

## HISTOPATOLOGI INSANG IKAN BANDENG (*Chanos chanos* Forskall) YANG TERCEMAR LOGAM TIMBAL (Pb)

Frida Alifia

Sekolah Tinggi Teknologi Ilmu Kelautan (STITEK) Balik Diwa Makassar  
Email: pembaharu@hotmail.com

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bentuk histopatologi insang ikan bandeng sebagai biomarker kerusakan sel yang disebabkan oleh paparan logam Pb. Pengaruh paparan Pb terhadap bentuk histopatologi insang diketahui dengan melakukan induksi logam terhadap ikan bandeng melalui air laut dengan konsentrasi Pb, yaitu (B) 0,625 mg/L, (C) 1,25 mg/L, (D) 2,5 mg/L, (E) 5 mg/L, (F) 10 mg/L, (G) 20 mg/L, dan (A) tanpa memakai PbCl<sub>2</sub> sebagai kontrol. Kualitas air dan sintasan diukur, serta tingkah laku ikan diamati. Histopatologi pada insang dianalisa dengan teknik histokimia untuk melihat perubahan selular. Hasil memperlihatkan bahwa Pb dapat menginduksi perubahan patologi pada jaringan insang mencapai 69 % dengan bentuk perubahan mikrotomis lamella insang yakni hipertropi, hiperlasia, pengangkatan epitel, atrofi, nekrosis, edema, dan kongesti.

**Kata Kunci:** histopatologi, insang, bandeng, timbal

### PENDAHULUAN

Logam berat merupakan senyawa toksik yang erat hubungannya dengan pencemaran dalam lingkungan akuatik. Hal ini sangat perlu diperhatikan karena kualitas air merupakan faktor vital bagi kondisi budidaya perairan. Keberadaan logam dalam perairan berasal dari limbah domestik, industri, kendaraan bermotor, presipitasi, terbawa oleh aliran air, dan berbagai peristiwa lainnya yang menyebabkan logam dapat berakumulasi di dalam perairan dan berakibat buruk terhadap organisme di dalamnya.

Senyawa toksik timbal (Pb) merupakan logam berat bersifat toksik terhadap tumbuhan, hewan dan manusia (Purnomo, 2007) yang paling banyak menimbulkan dampak pencemaran. Logam ini di dalam perairan dapat ditemukan dalam bentuk terlarut dan kelarutannya di dalam air cukup rendah sehingga dalam keadaan normal kadar timbal di dalam air relatif sedikit. Namun dalam kasus pencemaran, kandungan logam ini

dapat naik dan terabsorpsi ke dalam tubuh ikan melalui respirasi pada insang, rantai makanan sampai masuk ke saluran cerna, atau melalui kulit. Dengan begitu Pb mudah terikat dengan protein di dalam jaringan tubuh sehingga mengganggu berbagai fungsi fisiologis, menurunkan system kekebalan tubuh, sampai terjadinya mortalitas (Darmono, 1995). Pb yang masuk ke daerah estuaria atau berhasil terbawa ke tambak, akan berpotensi mempengaruhi kesehatan ikan, seperti terhadap ikan bandeng yang hidup pada habitat ini.

Mekanisme keracunan yang terjadi dalam tubuh terjadi dalam dua fase, yaitu fase kinetik dan dinamik. Fase kinetik terjadi dalam proses-proses biologi biasa seperti penyerapan, penyebaran dalam tubuh, metabolisme, dan proses pembuangan (ekskresi). Sedangkan fase dinamik terjadi pada reaksi-reaksi biokimia dalam tubuh yang melibatkan enzim-enzim. Jika masih dalam fase kinetik, maka logam berat yang masuk

ke dalam tubuh bisa mengalami proses sinergetik (peningkatan daya racun) maupun antagonis (pengurangan atau bahkan penghilangan daya racun). Akan tetapi bila sudah sampai fase dinamik, maka logam berat tersebut tidak bisa dinetralkan lagi oleh tubuh. Selanjutnya logam berat bereaksi dengan senyawa-senyawa hasil proses biosintesa yang produknya bersifat merusak proses-proses biomolekul dalam tubuh.

