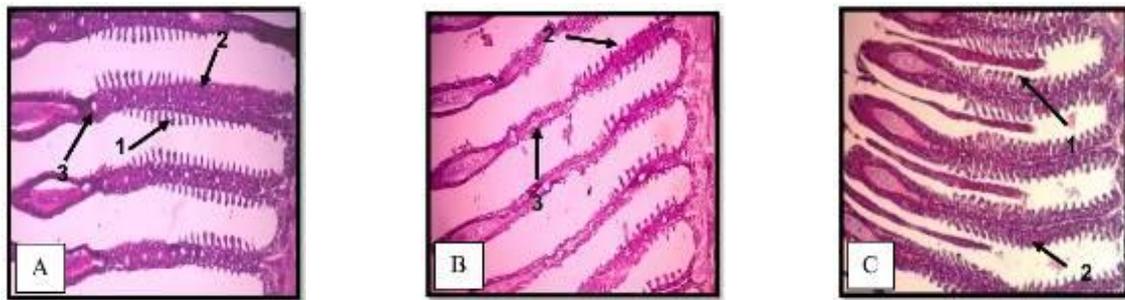
3.1 Histopatologi

Insang pada perlakuan A dengan kepadatan *L. plantarum* 10^3 cfu.ml⁻¹ menunjukkan adanya kerusakan berupa hiperplasia pada beberapa bagian lamella sekunder. Hiperplasia tersebut kemudian menjadi fusi lamella sekunder yaitu menyatunya lamella. Selain itu juga terdapat kerusakan berupa nekrosis pada lamella primer. Penilaian skoring yang dilakukan menunjukkan perbedaan pada masing – masing perlakuan. Berdasarkan data hasil penelitian didapatkan persamaan regresi untuk kerusakan hiperplasia $y = 2,462 - 0,094x$ yang memiliki nilai koefisien determinasi (R^2) yaitu 0,900. Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian *L. plantarum* berpengaruh terhadap kerusakan hiperplasia jaringan insang ikan patin (*P. djambal*). Nilai koefisien determinasi (R^2) = 0,900 diartikan bahwa 90,0% tingkat kerusakan hiperplasia pada insang ikan patin dipengaruhi oleh pemberian *L. plantarum*. Selanjutnya untuk kerusakan fusi lamella diperoleh persamaan regresi $y = 2,293 - 0,053x$ yang memiliki nilai koefisien determinasi (R^2) yaitu 0,999. Dapat dikatakan bahwa hal tersebut menunjukkan pemberian *L. plantarum* berpengaruh terhadap kerusakan fusi lamella jaringan insang ikan patin (*P. djambal*). Nilai koefisien determinasi (R^2) = 0,999 diartikan bahwa 99,9%. Untuk pemberian *L. plantarum* terhadap kerusakan insang berupa nekrosis tidak berpengaruh nyata sehingga tidak didapatkan persamaan regresinya. Gambar insang hasil dari

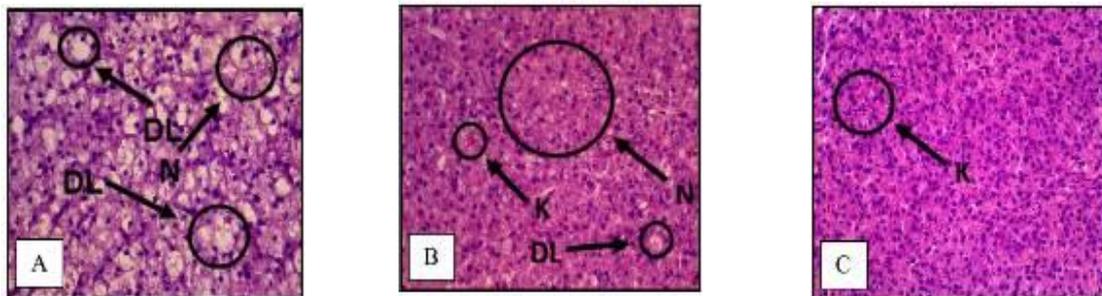
tiap perlakuan ditunjukkan pada Gambar 1.

