

Evaluasi Sitologis Darah Ikan Bandeng (*Chanos chanos*) Di Kecamatan Alas-Nusa Tenggara Barat

(CYTOLOGICAL EVALUATION OF MILKFISH' BLOOD (*Chanos chanos*) IN ALAS DISTRICT-WEST NUSA TENGGARA)

Iwan Harjono Utama¹, Siswanto², Citra Karami³

¹Laboratorium Patologi Klinik Veteriner,

²Laboratorium Fisiologi Veteriner,

³Mahasiswa Profesi Dokter Hewan,

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana

Jl.P.B. Sudirman Denpasar Bali, Telp: 0361-223791

e-mail iwanhu2006@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengamati gambaran sitologis darah ikan bandeng di Kecamatan Alas Nusa Tenggara Barat. Penelitian ini menggunakan darah ikan bandeng yang secara klinis sehat diambil dari beberapa peternak serta memiliki ukuran dan berat yang relatif sama sebanyak 50 ikan. Pembuatan sediaan apusan darah dilakukan dengan metode standar yang sudah banyak dipublikasi, pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 1000 kali. Variabel yang diamati yaitu abnormalitas dari eritrosit, leukosit, dan trombosit. Hasil pengamatan dari 50 ikan tersebut memperlihatkan adanya kelainan pada eritrosit yaitu *binucleus* 2,5 %, *notched nucleus* 4,7 %, *lobed nucleus* 11,4 %, *dannuclear extrusion* 10,6 %. Sedangkan pada leukosit dan trombosit tidak tampak adanya kelainan.

Kata kunci: Ikan bandeng, sediaan ulas darah, Kecamatan Alas.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the cytological aspects of milkfish blood Alas district, West Nusa Tenggara. Blood from 50 clinically healthy fishes were taken from several fish farmers with relatively equal weight. Preparation of a blood smear is done by methods that has been published elsewhere, and observations were made using a light microscope with an oil immersion (1000 times). Abnormalities of erythrocytes, leukocytes, and thrombocyte were observed variables. Result showed some abnormalities in erythrocyte were seen in nuclei: *binuclei* (2,5%), *notched* (4,7%), *lobed* (11,4%), and *extrusion* (10,6%). Not seen abnormalities in leukocyte and thrombocyte.

Keywords: Milkfish, blood smear, Alas District.

PENDAHULUAN

Kondisi kesehatan hewan akuatik termasuk ikan bandeng sulit untuk diketahui jika hanya berdasarkan morfologi, inspeksi maupun visual (klinis), karena ikan yang terserang suatu penyakit/terdampak polutan jarang menunjukkan tanda klinis (Faruzi, 2001). Untuk mencegah agar ikan tehindar dari penyakit atau polutan maka salah satu pemeriksaan kesehatan yang dilakukan adalah pemeriksaan darah. Darah merupakan bagian dari sistem sirkulasi yang berfungsi dalam mengangkut oksigen, karbondioksida dan nutrisi yang dibutuhkan oleh tubuh. Bentuk dan ukuran sel darah terutama eritrosit sangat berpengaruh terhadap volume pengakutan oksigen (Nikinmaa, 1997; Najjiah, 2008). Menurut Shadkhast *et al.* (2010) sel darah pada ikan berbentuk oval mempunyai volume oksigen lebih besar dibandingkan bentuk *bikonkaf* karena bentuk oval lebih banyak ruang dalam pengangkutan oksigen. Svobodova dan Vyukusova (1991) menjelaskan bahwa pemeriksaan darah dapat membantu untuk memantapkan tujuan diagnostik, seperti mengevaluasi kondisi ikan, menguji efek zat beracun pada ikan, menguji pantas tidaknya makanan untuk ikan dan mengevaluasi efek tekanan situasi.

Salah satu informasi lain yang bisa diberikan dari pemeriksaan darah yaitu gambaran sitologi benda-benda darah. Benda-benda darah seringkali memperlihatkan adanya abnormalitas, baik morfologi sel maupun intinya (khusus pada hewan vertebrata tingkat rendah). Menurut Walia *et al.* (2013), kelainan morfologi dari eritrosit ikan meliputi kelainan nukleus dan kelainan sel. Banyak faktor yang dapat mempengaruhi hasil dari sitologi darah ikan, seperti musim, pemijahan, jenis kelamin, variasi genetik, dan prosedur pengambilan darah (Kori-Siakpere *et al.*, 2005). Namun kelainan nukleus dianggap sebagai prekusor dari mikro nukleus sedangkan kelainan seluler merupakan hasil dari kematian sel. Beberapa variasi kelainan nukleus antara lain *nucleus extrusion*, *binucleus*, *lobed nucleus*, *blebbled nucleus*, dan *notched nucleus*. Sedangkan kelainan sel antara lain *enucleus*, *echinosit*, *deformed cell*, *vacuolated cell*, *spindle shaped cell*, dan apoptosis.

