

Gambaran Ulas Darah Kodok Lembu (*Rana catesbeiana*)

BLOOD SMEAR EVALUATION OF BULLFROG (*Rana catesbeiana*)

Isabella Anjari Ridwan¹, Iwan Harjono Utama², Nyoman Sadra Dharmawan³

¹Mahasiswa Pendidikan Sarjana Kedokteran Hewan,

²Laboratorium Biokimia Veteriner,

³Laboratorium Diagnosis Klinik, Patologi Klinik, dan Radiologi Veteriner,
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana,

Jl. P.B. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234; Telp/Fax: (0361) 223791

e-mail: isabellaanjari@gmail.com

ABSTRAK

Gambaran ulas darah diperlukan untuk mengetahui status kesehatan kodok lembu (*Rana catesbeiana*), mengingat kodok lembu umum dikonsumsi oleh masyarakat juga memiliki peranan penting sebagai bio-indikator kesehatan lingkungan. Penelitian ini dilakukan untuk memberikan informasi mengenai gambaran eritrosit, leukosit dan trombosit dari kodok lembu. Terhadap leukosit dilakukan penghitungan *differential leukocyte*. Darah yang digunakan berasal dari 25 ekor kodok lembu, diambil dari vena femoralis. Pengamatan dilakukan terhadap gambaran dari eritrosit, leukosit, dan trombosit serta ada tidaknya abnormalitas menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400-1000 kali. Penghitungan *differential leukocyte* dilakukan dengan menggunakan metode *battlement* dan dihitung hingga jumlah mencapai 100. Hasil yang diperoleh pada pengamatan gambaran sel-sel darah memiliki normal dan bentukan abnormal berupa *smudged cells*. Eritrosit dari kodok lembu berbentuk oval dengan inti di tengah dan memiliki sudut yang tidak beraturan. Leukosit kodok lembu memiliki inti yang lebih besar dibandingkan sitoplasmanya. Trombosit terlihat mengalami penggumpalan dan berkelompok membentuk agregasi di antara eritrosit dan memiliki inti sel berbentuk oval. Hasil persentase leukosit dari penghitungan *differential leukocyte*, yaitu limfosit 80,56%, neutrofil 13,76%, eosinofil 3,72%, monosit 1,96%, dan basofil 0%. Dapat disimpulkan bahwa limfosit yang terdapat pada kodok lembu memiliki persentase yang tinggi dan basofil yang terendah.

Kata-kata kunci: kodok lembu (*Rana catesbeiana*); ulas darah; *differential leukocyte*

ABSTRACT

Blood smear is needed to determine a bullfrog's health status. Bullfrogs are commonly consumed by people and has an important role as bio-indicator for environmental health. This study is conducted to obtain information about bullfrog's blood cells representation of erythrocyte, leukocyte, whereas differential leukocyte counting was also conducted, and thrombocyte. Blood sample were collected from 25 bullfrogs taken from its femoral vein. Observation for erythrocyte, leukocyte, and thrombocyte's representation as well as the presence and/or absence of abnormalities was done using a microscope with 400-1000x magnification. Differential leukocyte was done using *battlement* method by counting the leukocytes that were found until it reached 100 in total. The results obtained on observations of blood cells have a normal and abnormal form of *smudged cells*. The shape of erythrocytes from bullfrog are oval with a core in the middle and have irregular angles. Leukocyte of bullfrog has larger nucleus than the cytoplasm. Thrombocytes are seen clumping and grouping to form aggregations between erythrocytes and oval-shaped cell nuclei. Abnormality was also found in the form of *smudged cells*. Leukocyte percentages result from differential leukocyte counting are

80,56% lymphocyte, 13,76% neutrophil, 3,72% eosinophil, 1,96% monocyte, and 0% basophil. Lymphocyte has the highest percentages in differential counting with basophil as the lowest.