Fusi adalah pendempetan sel antar lamella sekunder yang satu dengan yang lainnya. Menurut [6], fusi terjadi karena lamella mengalami pembengkakan atau hiperplasia sehingga proses pernapasan terganggu. Keadaan ini mengakibatkan ukuran rongga (kapiler lumen) mengalami penyempitan dan sel yang berada di tengah lamella sekunder bergeser ke ujung lamella sekunder lainnya sehingga terjadi pendempetan

Jaringan hati ikan patin (*P. djambal*) perlakuan yang di infeksi bakteri bakteri *E. tarda* menunjukkan hasil berbeda-beda setiap perlakuan sesuai dengan dosis bakteri *L. plantarum* yang di berikan. Rata-rata mengalami kerusakan jaringan hati yang sama yaitu kongesti, degenerasi lemak dan nekrosis. Berdasarkan data hasil penelitian dengan penambahan bakteri *L. plantarum* didapatkan hasil kerusakan kongesti tidak berbeda nyata dengan kontrol sehingga tidak didapatkan persamaan regresinya, namun terlihat berbeda sangat nyata terhadap degenerasi lemak dan nekrosis. Persamaan regresi untuk degenerasi lemak yaitu $y = 3,8756 - 0,24x$ dan nilai koefisien determinasi (R^2) yaitu 0,8655. Nilai koefisien determinasi 0,8655 juga dapat diartikan bahwa 86,55% kerusakan jaringan hati ikan patin (*P. djambal*) dipengaruhi oleh pemberian dosis bakteri *L. plantarum*. Sedangkan untuk kerusakan nekrosis diperoleh persamaan regresi yaitu $y = 3,2044 - 0,12x$ dengan nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,7341 yang dapat diartikan bahwa 73,41% kerusakan nekrosis pada hati ikan patin dipegaruhi oleh pemberian dosis bakteri *L. plantarum*. Gambar kerusakan jaringan hati hasil dari tiap perlakuan ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 1. Histologi insang ikan tiap perlakuan dengan dosis pemberian *L. plantarum*: (A) 10^3 cfu.ml⁻¹, (B) 10^8 cfu.ml⁻¹, (C) 10^{13} cfu.ml⁻¹. Tanda panah no. 1. Hiperplasia, 2. Fusi Lamela, dan 3. Nekrosis. (Mikroskop Perbesaran 400x).



Gambar 2. Histologi jaringan hati ikan perlakuan dengan dosis pemberian *L. plantarum* (A) 10^3 cfu.ml⁻¹ (B) 10^8 cfu.ml⁻¹ dan (C) 10^{13} cfu.ml⁻¹. Tanda panah 1. Kongesti, 2. Degenerasi Lemak dan 3. Nekrosis. (Mikroskop Perbesaran 400x).

Kongesti ditandai dengan adanya pembendungan darah yang disebabkan karena gangguan sirkulasi yang dapat mengakibatkan kekurangan oksigen dan zat gizi. Kongesti pada hati, dimulai dari vena sentralis yang kemudian meluas sampai sinusoid yang tersusun tidak teratur dan di dalamnya terdapat eritrosit yang diduga akibat pecahnya dinding sinusoid. Apabila pembendungan ini berlangsung cukup lama, maka sel-sel hati tampak hilang karena tekanan dan gangguan-gangguan zat gizi, hal ini disebabkan karena darah yang mengalir dari perifer lobulus hati ke pusat (vena sentralis) kebanyakan sudah kehilangan zat-zat gizi sewaktu tiba di pertengahan lobulus, sehingga di pertengahan lobulus menjadi kekurangan zat gizi [7]. Perlemakan hati merupakan tahap awal terjadinya kerusakan dalam hati. Pada sel hati, kongesti didahului dengan pembengkakan sel hati dimana sel hati membesar mengakibatkan sinusoid menyempit sehingga aliran darah terganggu. Penumpukan sel darah itu dapat berlanjut pada kongesti pembuluh darah [8]. Degenerasi lemak ditandai dengan penampakan histologi berupa sitoplasma yang penuh dengan vakuola-vakuola. Secara mikroskopis, sitoplasma dari sel-sel tampak bervakuola dan banyaknya lipid yang tertimbun