Data mengenai sitologis darah ikan bandeng belum banyak dipublikasi meskipun ada beberapa publikasi mengenai hematologi ikan bandeng (Sabilu, 2010; WorldFish Center, 2007), oleh sebab itu penulisan artikel ini bertujuan untuk mengamati dan mengetahui gambaran sitologis benda-benda darah (eritrosit, leukosit, dan trombosit) ikan bandeng yang di dapat dari Kecamatan Alas Nusa Tenggara Barat.

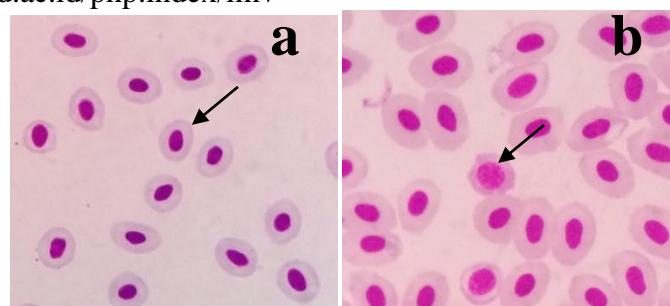
METODE PENELITIAN

Sampel darah yang digunakan dalam penelitian adalah sampel dari 50 ikan bandeng betina (*Chanos chanos*) dari 3 tambak yang berbeda di Kecamatan Alas dengan berat dan ukuran yang relatif sama (150 gr) . Adapun alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah spuit 1 mL, objek glass, pipet, coplin jar, starring jar, kamera, dan mikroskop (Olympus Cx 21, Japan). Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah alkohol, methanol (Merck, USA), aquades, larutan Giemsa (Merck, USA), dan minyak emersi (Merck, USA).

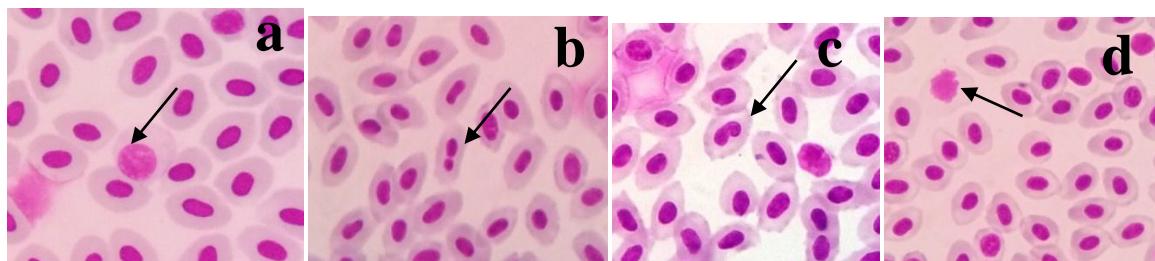
Darah diambil di vena caudalis dekat ekor diantara sisik ikan (Abdul, 2014; Bollinger, 2013; Canada Department of Fisheries and Ocean, 2004) dengan menggunakan spuit 1 ml. Setelah darah diambil segera dilakukan pembuatan ulas darah dengan metode *slide* dan kemudian dilakukan pewarnaan menggunakan larutan Giemsa (Houwen, 2000; Meyer dan Harvey, 2004). Pengamatan yang dilakukan meliputi jenis abnormalitas dari eritrosit dan leukosit yang diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran lensa 1000 kali (Sismami, 2011). Data yang didapat dari hasil penelitian dianalisis menggunakan analisis deskriptif kuantitatif (persentase).