Keywords: bullfrog (*Rana catesbeiana*); blood smear; differential leukocyte

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara pengekspor paha kodok terbesar di dunia. Sebanyak 80% kodok ditangkap langsung dari habitat aslinya dan diekspor dalam bentuk paha kodok beku ke berbagai negara terutama Eropa. Kodok lembu (*bullfrog*) adalah jenis kodok yang paling banyak diperdagangkan dalam lingkup internasional karena memiliki ukuran paha yang lebih besar dibandingkan kodok lainnya dan daging yang lebih tebal (Kusrini dan Alford. 2006). Kodok lembu merupakan hewan yang sangat bermanfaat dan secara ekonomi penting bagi kehidupan manusia sebagai kontrol hama serangga dan objek penelitian dalam bidang kedokteran hewan. Kodok juga merupakan salah satu sumber protein hewani karena memiliki kandungan gizi yang tinggi. Peternakan kodok lembu berkembang secara intensif semenjak kodok lembu dijadikan sebagai komoditas ekspor yang potensial (Adnyane, *et al.* 2011).

Kodok dapat terekspos oleh vektor *hematophagous* (pemakan darah) yang terdapat pada lingkungan mereka. Beberapa spesies *Anuran* dapat terinfeksi oleh berbagai parasit darah (Omonona dan Ekpenko, 2011; Chutmongkonkul, *et al.*, 2006). Gambaran darah pada kodok diperlukan untuk memeriksa status dari kesehatan hewan tersebut, mengingat kodok merupakan bio-indikator dari kesehatan lingkungan (Claver dan Quaglia, 2009). Sampai saat ini belum ada data mengenai gambaran darah kodok lembu di Bali, oleh karena itulah penelitian ini dilakukan untuk mengetahui status kesehatan kodok lembu berdasarkan gambaran sel-sel darah, ada tidaknya abnormalitas dan keberadaan parasit darah, serta persentase leukosit berdasarkan penghitungan *differential leukocyte*.

MATERI DAN METODE

Bahan – bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sampel darah kodok lembu (*Rana catesbeiana*), methanol 100% (Merck[®], USA), buffer Giemsa BioMedika (Indonesia), Giemsa stain (Merck[®], USA), minyak emersi (Merck[®], USA), dan xylol (Biomedika, Indonesia). Alat yang digunakan terdiri dari: *handscoon* Sensi Gloves (Indonesia), handuk kecil untuk me-*restrain* kodok lembu, kaca objek Brand Sail[®] (China), spuit 1 ml dengan

jarum berukuran 26 G Terumo[®] (Jepang), *staining jar*, kertas saring Watmann[®] (Jerman), dan mikroskop Olympus CX-21[®] (Jepang).

Kodok lembu (*Rana catesbeiana*) sebanyak 25 ekor diambil dari peternakan kodok lembu di Batubulan, Gianyar. Sampel yang diambil sebanyak 5 ekor per minggu. Pengambilan data dilakukan dengan mengambil sampel darah dari 25 ekor kodok lembu yang berasal dari peternakan kodok lembu di Batubulan, Gianyar. Pengambilan sampel bertahap sebanyak 5 ekor per minggu hingga mencapai total 25 ekor. Kodok diadaptasikan di Laboratorium Bersama Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana selama tiga hari, dimana pada hari keempat hingga hari ketujuh dilakukan pengambilan darah kodok dari vena femoralis yang diambil dengan menggunakan jarum berukuran 26 G.