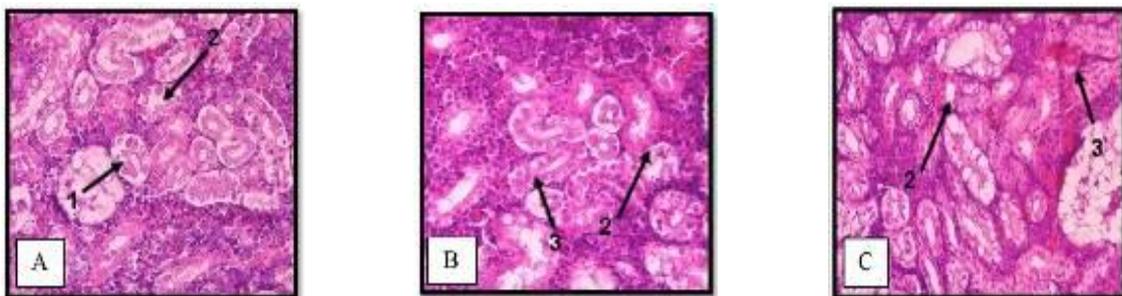
didalam sel sehingga inti sel terdesak ke satu sisi dan sitoplasma sel ditempati oleh satu vakuola besar yang berisi lipid. Vakuolisasi dapat terjadi karena adanya penimbunan lemak pada hati [9]. Hal ini diperkuat oleh pernyataan [7], Degenerasi lemak terjadi karena adanya penumpukan lemak (lemak netral) dengan kerusakan inti sel dan mengecilnya jaringan sel hati. Degenerasi lemak ini ditandai dengan penampakan histologi berupa vakuola. Ikan yang mengalami degenerasi lemak akan berdampak pada berkurangnya fungsi hati. Nekrosis adalah terjadinya kematian sel hati. Kematian sel terjadi bersama dengan pecahnya membran plasma. Nekrosis diawali dengan terjadinya reaksi peradangan hati berupa pembengkakan hepatosit dan kematian jaringan. Nekrosis menurut [7] biasanya disebabkan karena lemak pada hati tertimbun dalam jumlah yang banyak, sehingga mengakibatkan kematian sel-sel hati. Sel yang mengalami nekrosis dapat dikenali dari bentuk intinya yang mengecil (piknotik), membesar, kabur atau hilang (karyolisis).[8] menjelaskan bahwa nekrosis juga dapat dikenali dari hilangnya sitoplasma sehingga tidak menyerap zat warna HE yang diberikan dalam proses pembuatan preparat histologi. Semakin sering suatu daerah jaringan mengalami nekrosis, maka menimbulkan respon peradangan pada bagian jaringan yang berdekatan. Adanya

nekrosis menyebabkan respon peradangan pada jaringan yang masih hidup di sekitar nekrosis.

Jaringan ginjal ikan patin yang diberi perlakuan penambahan bakteri *L. plantarum* menunjukkan adanya kerusakan berupa degenerasi. Degenerasi yaitu berupa perubahan pada struktur pada glomerulus dan tubulus. Selain itu juga terdapat kerusakan berupa nekrosis yaitu matinya sel pada jaringan. Adanya nekrosis menyebabkan respon peradangan pada jaringan yang masih hidup di sekitar nekrosis [8].