Mengingat tingginya nilai ekonomis ikan bandeng dan gairah masyarakat dalam pemeliharannya, maka pada penelitian kali ini penulis berupaya untuk mengetahui tingkat kesehatan ikan melalui dampak logam Pb terhadap jaringan insang ikan bandeng.

#### **Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bentuk histopatologi jaringan insang ikan bandeng (*Chanos chanos* Forsskal) yang terpapar logam timbal (Pb).

#### **Manfaat penelitian**

Penelitian ini diharapkan bermanfaat bagi penggunaan histologi sebagai biomarker perubahan patologi dan fisiologi atas dampak kontaminasi logam.

#### **MATERI DAN METODE**

##### **Waktu dan Lokasi Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Lab. Penyakit Ikan dan Lingkungan BBAP Situbondo, dan Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Universitas Brawijaya Malang.

##### **Bahan dan Alat**

Bahan yang digunakan adalah, air laut, albumin mayer, amilum, aquades, entellan, eosin, etanol, formalin, haematoxilin, *osaka fish food*

(Central Proteinaprima), paraffin, PbCl<sub>2</sub> (Merck), dan xylene.

Alat yang digunakan adalah aquarium volume 120 liter, bak volume 15 liter, aerator, cover glass, dissecting set, DO meter, histoembedder, mikrotom, mikroskop DIC, object glass, staining jar, dan GF-AAS.

#### **Pelaksanaan Penelitian**

##### **Adaptasi**

Juvenil ikan bandeng (*Chanos chanos* Forsskal) berukuran rata-rata 8-12 cm yang diambil dari BBAP Situbondo dan dipelihara dalam aquarium volume 120 liter dengan suplay O<sub>2</sub> lebih besar dari 3 ppm, salinitas 34 ppt, dan pH air berkisar 7-8. Pakan pellet diberikan sebanyak 2 kali sehari selama 14 hari masa adaptasi dan pergantian air dilakukan setiap hari sebanyak 100%.

##### **Pemaparan logam**

Setelah masa adaptasi, juvenil diberi pemaparan PbCl<sub>2</sub> dalam wadah ember air laut volume 10 liter yang diisi hewan uji sebanyak 8 ekor setiap unitnya. Konsentrasi PbCl<sub>2</sub> yang digunakan adalah (A) 0 mg/L (kontrol); (B) 0,625 mg/L; (C) 1,25 mg/L; (D) 2,5 mg/L; (E) 5 mg/L; (F) 10 mg/L dan (G) 20 mg/L, dengan ulangan masing-masing konsentrasi sebanyak 3 kali. Media perlakuan diperbaharui sebanyak 100% setiap harinya. Air dijaga kebutuhan aerasinya dan ikan tetap diberi makan sebanyak 2 kali sehari.

##### **Sampling preparat histologi**

Sampling dilakukan pada akhir masa pemaparan Pb. Ikan terlebih dahulu dianestesi dengan minyak cengkeh, lalu insang diangkat. Prosedur preparasinya menggunakan metode standar Luna (1960) dan Bancroft (1982).

Terlebih dahulu spesimen dimasukkan dengan segera ke dalam fiksatif formalin 10% dan dibiarkan selama 24 jam, lalu dicuci dengan alkohol 70%. Spesimen kemudian dapat digunakan untuk analisa histokimia.

#### Analisa histokimia

Teknik histokimia dilakukan untuk mengetahui bentuk histopatologi jaringan insang. Prosedurnya menggunakan metode standar Luna (1960) dan Suntoro (1983) sebagaimana berikut:

1. Spesimen yang telah dicuci alkohol 70%, didehidrasi dengan alkohol bertingkat dari konsentrasi rendah ke konsentrasi tinggi (absolute), dijernihkan dengan xylene, kemudian dimulai proses infiltrasi paraffin yang titik cairnya berkisar antara 50-56 °C.
2. Spesimen yang beku dalam paraffin diiris dengan cara *cross line* menggunakan mikrotom setebal 6 mikron, lalu ditempelkan pada *object glass* dengan menggunakan albumin mayer.
3. Irisan jaringan pada *object glass* dideparafinasi menggunakan xylene, direhidrasi dengan alkohol bertingkat dari konsentrasi tinggi (absolute) ke konsentrasi rendah kemudian diwarnai dengan Hematoxylin dan Eosin.
4. Zat warna ditarik dengan proses dehidrasi dan kelebihan alkohol diserap dengan kertas filter.
5. Selanjutnya irisan jaringan pada *object glass* dicelupkan di dalam xylene sekurang-kurangnya 10 menit kemudian glass ditutup dengan *cover glass* setelah dilapisi Canada balsam.
6. Akhirnya jaringan dapat diamati di bawah mikroskop DIC dengan pembesaran 400 kali.
7. Kerusakan organ berupa adaptasi, refersibel dan irrefersibel diklasifikasikan berdasarkan

paparan Pringgoutomo (2002).

8. Tingkat kerusakan organ diklasifikasikan berdasarkan metode Mitchel (Oktavianti, 2005) yang dimodifikasi:

- (-) = Tidak terjadi kerusakan
- (+) = Kerusakan ringan jika mencapai 25% pada satu lapang pandang
- (++) = Kerusakan sedang jika mencapai 50% pada satu lapang pandang
- (+++)= Kerusakan sangat parah jika mencapai 75% pada satu lapang pandang
- (++++)= Kerusakan sangat parah jika mencapai 100% pada satu lapang pandang

9. Persentase kerusakan organ dihitung berdasarkan metode yang digunakan Kim (2006) dalam Raza'i (2008) sebagaimana berikut:

$$\% \text{ kerusakan} = \frac{\text{Jml sel rusak}}{\text{Jml sel analisis}} \times 100\%$$

#### Analisis Data

Data hasil analisa histokimia insang dianalisis secara deskriptif.

#### HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian pemaparan PbCl<sub>2</sub> terhadap ikan bandeng, bentuk perubahan struktur dan kerusakan lamella pada jaringan insang yaitu hipertropi, hiperplasia, atropi, pengangkatan epitel, patahan lamella, penggabungan lamella, edema, dan kongesti. Perubahan pada jaringan insang (Gambar 1b -1g) berbeda dibanding kontrol (Gambar 1a) dengan persentase kerusakannya pada Tabel 1.