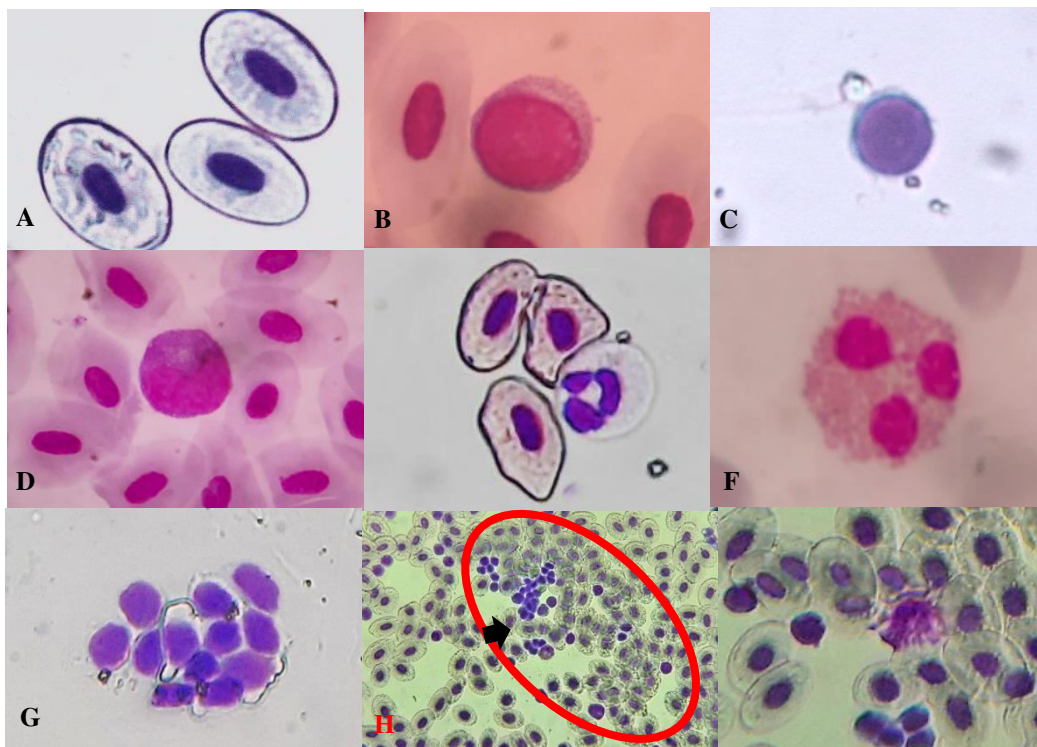
Ulas darah dibuat menggunakan metode *slide*, difiksasi dengan methanol, dikeringkan diwarnai dengan Giemsa dan *buffer* dengan perbandingan 1:4, dibersihkan dan dikeringkan kembali; kemudian diperiksa di bawah mikroskop dengan perbesaran 400-1000x untuk melihat gambaran sel darah serta ada tidaknya abnormalitas dan/atau keberadaan hemoparasit pada eritrosit, leukosit, dan trombosit. Khusus untuk leukosit dilakukan penghitungan *differential leukocyte* dengan cara menghitung seluruh jenis leukosit yang ditemukan hingga mencapai 100 sel menggunakan metode *battlement* dan dipersentasekan (Arikan dan Cicek, 2014; Dharmawan, 2002). Data yang didapat kemudian dianalisis menggunakan analisis deskriptif kualitatif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan ulas darah yang dilakukan pada kedua puluh lima ekor kodok lembu ditemukan sel-sel darah berupa eritrosit, leukosit, dan trombosit. Semua sel tersebut ditemukan memiliki gambaran morfologi sesuai dengan referensi teori yang ada. Eritrosit kodok lembu berbentuk oval dengan inti di tengah dan memiliki sudut yang tidak beraturan. Jika dibandingkan, eritrosit pada reptil dan burung memiliki bentuk yang lebih elips atau lebih pipih dibandingkan eritrosit pada kodok yang berbentuk oval. Eritrosit pada kodok lembu juga merupakan sel darah terbesar yang ditemukan dalam pengamatan. Gambaran seperti ini didukung oleh pernyataan Rousdy dan Linda (2018).

Leukosit yang ditemukan pada kodok lembu memiliki ciri-ciri yang sama berdasarkan referensi dan teori. Limfosit pada kodok lembu memiliki inti yang lebih besar dibandingkan sitoplasmanya, sesuai dengan pernyataan dari Campbell (2015). Das dan Mahapatra (2014) juga mendeskripsikan limfosit kecil dan besar sebagai sel berbentuk bulat dan dengan inti

yang mendominasi sitoplasma sehingga hanya sedikit sitoplasma yang terlihat. Gambaran yang dideskripsikan referensi tersebut sama seperti gambaran limfosit yang terlihat pada ulas darah kodok lembu. Gambaran monosit yang ditemukan pada penelitian memiliki ciri-ciri yang sesuai dengan pernyataan oleh Claver dan Quaglia (2009), yaitu bentuk monosit dengan inti berbentuk seperti ginjal dan terletak di bagian pinggir dengan sitoplasma kebiruan. Juga dijelaskan lebih lanjut mengenai monosit yang memiliki kandungan sitoplasma yang lebih tinggi dibandingkan limfosit, yang ditunjukkan pada hasil pengamatan.