HASIL DAN PEMBAHASAN

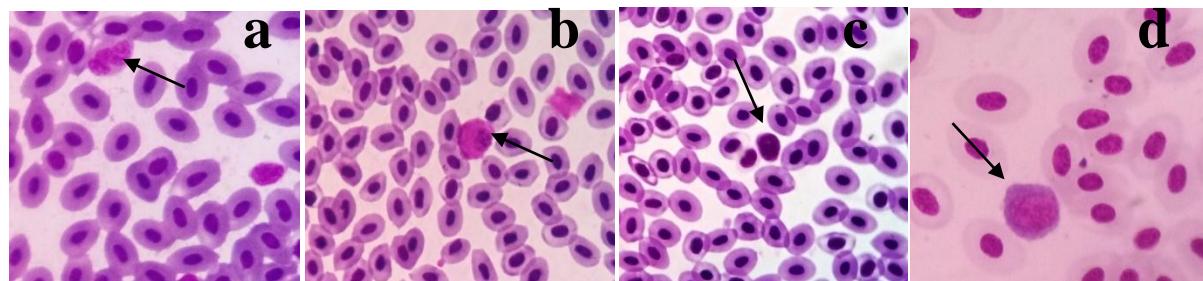
Dari hasil pengamatan yang dilakukan terhadap 50 ikan bandeng yang diperoleh di 3 tambak di Kecamatan Alas, dijumpai beberapa kelainan eritrosit seperti: *nuclear extrusion* (10,6%), *lobed nucleus* (11,4 %), *notched nucleus* (4,7 %), dan *binucleus* (2,5 %) dari jumlah ikan yang diamati. Namun kelainan sitologi leukosit dan trombosit tidak ditemukan. Gambaran sitologis sel darah penting dilakukan untuk: mengetahui keadaan normal, dampak lingkungan, diagnosa penyakit dan berbagai perubahan terkait status fisiologis ikan tersebut (Ejraei *et al.*, 2015). Pengaruh lingkungan disini termasuk dampak logam berat (Javed dan Usmani, 2014).



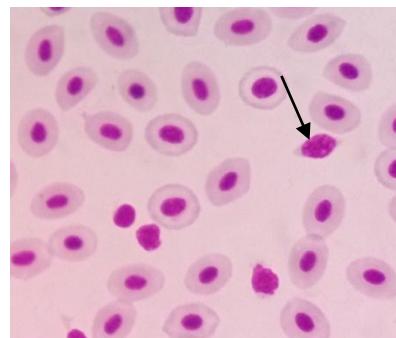
Gambar 1. a. Eritrosit dewasa; b. Eritrosit muda (inti sentris) (Perbesaran 1000x)



Gambar 2. a. *Nuclear extrusion* (inti eksentris); b. *Binucleus*; c. *Lobed Nuclei*; d. *Notched Nuclei* (Perbesaran 1000x)



Gambar 3. Leukosit: a.Heterofil; b.Eosinofil; c.Limfosit; d.Monosit (Perbesaran 1000x)



Gambar 4. Trombosit (Perbesaran 1000x)

Adanya abnormalitas eritrosit diatas juga dilaporkan oleh Walia *et al.* (2013), yang mengatakan abnormalitas eritrosit ikan bisa dikarenakan terpapar terhadap bahan kimia. Setiap ikan sensitif terhadap paparan Cd (*Cadmium*), Pb (*Plumbum*), dan Cu (*Cuprum*). Cuprum diklasifikasikan sebagai elemen yang penting bagi organisme, namun dalam konsentrasi yang tinggi dapat menjadi polutan yang beracun. Penurunan reduksi antar Chromium dari chromim IV ke Chromim III dan menghasilkan oksigen reaktif sebagai radikal bebas yang tinggi bisa bereaksi dengan DNA sehingga menyebabkan *nuclear lobed* (Gb. 2.c) pada interfase awal nukleus. Ozkan *et al.* (2011) melaporkan bahwa perubahan nukleus seperti *Notched nucleus* dan *Binukleus* (Gb. 2.d dan 2.b) kemungkinan berhubungan dengan aneuploidi, akibat dari gagalnya tubulin (kegagalan pembentukan inti), serta sel-sel abnormal yang berasal dari ketidakmampuan dalam proses pembelahan mitosis. Sedangkan pada pengamatan terhadap leukosit tidak ditemukan kelainan.

Menurut Ardelli dan Woo (2006), ukuran, bentuk, warna, dan komposisi kimia pada granula heterofil bervariasi. Ciri heterofil pada ikan adalah inti yang kadang eksentrik dengan bentuk bulat hingga oval (Vonti, 2008). Pada beberapa spesies, inti berlobus. Inti berwarna ungu gelap dan sitoplasama biasanya berwarna biru pucat dengan warna granul yang bervariasi. Heterofil yang diamati pada ikan bandeng (Gb. 3.a), memiliki bentuk yang oval dengan inti berlekuk berwana ungu, ukuran besar dengan sitoplasma berwana ungu pucat. Eosinofil teleostei memiliki diameter antara 9-15 μm , dengan inti bulat eksentrik, tidak berlobus, serta sitoplasma dengan granula eosinofilik yang besar (Ranzani-Paiva *et al.*, 2004). Pada Gb. 3.b, eosinofil yang terlihat memiliki inti yang terletak eksentrik, dengan sitoplasma berwarna merah keunguan. Tidak tampak adanya kelainan pada heterofil dan eosinofil pada ikan bandeng yang diamati.