Berdasarkan data hasil penelitian, didapatkan persamaan pada kerusakan ginjal berupa kongesti $y = 1,936 - 0,067x$ yang memiliki nilai koefisien determinasi (R^2) yaitu 0,898. Hal tersebut menunjukkan pemberian bakteri *L. plantarum* berpengaruh terhadap kerusakan kongesti jaringan ginjal ikan patin. Nilai koefisien

determinasi (R^2) sebesar 0,898 diartikan bahwa 89,8% tingkat kerusakan kongesti pada ginjal ikan patin dipengaruhi oleh pemberian bakteri *L. plantarum*. Untuk kerusakan ginjal berupa degenerasi dihasilkan persamaan $y = 2,164 - 0,073x$ yang memiliki nilai koefisien determinasi (R^2) yaitu 0,936. Dapat dikatakan bahwa hal tersebut menunjukkan pemberian *L. plantarum* berpengaruh terhadap kerusakan degenerasi jaringan ginjal ikan patin (*P. djambal*). Nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,936 diartikan bahwa 93,6% tingkat degenerasi pada ginjal ikan patin dipengaruhi oleh pemberian *L. plantarum*. Untuk pemberian *L. plantarum* terhadap kerusakan insang berupa nekrosis tidak berpengaruh nyata sehingga tidak didapatkan persamaan regresinya Gambar ginjal hasil dari tiap perlakuan ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Histologi ginjal ikan tiap perlakuan dengan kepadatan pemberian *L. plantarum*: (A) 10^3 cfu.ml⁻¹, (B) 10^8 cfu.ml⁻¹, (C) 10^{13} cfu.ml⁻¹. Tanda panah no. 1. Degenerasi, 2. Nekrosis, dan 3. Kongesti. (Mikroskop Perbesaran 400x).

Berdasarkan hasil dari pembahasan penelitian di atas, dapat diketahui bahwa pemberian *L. plantarum* berpengaruh terhadap histopatologi insang, hati dan ginjal ikan patin yang diinfeksi *E. tarda*. Hal tersebut dapat dilihat dari kerusakan jaringan yang semakin menurun dengan penambahan *L. Plantarum*. Menurut [10] dalam penelitiannya diketahui bahwa bakteri *L. plantarum* menghasilkan substansi antimikroba seperti *plantacirin* yang efektif untuk melawan patogen dan dapat digunakan sebagai probiotik. Bakteri *L. plantarum* memiliki kemampuan untuk meningkatkan respon imun non spesifik sebelum adanya infeksi dari patogen dengan menghasilkan enzim *Lysozyme*. enzim *Lysozyme* pada sistem imun bersifat bactericidal dengan menghidrolisis dinding sel peptidoglikan bakteri sehingga terjadi bakteriolisis (*opsonin*).

3.2. Hematologi

Data rerata hasil pengamatan hematologi yang meliputi *eritrosit*, *leukosit*, hematokrit dan hemoglobin pada ikan patin perlakuan, dapat dilihat pada Tabel 1. diketahui bahwa jumlah *eritrosit* ikan patin yang diberikan bakteri *L. plantarum* dengan perlakuan C memiliki hasil

terbaik setiap jam pengamatan. Berdasarkan data hasil penelitian diperoleh persamaan regresi *eritrosit* ikan patin pada jam ke 0 yaitu $y = 2,2768 + 0,0134x$ dengan nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,8488, persamaan regresi pada jam ke 12 adalah $y = 2,178 + 0,0207x$ dengan nilai $R^2 = 0,8979$, persamaan regresi pada jam ke 24 adalah $y = 1,8704 + 0,0475x$ dengan nilai $R^2 = 0,8261$ dan persamaan regresi pada jam ke 36 adalah $y = 1,7057 + 0,0632x$ dengan nilai $R^2 = 0,7846$. Menurut penelitian [11], jumlah *eritrosit* pada ikan patin sebelum diberikan perlakuan (normal) adalah $1,59 \times 10^6$ sel.mm⁻³.