Gambar 1. Sel-Sel Darah yang Ditemukan pada Ulas Darah Kodok Lembu. Eritrosit (A). Limfosit Besar (B). Limfosit Kecil (C). Monosit (D). Neutrofil (E). Eosinofil (F). Trombosit (G). Area Pembekuan Mikro (elips merah) dan Trombosit (Panah) (H). *Smudged cell* (I).

Leukosit bergranula yang ditemukan, yaitu neutrofil dan eosinofil memiliki gambaran yang sesuai dengan referensi. Neutrofil pada kodok lembu ditemukan memiliki inti yang berlobulasi dan dinyatakan oleh Allender dan Fry (2008), bahwa inti neutrofil pada amfibi umumnya berlobulasi. Eosinofil memiliki ciri-ciri yang dideskripsikan oleh Arserim dan Mermer (2008) dimana eosinofil memiliki sitoplasma bergranula berwarna merah muda dengan inti yang berlobulasi. Perbandingan persentase *differential leukocyte* pada kodok lembu di Bali dengan referensi penelitian lainnya disajikan dalam bentuk Tabel 1.

Tabel 1. Perbandingan persentase leukosit Cathers *et al.* (1997) dan Coppo *et al.* (2005) dalam Davis dan Durso (2009).

Sampel	n	Limosit	Neutrofil	Basofil	Eusinofil	Monosit	Sumber
<i>Rana catesbeiana</i>	25	80,56	13,76	0	3,72	1,96	Penelitian ini
<i>Rana catesbeiana</i>	14	62,9	22,0	8,9	2,5	0,6	Cathers <i>et al.</i> , (1997)
<i>Rana catesbeiana</i>	302	26,8	60,9	5,8	3,5	2,9	Coppo <i>et al.</i> , (2005)

Hasil penghitungan *differential leukocyte* pada kedua puluh lima ekor kodok lembu adalah limfosit sebesar 80,56%, neutrofil 13,76%, eosinofil 3,72%, monosit 1,96%, dan basofil 0% atau tidak ditemukan sama sekali. Limfosit pada kodok lembu mendominasi jumlah dari keseluruhan leukosit, yaitu sebanyak 80,56%, yang sesuai dengan penelitian oleh Cathers *et al.* (1997) dalam Davis dan Durso (2009) dimana limfosit merupakan sel darah putih yang dominan diikuti neutrofil. Tingginya limfosit atau limfositosis dipercaya karena terjadi limfositosis relatif, yaitu suatu keadaan dimana terjadi peningkatan jumlah limfosit untuk mengompensasi ketidakhadiran salah satu atau beberapa leukosit (Dharmawan, 2002). Basofil pada penelitian ini tidak ditemukan sama sekali atau 0%, yang menunjukkan bahwa limfositosis terjadi untuk menutupi ketidakhadiran basofil. Limfositosis dapat terjadi karena adanya faktor stres, menurut pendapat Palenske dan Saunders (2003) dimana kodok mengalami stres akibat faktor perubahan lingkungan yang menyebabkan terjadinya peningkatan limfosit dan menekan jumlah neutrofil yang terdapat di dalam darah.

Neutrofil pada pengamatan memiliki persentase sebanyak 13,76%. Neutrofil merupakan leukosit yang umum ditemukan atau dominan. Persentase jumlah neutrofil penelitian ini dibandingkan pada penelitian pada Tabel 1 berbeda dari hasil penelitian dari Coppo *et al.* (2005) dalam Davis dan Durso (2009), jumlah neutrofil dari hasil penelitian oleh Coppo *et al.* (2005) lebih tinggi dibandingkan neutrofil pada penelitian ini. Tingginya jumlah neutrofil pada penelitian oleh Coppo *et al.* (2005) dipercaya dikarenakan adanya faktor stres, dimana hormon stres akan meningkatkan *influx* sel neutrofil ke dalam darah dan mengurangi jumlah limfosit. Hasil persentase neutrofil pada penelitian ini memiliki kesesuaian dengan referensi dari Cathers *et al.* (1997), dimana persentase neutrofil lebih kecil dibandingkan dengan limfosit.