Bentuk monosit mirip dengan limfosit, dimana monosit memiliki inti yang besar dan tidak berlobus. Ranzani-Paiva *et al.* (2004) melaporkan bahwa monosit memiliki inti yang besar dan menutupi hampir dua pertiga volume sel. Monosit ikan bandeng (Gb. 3.d) memiliki inti yang besar, berwarna merah keunguan dengan sitoplasma non granula berwana ungu gelap. Penurunan persentase monosit atau monositopenia yang bersifat fisiologis terjadi pada stadium awal stres, sedangkan monositofilia bersifat patologis terjadi setelah stadium akut suatu penyakit berakhir (Jain, 1986). Limfosit pada ikan bandeng (Gb. 3.c) memiliki inti dengan berwana ungu yang hampir memenuhi sitoplasma. Limfosit dapat menghasilkan antibodi pada hewan muda dan akan meningkat seiring bertambahnya usia hewan. Tidak tampak adanya kelainan pada monosit dan

limfosit pada ikan bandeng yang diamati walau Tavares-Dias *et al.* (2008) mengatakan adanya limfositosis, monositosis dan heterofilia jika ikan-ikan tersebut terinfeksi parasit darah. Dalam penelitian ini juga tidak dijumpai adanya parasit darah.

Basofil tidak ditemukan pada sediaan ulas darah ikan bandeng. Persentase basofil pada ikan berkisar antara 0-0,5%. Keberadaan basofil dalam sirkulasi darah telah diamati hanya pada sejumlah kecil spesies ikan. Bahkan menurut Feldman *et al.* (2006) dalam Vonti (2008) basofil jarang ditemukan pada pemeriksaan darah dibandingkan dengan eosinofil.

Cirik husus trombosit adalah adanya lingkaran sitoplasma tipis di sekeliling inti yang akan berwarna ungu tua saat terwarnai Giemsa. Ukuran rata – rata trombosit berkisar antara $4 \times 7 \mu\text{m}$ – $5 \times 13 \mu\text{m}$ (Preanger, 2013). Trombosit yang terlihat pada sediaan ulas darah ikan bandeng yang diamati (Gb 4) berbentuk gelendong dengan inti yang oval, serta sitoplasma pucat. Tidak tampak adanya kelainan padat rombosit ikan bandeng yang diamati.

SIMPULAN

Hasil penelitian mengenai evaluasi sitologis darah ikan bandeng (*Chanos chanos*) di Kecamatan Alas menunjukkan adanya kelainan pada eritrosit yaitu *nuclear extrusion*, *binucleus*, *notched nucleus*, dan *lobed nucleus*, namun tidak ditemukan kelainan pada leukosit dan trombosit.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai kemungkinan adanya logam Cd, Cu, dan Pb pada daging ikan bandeng di loksai yang sama, selain itu perlu juga dilakukan penelitian jumlah deferensial leukosit, kadar hemoglobin dan hematokritnya, dan data yang lain untuk melengkapi data statistik penelitian sebelumnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdul WO. 2014. Analytical techniques for Fisheries. <http://www.unaab.edu.ng>
Ardelli BF, Woo PTK. 2006. *Immunocompetent Cells and Their Mediators in Fin Fish*. Vol 3. Ed 2nd. UK: CABI Publishing. Hal. 702-724.
Bollinger, T. 2013. Blood Sampling from Fish. <http://www.uoguelph.ca/%7Eaqualab/forms/fishbloodsamplingSOP.pdf>