Menurut penelitian [12], setelah terinfeksi bakteri (pasca infeksi), jumlah sel darah merah pada ikan yang terserang patogen cenderung menurun hingga akhir pengamatan. Penurunan jumlah sel darah merah ikan yang terinfeksi bakteri biasa disebabkan adanya luka sehingga darah keluar dari pembuluhnya.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diketahui persamaan regresi *leukosit* ikan patin pada jam ke 0 yaitu $y = 1,5472 + 0,0118x$ dengan nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,9497, persamaan regresi pada jam ke 12 adalah $y = 2,0124 + 0,0276x$ dengan nilai $R^2 = 0,6408$,

persamaan regresi pada jam ke 24 adalah $y = 2,2319 + 0,0448x$ dengan nilai $R^2 = 0,7125$ dan persamaan regresi pada jam ke 36 adalah $y = 2,3244 + 0,0538x$ dengan nilai $R^2 = 0,7105$.

Menurut penelitian [1], ikan patin memiliki jumlah *leukosit* 31.000 sel.mm⁻³. Leukosit merupakan sel darah yang berperan penting dalam sistem imun. [9] menyatakan peningkatan jumlah *leukosit* merupakan reaksi dari peningkatan daya tahan ikan. Selain itu, meningkatnya jumlah *leukosit* ikan yang terinfeksi diduga karena sifat *leukosit* yang bersifat aktif atau bergerak menuju organ yang terinfeksi atau mengalami gangguan. Jika infeksi sudah teratasi, maka jumlah *leukosit* akan kembali mendekati jumlah awal.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan,

diketahui persamaan regresi hematokrit ikan patin pada jam ke 0 yaitu $= 24,067 + 0,08667x$ dengan nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,9826, persamaan regresi pada jam ke 12 adalah $y = 21,911 + 0,0733x$ dengan nilai $R^2 = 0,09578$, persamaan regresi pada jam ke 24 adalah $y = 15,333 + 0,15x$ dengan nilai $R^2 = 0,8929$ dan persamaan regresi pada jam ke 36 adalah $y = 11,2 + 1,9333x$ dengan nilai $R^2 = 0,8512$.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh [12], pada saat terjadinya luka pada tubuh ikan, ternyata dapat menyebabkan penurunan nilai hematokrit. Nilai hematokrit akan sejalan dengan fluktuasi eritrosit dalam darah. Menurut penelitian Lukistyowati (2012), hematokrit ikan patin normal memiliki nilai 26 %.

Tabel 1.

Data rerata pengamatan hematologi ikan patin tiap perlakuan dengan kepadatan pemberian *L. plantarum*: (A) 10³ cfu.ml⁻¹, (B) 10⁸ cfu.ml⁻¹, (C) 10¹³ cfu.ml⁻¹.

Perlakuan	Pengamatan	Jam Pengamatan			
		0 Jam	12 Jam	24 Jam	36 Jam
A	Eritrosit (x 10 ⁴ sel.mm ⁻³)	200,00±12,53	166,33±13,50	89,67±12,22	68,00±33,45
	Leukosit (x 10 ³ sel.mm ⁻³)	37,60±2,14	97,60±3,74	151,68±14,79	182,98±7,29
	Hematokrit (%)	26,33±1,53	23,67±1,15	18,33±2,08	14,67±1,15
	Hemoglobin (gr%)	7,00±0,20	5,47±0,50	3,53±0,61	3,40±0,53
B	Eritrosit (x 10 ⁴ sel.mm ⁻³)	261,67±11,02	242,33±7,77	238,00±9,64	252,67±9,07
	Leukosit (x 10 ³ sel.mm ⁻³)	45,53±4,00	47,32±6,21	51,18±0,76	49,68±1,66
	Hematokrit (%)	31,67±0,58	28,67±1,53	30,00±2,52	31,33±1,53
	Hemoglobin (gr%)	7,67±0,31	7,20±0,35	7,20±0,35	7,33±0,42
C	Eritrosit (x 10 ⁴ sel.mm ⁻³)	273,67±34,67	268,00±19,31	266,33±12,90	270,33±12,06
	Leukosit (x 10 ³ sel.mm ⁻³)	49,52±5,75	51,88±5,18	53,90±0,96	53,18±5,19
	Hematokrit (%)	35,00±1,00	31,00±1,00	33,33±1,53	34,00±2,00
	Hemoglobin (gr%)	7,87±0,31	7,53±0,12	7,60±0,35	7,67±0,31