Persentase eosinofil adalah 3,72% berdasarkan hasil penghitungan *differential leukocyte*. Keberadaan eosinofil dipercaya menunjukkan adanya reaksi imun karena adanya infestasi parasit, yang ditegaskan oleh Davis dan Durso (2009). Das dan Mahapatra (2014)

juga menjelaskan bahwa peningkatan eosinofil juga dipengaruhi oleh lingkungan, terutama lingkungan yang tercemar oleh pestisida yang menyebabkan amfibi lebih rentan terkena parasit, khususnya trematoda. Kodok yang digunakan pada penelitian ini tidak dilakukan pemeriksaan saluran gastrointestinal untuk menegaskan keberadaan eosinofil dari hasil penghitungan serta membuktikan keberadaan parasit gastrointestinal mengingat tidak ditemukannya hemoparasit. Palenske dan Saunders (2003) menyatakan bahwa terdapat keterkaitan antara interaksi host-parasit yang menyebabkan kenaikan persentase dari eosinofil.

Monosit pada hasil penghitungan penelitian ini berjumlah 1,96% dan masih termasuk dalam jumlah yang normal berdasarkan referensi Heatley dan Johnson (2009) dan dapat mencapai 10%, jika dibandingkan dengan Tabel 1 maka jumlah monosit masih tergolong normal karena masih memiliki persentase terkecil di antara seluruh leukosit yang ada.

Ketidakhadiran basofil menunjukkan bahwa tidak terjadi adanya reaksi hipersensitivitas atau alergi sesuai dengan yang dinyatakan oleh Dharmawan (2002), yaitu peningkatan jumlah basofil jika terdapat faktor antigen yang memicu terjadinya reaksi hipersensitivitas atau reaksi alergi dalam penelitian ini dapat dipastikan bahwa kodok lembu tidak mengalami reaksi alergi. Menurut Heatley dan Johnson (2009), jumlah basofil di dalam leukosit hanya kurang dari 1% sehingga ketidakterdapatannya dari basofil masih terhitung normal.

Trombosit pada hasil pengamatan terlihat pada daerah ulas yang mengalami penggumpalan dan berkelompok membentuk agregasi di antara eritrosit sesuai dengan pernyataan dari Das dan Mahapatra (2014), pada penelitiannya juga ditemukan adanya trombosit pada *the perching frog (Polypedates teraiensis)* secara berkelompok dan memiliki inti sel berbentuk oval.

Pembekuan darah yang terjadi merupakan pembekuan secara ekstavaskuler, yang terjadi pada saat melakukan ulas dengan darah kodok yang tidak dimasukkan ke dalam (*ethylenediaminetetraacetic acid*) EDTA yang menyebabkan darah tersebut lebih cepat berkoagulasi. Area dimana proses pembekuan mikro sudah dimulai ditunjukkan dengan adanya eritrosit-eritrosit saling berdempetan satu sama lain dan terdapat trombosit yang menggerombol di antaranya. Pembekuan ini terjadi dikarenakan darah yang digunakan untuk ulas darah tidak menggunakan EDTA yang menghambat proses koagulasi darah. Penelitian ini tidak menggunakan EDTA dikarenakan jumlah darah yang diambil hanya sedikit, yaitu \pm 1 mL. Jika darah dalam jumlah tersebut dimasukkan ke dalam tabung EDTA maka darah akan lisis sehingga sampel tidak dapat digunakan.

Bentukan abnormal yang terlihat hanyalah *smudged cell*. Menurut Cowell (2004), *smudged cell* atau sel basket merupakan sel nukleus tanpa sitoplasma yang memiliki pola linear yang menyerupai pola rajut pada keranjang. *Smudged cell* pada penelitian ini, berdasarkan referensi dari Arserim dan Mermer (2008) berasal dari leukosit yang rusak pada saat proses pembuatan ulas darah.

SIMPULAN

Status kesehatan kodok lembu yang berada di peternakan Batubulan, Gianyar berada dalam keadaan sehat yang ditunjukkan dari gambaran sel-sel darah kodok lembu (*Rana catesbeiana*) pada penelitian ini yang berbentuk normal dan tidak ditemukan adanya bentuk abnormal maupun keberadaan hemoparasit. Hasil penghitungan *differential leukocyte* menunjukkan limfosit sebanyak 80,56%, neutrofil (13,76%), eosinofil (3,72%), monosit (1,96%), dan basofil (0%).