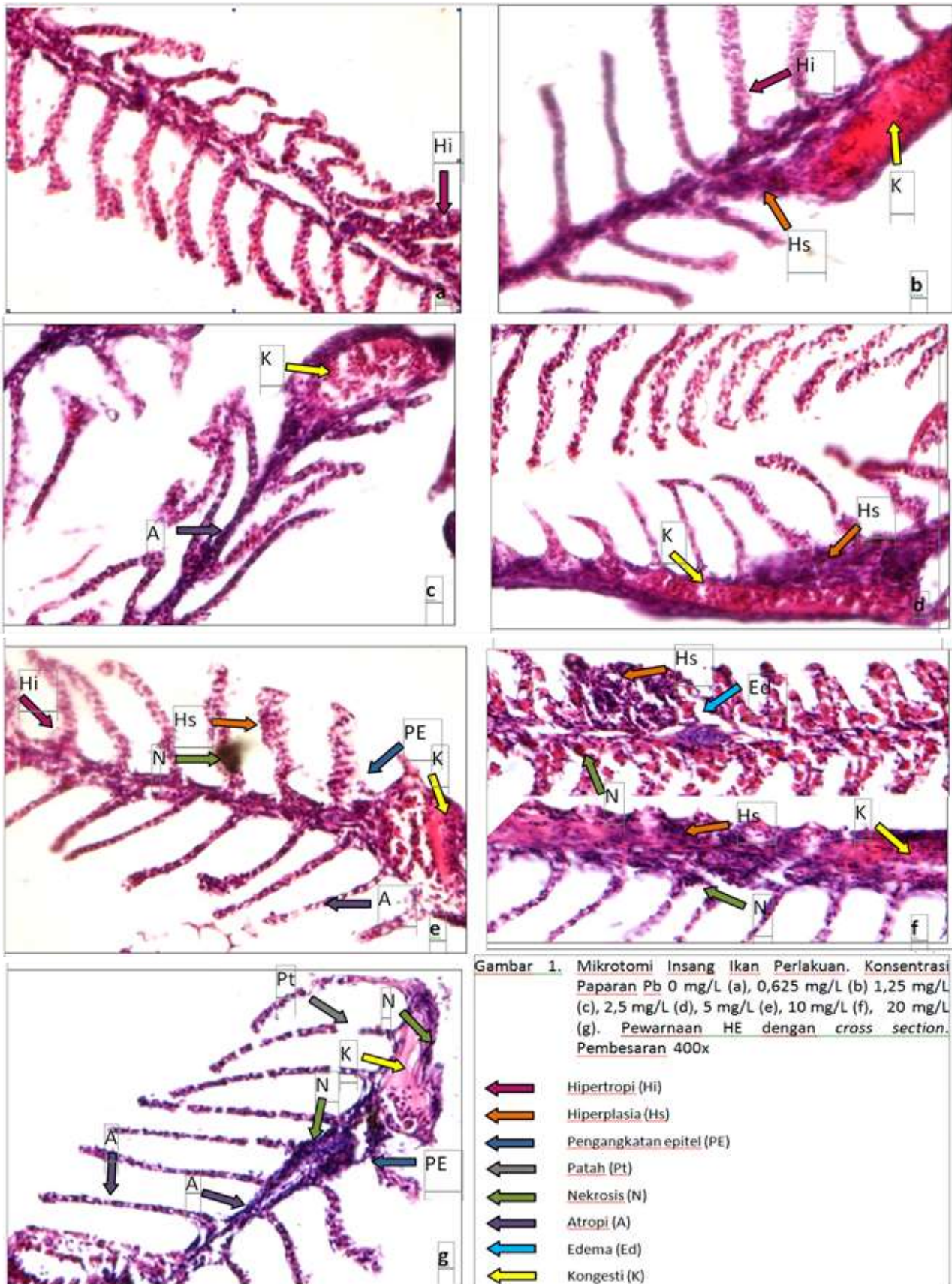
Perubahan histopatologi telah digunakan secara luas sebagai biomarker dalam mengevaluasi kerusakan pada kesehatan ikan yang terpapar oleh berbagai kontaminan. Organ

Tabel 1. Intensitas dan Tingkat Kerusakan Lamella Insang Ikan Bandeng Yang Diamati

Ulangan	Jumlah lamella	Jumlah lamella rusak	Prosentase (%)	Score	Kategori
A1	21	Hipertropi 2	9	+	Ringan
A2	29	Hipertropi 3	10,3	+	Ringan
A3	26	Hiperplasia 3	11,5	+	Ringan
B1	21	Hipertropi 3	14,3	+	ringan
B2	29	Hiperplasia 7	24,1	+	Ringan
B3	26	Hipertropi 4	15,4	+	Ringan
C1	26	Hiperplasia 4	15,4	+	Ringan
C2	28	Atropi 3	10,7	+	Ringan
C3	29	Hiperplasia 4	13,8	+	Ringan
		Atropi 4	13,8	+	Ringan
D1	24	Hiperplasia 3	12,5	+	Ringan
D2	30	Hipertropi 3	10	+	Ringan
		Hiperplasia 7	23	+	Ringan
D3	26	Hipertropi 3	11,5	+	Ringan
		Hiperplasia 9	34,6	++	Sedang
E1	30	Hipertropi 11	36,7	++	Sedang
E2	27	Edema 2	7,4	+	Ringan
		Atropi 3	11,1	+	Ringan
E3	24	Hiperplasia 11	45,8	++	Sedang
		Pengangkatan epitel 5	20,8	+	Ringan
		Hiperplasia 12	41,4	++	Sedang
F1	29	Nekrosis 20	69	+++	Parah
		Edema 28	96	++++	Sangat Parah
		Hiperplasia 20	66,7	+++	Parah
F2	30	Nekrosis 15	50	++	Sedang
		Edema 19	63	+++	Parah
		Nekrosis 10	40	++	Sedang
F3	25	Hiperplasia 10	40	++	Sedang
		Pengangkatan epitel 10	40	++	Sedang
G1	31	Nekrosis 14	45	++	Sedang
		Atropi 20	64	+++	Parah
		Nekrosis 19	65	+++	Parah
G2	29	Patahan 8	30	++	Sedang
		Atropi 19	65	+++	Parah
G3	27	Nekrosis 15	56	+++	Parah
		Patahan 7	26	++	Sedang