- Canadian Department of Fisheries and Ocean. 2004. Blood Sampling of Finfish. https://www.ccac.ca/Documents/Education/DFO/4_Blood_Sampling_of_Finfish.pdf
- Ejraei F, Maryam G, Hossein K. 2015. Evaluation of hematological and plasma indices in grass carp, *Ctenopharyngodonidella*, with reference to age, sex, and hormonal treatment. *Arch. Pol. Fish.* 23: 163-170.
- Faruzi, F. 2001. Teknik Diagnosa Penyakit Ikan. http://www.academia.edu/4876626/TEKNIK_DIAGNOSA_PENYAKIT_IKAN
- Houwen, B. 2000. Blood film preparation and staining procedures. *Lab. Hematol.* 6:1-7.
- Jain NC. 1986. *Schalm's Veterinary Hematology*. 4th ed. Philadelphia, USA: Lea and Ebiger.
- Javed M, Usmani N. 2014. Impact of Heavy Metal Toxicity on Hematology and Glycogen Status of Fish: A Review. https://www.researchgate.net/profile/Mehjabeen_Javed/publication/271912060_Impact_of_Heavy_Metal_Toxicity_on_Hematology_and_Glycogen_Status_of_Fish_A_Review/links/55dd3fa108ae3ab722b1b7fe/Impact-of-Heavy-Metal-Toxicity-on-Hematology-and-Glycogen-Status-of-Fish-A-Review.pdf
- Kori-Siakpere O, Ake JEG, Idoge E. 2005. Haematological Characteristics of the African Snakehead, Parachanna Obscura. Departement of Zoology, Delta State University, Abraka, Nigeria. *African Journal of Biotechnology*. 4(6): 527-530.
- Meyer DJ, Harvey JW. 2004. Veterinary laboratory Medicine: interpretation and diagnosis. 3rd Ed. Philadelphia, USA: Saunders.
- Najjiah M, Nadirah, Marina, H. 2008. Erythrocyte Morphology in Healthy freshwater fish spesies from Malaysia. *Research Journal of Fisheries and Hydrology*. 3(1): 32-35.
- Nikinmaa M. 1997. Oxygen and Carbondioxide Transport in Vertebrate Erythrocytes; An Evolutionary Change in The Role of Membrane transfort. *The Journal of Experimnetal Biology*. 200: 369-380.
- Ozkan F, Gunduz SG, Berkoz M, Hunt AO. 2011. Induction of Micronuclei and Other Nuclear Abonrmalities in Peripheral Erythrocyte of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*, Following Exposure to Sublethal Cadmium Dose. Research Article. *Turk J Zool* 35(4): 585-592.
- Preanger C. 2013. Gambaran Ulas Darah Ikan Lele (*Clarias spp.*) di Daerah Denpasar - Bali. (Skripsi). Bali. Universitas Udayana.
- Ranzani-Paiva MJT, Ishikawa CM, Eiras AC, Silveira VR. 2004. Effect of Experimental Challenge with Mycobacterium marinum on The Blood Parametersof Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus 1757). *Brazilian Archive of Biology and Technology*. 47: 945-953.
- Sabilu. 2010. Dampak Toksisitas Nikel terhadap Kondisi Hematologi Ikan Bandeng *Chanos chanos* Frosskal, Studi Lanjut Respon Fisiologi. *Paradigma*. 14: 205-216.
- Shadkhast M, Homayoun, Reza SA, Bigham SS, Ebrahim S, Taji M, Mojdeh SF. 2010. The Morphological Charaterization of The Blood Cells in The Central Asian Tortoise (*Testudehorsfieldii*). *Veterinary Research Forum* 1(3): 134-141.
- Sismami A, 2011. Laporan Praktikum Patologi Klinik. <http://sismami-ayu.blogspot.co.id/2011/10/laporan-praktikum-patologi-klinik.html>
- Svobodova Z, Vyukusova B. 1991. Diagnostik, Prevention and Therapy of Fish Disease and Intoxication. *Research Institute of fish Culture and Hydrobiology Vodnany Czechoslovakia*. 2.

- Tavares-Dias, M., F. R. Moraes, dan Maurício L. Martins. 2008. Hematological Assessment in Four Brazilian Teleost Fish with Parasitic Infections, Collected in Feefishing from Franca, São Paulo, Brazil. *B. Inst. Pesca, São Paulo.* 34(2): 189 – 196.
- Vonti, O. 2008. Gambaran Darah Ikan Mas (*Cyprinus carpio linn*) Strain Sinyonya yang Berasal dari daerah Cimpaea-Bogor. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Insititut Pertanian Bogor.
- Walia, G.K.D., Handa, H., Kaur, R., Kalotra. 2013. Erythrocyte Abnormalities in A Freshwater Fish, LabeoRohita Exposed to Tannery Industry Efluent. *International Journal of Pharma and Bio Science.* 4(4): 414-420.
- WorldFish Center. 2007. Milkfish bibliography: a compilation of abstracts on milkfish studies. *Milkfish Project Publication Series.* 1: 331.