SARAN

Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai hematologi lengkap dari darah kodok lembu (*Rana catesbeiana*), juga jenis-jenis kodok yang umum dikonsumsi di Indonesia seperti *Limnonectes macrodon* dan *Fejervarya cancrivora* serta investigasi keberadaan parasit gastrointestinal ataupun parasit pada otot untuk menentukan apakah kodok-kodok tersebut sehat dan layak untuk dikonsumsi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis ucapkan kepada seluruh pihak yang terlibat dalam penelitian ini dan juga kepada penulis dari referensi yang digunakan dalam penulisan jurnal

DAFTAR PUSTAKA

- Adnyane IKM, Ilham ST, Agil, M. 2011. Profil Gonad Lembu Betina yang Diberi *Human Chorionic Gonadotropin* dan Ekstrak Hipofisis Kodok Lokal. *Jurnal Veteriner* 12 (3): 208-213.
- Allender MC, dan Fry MM. 2008. Amphibian Hematology. *Veterinary Clinic Exotic Animal* 11: 463-480.
- Arikan H, Cicek K. 2014. Haematology of Amphibians and Reptiles: A Review. *North-Western Journal of Zoology* 10 (1): 190-209.
- Arserim SK, Mermer A. 2008. Hematology of the Uludağ Frog, *Rana macrocnemis* Boulenger, 1885 in Uludağ National Park (Bursa, Turkey). *Journal of Fisheries & Aquatic Sciences* 25 (1): 39-46.

- Campbell TW. 2015. *Exotic Animal Hematology and Cytology*, 4th ed. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
- Cathers T, Lewbart GA, Correa M, Stevens JB. 1997. Serum Chemistry and Hematology Values for Anesthetized American Bullfrogs (*Rana catesbeiana*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 28 (2): 171-174.
- Chutmongkonkul M, Khonsue W, Pariyanonth P. 2006. Blood parasites of six species of wild amphibians from Khun Mae Kuang forest area, Thailand, In: Proceeding of AZWMP. Thailand, 26-29 Oktober 2019, 1(1): 48.
- Claver J, Quaglia A. 2009. Comparative Morphology, Development, and Function of Blood Cells in Nonmammalian Vertebrates. *Journal of Exotic Pet Medicine* 18(2):87-97.
- Coppo JA, Mussart NB, Fioranelli SA, Zeinstege PA. 2005. Blood and Urine Physiological Values in Captive Bullfrog, *Rana Catesbeiana* (Anura: Ranidae). *Analecta Veterinaria* 25 (1): 15-17.
- Das M, Mahapatra PK. 2014. Hematology of Wild Caught Dubois's Tree Frog Polypedates teraiensis, Dubois, 1986 (Anura: Rhacophoridae). *The Scientific World Journal* 2014(3):1-7.
- Davis AK, Durso AM. 2009. White Blood Cell Differentials of Northern Cricket Frogs (Acris C. Crepitans) With A Compilation of Published Values From Other Amphibians. *Herpetologica* 65 (3): 260-267.
- Dharmawan NS. 2002. *Buku Pengantar Patologi Klinik Veteriner*. 1st ed. Denpasar: Universitas Udayana.
- Heatley JJ, Johnson M. 2009. Clinical Technique: Amphibian Hematology: A Practitioner's Guide. *Journal of Exotic Pet Medicine* 18 (1): 14-19
- Kusrini MD, Alford RA. 2006. Indonesia's exports of frogs' legs. *TRAFFIC Bulletin* 21(1): 13-24.
- Omonona AO, Ekpenko V. 2011. Haematology and prevalence of blood parasites of the common frog (*Rana temporaria*) in the tropical environment. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health* 3 (2): 14-20.
- Palenske NM, Saunders DK. 2003. Blood viscosity and hematology of American bullfrogs (*Rana catesbeiana*) at low temperature. *Journal of Thermal Biology* 28 (4): 271-277.
- Rousdy DW, Linda R. 2018. Hematologi Perbandingan Hewan Vertebrata: Lele (*Clarias batracus*), Katak (*Rana sp.*), Kadal (*Eutropis multifasciata*), Merpati (*Columba livia*) dan Mencit (*Mus musculus*). *Bioma Jurnal Ilmiah Biologi* 7(1):1-13.