yang telah berhasil digunakan sebagai biomarker histopatologi dalam pengamatan lingkungan, adalah insang, hati dan ginjal (Martinez dan Camargo, 2007). Organ-organ tersebut bertanggung jawab atas fungsi respirasi, ekskresi, akumulasi, dan biotransformasi xenobiotic pada ikan.

Struktur insang yang tampak pada kontrol (PbCl<sub>2</sub> 0 ppm) menunjukkan bentuk yang relatif normal. Tiap-tiap filamen pada struktur insang yang normal memiliki beberapa bagian yang disebut lamella, yang merupakan tempat pertukaran gas. Lamella itu sendiri tersusun dari epitel-epitel yang tipis pada bagian luar,



membran dasar dan sel-sel tiang sebagai penyangga pada bagian dalam. Pinggiran lamella yang tidak menempel pada lengkung insang

sangat tipis, ditutupi epitelium dan mengandung jaringan pembuluh darah kapiler (Fujaya, 1999). Terdapat sel-sel mukus pada epitelium basal dan

pada banyak bagian lamella sekunder insang. Sedangkan sel klorid terlihat pada dasar lamella sekunder (Hibiya, 1982).

Ragam jenis respon adaptif seperti hipertropi, hiperplasia, dan atrofi pada epitelium membran lamella insang banyak terjadi pada konsentrasi Pb yang rendah, yaitu 0, 625-5 ppm, dengan tingkat kerusakan yang sedang yaitu sebesar 45,8%. Jenis-jenis respon adaptif ini tidak berbeda jauh bila dibandingkan dengan beberapa ikan yang terpapar Pb, seperti terhadap ikan mas di Riau yang dilakukan oleh Natalia (2007) dengan konsentrasi pemaparan Pb 3 ppm dan ikan belanak yang terpapar logam Pb hingga konsentrasi 2,831 ppm yang diteliti oleh Ningrum (2006).

Pada konsentrasi yang lebih tinggi, jenis respon adaptif berkurang yang ditandai dengan atrofi, tetapi dengan tingkat kerusakan yang tinggi, yakni mencapai 65% pada konsentrasi Pb 20 mg/L. Namun respon adaptif yang demikian pada jaringan insang tidak berbahaya. Hal ini sebagaimana yang diungkapkan oleh Pringgoutomo (2006) bahwa perubahan adaptif dapat menjadi pulih ke keadaan semula.

Hipertropi pada insang dapat terjadi karena Pb melakukan kontak langsung dengan epitel yang mengakibatkan terjadinya iritasi. Timbal memiliki kemampuan berdifusi ke dalam intraselular melalui transport aktif (Bhattacharya, 2006) dengan melibatkan enzim transport ATPase. Pb mempengaruhi fungsi membran dengan menghambat  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATP-ase.  $\text{Na}^+$  tetap di dalam sel karena permeabilitasnya yang lebih kecil pada membran. Air masuk ke dalam sel, akibatnya timbul pembengkakan.

Hiperplasia dapat terjadi pada sel-sel labil seperti epitelium sebagai kompensasi kerusakan ketika sel kekurangan secret Pringgoutomo (2002). Hipertropi dan hiperplasia epitel yang terus berkembang pada lamella menyebabkan lamella-lamella sekunder bergabung. Respon adaptasi yang demikian pada epitel lamella merupakan mekanisme pertahanan yang dapat meningkatkan jarak antara darah dan lingkungan luar. Perubahan-perubahan tersebut merupakan barier terhadap masuknya kontaminan. Namun respon ini dapat menjadi buruk. Menurut Fernandes (2007), jarak tersebut meningkatkan jarak difusi oksigen dari air ke kapiler. Hipertropi juga dapat menyebabkan penurunan volume respirasi tertentu antara lamella dan melemahkan difusi oksigen melewati epitelium yang bengkak (Elahee, 2002). Sehingga mekanisme-mekanisme tersebut dapat menimbulkan hipoxia pada ikan.