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diketahui persamaan regresi hemoglobin ikan patin pada jam ke 0 yaitu $= 6,8178 + 0,0867x$ dengan nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,9119, persamaan regresi pada jam ke 12 adalah $y = 5,08 + 0,2067x$ dengan nilai $R^2 = 0,8673$, persamaan regresi pada jam ke 24 adalah $y = 2,8578 + 0,4067x$ dengan nilai $R^2 = 0,823$ dan persamaan regresi pada jam ke 36 adalah $y = 2,72 + 0,4267x$ dengan nilai $R^2 = 0,8512$.

L. plantarum diketahui sebagai bakteri yang berperan baik dalam kegiatan akuakultur sebagai probiotik. Kemampuannya dalam menekan pertumbuhan dari patogen dengan cara menghasilkan bakteriosin. *L. plantarum* juga memiliki kemampuan dalam menstimulasi sistem imun, merangsang pertumbuhan dan menambah kekebalan terhadap penyakit [13]. *L. plantarum* merupakan bakteri yang memproduksi asam laktat. Asam laktat ini merupakan bahan sterilisasi yang kuat, yang dapat menekan

pertumbuhan mikroorganisme berbahaya serta dapat menguraikan bahan organik dengan cepat [14]. Sehingga bakteri ini mampu menekan pertumbuhan bakteri *E. tarda* pada ikan.

3.3. Parameter Penunjang

3.3.1. Kualitas Air

Selama pemeliharaan, dilakukan pengamatan terhadap kualitas air. Data rerata pengukuran kualitas air untuk suhu sebesar 26,83°C, nilai pH sebesar 6,93 dan oksigen terlarut (DO) sebesar 7,72 mg.l⁻¹. Hasil pengukuran kualitas air masih dalam kisaran normal dan dapat ditoleransi oleh ikan.

3.3.2. Kelulushidupan

Selama pemeliharaan dilakukan pengamatan terhadap *survival rate* (SR) atau kelulushidupan ikan. Data kelulushidupan dikonversi dengan metode arcsin lalu dilakukan uji beda nyata terkecil (BNT) Perlakuan A diketahui berbeda

sangat nyata terhadap perlakuan dosis B dan C. Namun, pada perlakuan dosis B tidak berbeda nyata terhadap perlakuan dosis C. Sehingga dapat diketahui bahwa pemberian *L. plantarum* berpengaruh terhadap kelulushidupan ikan patin (*P. djambal*) yang diinfeksi *E. tarda*. Dengan nilai yang terbaik yaitu pada perlakuan B dan C sebesar 90%.

REFERENSI

- [1] Lukistyowati, I. 2012. Studi efektifitas sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) untuk mencegah penyakit *edwardsiellosis* pada ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*). *Berkala Perikanan Terubuk*. 40(2): 56-74.
- [2] Kordi, M. G. H. 2010. Panduan Lengkap Memelihara Ikan Air Tawar Di Kolam Terpal. Lily Publisher. Yogyakarta. 279 hlm.
- [3] Sinaga, L, D. Suryanto dan I.Lesmana 2015. Ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) dalam mengendalikan pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila*, *Edwardsiella tarda* dan jamur *Saprolegnia* sp. secara *in vitro*. 1-14.
- [4] Mustisar.,I.J. Effendy dan K. Sabilu.2013. Efek Dosis dan Waktu Pengkayaan *Lactobacillus caseii* Berbeda terhadap Sintasan Stadia Zoa Kepiting Rajungan (*Portunus pelagicus*). *Jurnal Mina Laut Indonesia*.2 (6):26-34
- [5] Atira. 2011. Tingkat keganasan *saprolegnia parasitica* pada ikan patin (*Pangasiu hypophthalmus Sauvage*) dan tindakan kuratif alaminya dengan *Lactobacillus plantarum*. *Biocelebes*. 5(1): 56-70.
- [6] Parameswari, W., A.S. Sasanti dan Muslim. 2013. Populasi Bakteri, Histologi, Kelangsungan Hidup dan Pertumbuhan Benih Ikan Gabus (*Channa Striata*) yang Dipelihara dalam Media dengan Penambahan Probiotik. *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*. 1(1): 76-89.
- [7] Triadayani, A.E., R. Aryawati dan G. Diansyah. 2010. Pengaruh logam timbal (pb) terhadap jaringan hati ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*). *Maspuri Journal*. 1:42-47.
- [8] Sukarni, Maftuch dan H.Nursyam. 2012. Kajian Penggunaan Ciprofloxacin terhadap Histologi Insang dan Hati Ikan Botia (*Botia macracanthus*, Bleeker) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *J.Exp. Life Sci*. 2(1): 6-12.

4. KESIMPULAN

Pemberian bakteri *L. plantarum* berpengaruh terhadap histologi (insang, hati, ginjal) dan hematologi (*eritrosit*, *leukosit*, hematokrit dan hemoglobin) ikan patin (*P. djambal*) yang diinfeksi bakteri *E. tarda* dengan perlakuan terbaik adalah perlakuan B dengan kepadatan 10^8 cfu.ml⁻¹.

- [9] Maftuch, H. Nursyam dan Sukarni. 2012. Kajian penggunaan ciprofloxacin terhadap hematologi ikan botia (*Botia macracanthus*, Bleeker) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. *J.Exp Life Sci*. 2(2):65-69
- [10] Giri, S. S., V. Sukumaran and M. Oviya. 2013. Potential probiotik *Lactobacillus plantarum* VSG3 improves the growth immunity, and disease resistance of tropical freshwater fish, *Labeo rohita*. *Fish and Shellfish immunology*. 34: 660-666.
- [11] Sihono, D.2014. Toksikitas tembaga (Cu) terhadap hematologi, bioakumulasi, sintasan dan pertumbuhan juvenil ikan patin (*Pangasius* sp.). Tesis. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 37 hal.
- [12] Wahjuningrum, D., N Ashry dan S. Nuryati. 2008. Pemanfaatan ekstrak daun ketapang *terminalia cattapa* untuk pencegahan dan pengobatan ikan patin *Pangasionodon hypophthalmus* yang terinfeksi *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 7(1): 79-94.
- [13] Doan, H., S.H. Hoseinifar, W. Tapingkae, S. Tongsir and P. Khamtavee. 2016. Combined administration of low molecular weight sodium alginate boosted immunomodulatory, disease resistance and growth enhancing effects of *Lactobacillus plantarum* in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish and Shellfish Immunology*. 58:678-685.
- [14] Setiawan, B. S. 2010. Membuat Pupuk Kandang Secara Cepat. Penebar swadaya. Jakarta. 69 hlm.
- [15] Putra, A. N. 2015. Gambaran darah ikan patin (*Pangasius* sp.) dengan penambahan prebiotik pada pakan. *Jurnal Ilmu Pertanian dan Perikanan*. 4(1): 63-69.
- [16] Wahjuningrum, D., M. N. Ikhsan, Sukenda dan Y. Evan. 2014. Penggunaan ekstrak kunyit sebagai pengendali infeksi bakteri *Edwardsiella tarda* pada ikan lele. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 13(1): 1-10.