Selain perubahan adaptif, gangguan-gangguan sirkulasi juga tampak. Kongesti pada lamella insang terjadi pada semua perlakuan (Gambar 1). Kongesti adalah berlimpahnya darah dalam pembuluh darah sehingga kapiler darah membengkak. Kongesti dapat terjadi disebabkan oleh kenaikan jumlah darah dan vasodilatasi pembuluh darah yang diakibatkan oleh timbulnya reaksi inflamasi setelah perubahan-perubahan struktur biokimia sel oleh Pb. Edema juga terlihat pada hasil, yakni pada konsentrasi Pb 5-10 ppm. Edema adalah keadaan dimana terjadinya peningkatan jumlah cairan pada kompartemen intraselular. Edema banyak terjadi pada jaringan insang yang mengalami pemaparan terhadap logam berat (Pazra, 2008). Menurut Guyton and Hall (1996) dalam Pazra (2008), terjadinya edema

disebabkan oleh meningkatnya tekanan hidrostatis intra vaskula menimbulkan perembesan cairan plasma darah keluar dan masuk ke dalam ruang interstisium. Hal tersebut dapat diakibatkan oleh berbagai kondisi patologik diantaranya terjadinya inflamasi yang berkaitan dengan permeabilitas vaskular, juga dapat merupakan perubahan lanjut pasca kongesti.

Dibandingkan dengan konsentrasi Pb yang rendah, pada paparan Pb 5 sampai 20 mg/L, respon sel adaptif banyak berkembang menjadi irrefersibel yang ditandai dengan nekrosis pada lamella, dengan kerusakan mencapai 69%. Nekrosis merupakan kematian sel, diduga terjadi sebagai akibat gangguan sirkulasi dan iskemik yang terjadi secara mendadak. Hal ini juga sejalan dengan pernyataan Pringgoutomo (2006) bahwa iskemia komplis dan mendadak yang berlangsung cukup lama tanpa adanya kolateral dapat menimbulkan nekrosis. Banyaknya kematian sel yang memiliki sifat proliferasi terbatas pada lamella insang dapat memperburuk fungsi respirasi insang.

Patahan pada lamella insang juga dapat terjadi. Hal ini tidak dapat dihindarkan akibat berkurangnya elastisitas epitel dalam menyangga organel di dalamnya setelah lamella mengalami lesi dan atropi.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Paparan PbCl<sub>2</sub> pada insang menimbulkan perubahan sel refersibel dan irreversibel dengan prosentase kerusakan lamella insang mencapai sebesar 69%.

### Saran

Sangat diperlukan penelitian yang lebih mendalam mengenai pengaruh Pb terhadap pengaturan sirkulasi cairan tubuh dan vaskular baik secara mikrotomi, biokimia, dan selular.

## DAFTAR PUSTAKA

- Bhattacharya, P.K., 2006. Metal Ions In Biochemistry. Alpha Science International Ltd. UK. 217p.
- Brancoft, J.D., and Steven, A., 1982. Theory and Practice of Histological Techniques, Second Edition. Churchill Livingstone Inc. US America.
- Darmono, 1995., Logam Dalam Sistem Biologi Makhluk Hidup. UI Press. Jakarta.
- Elahee, K.S., and Bhagwant, S., 2002. Phatology Gill Lesion in Two Edible Lagoon Fish Spesies, *Mulloidichthys flavolineatus* and *Mugil cephalus*, From The Bay of Poudre d'Or, Mauritius. *Western Ocean J. Mar. Sci.* Vol 1 No. 1 pp: 32-42
- Fujaya, Y., 2002. Fisiologi Ikan (Dasar Pengembangan Teknologi Perikanan). Jurusan Perikanan. Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Unhas. Makassar.
- Herawati, E., dan S. Handari, 2005. Pengaruh Infus Jamur *Ling zhi* (*Ganoderma lucidium* (Leyss exFr) Karst)) Terhadap Mencit (*Mus musculus* L) yang Diberi Timbal: Kajian Struktur Mikroanatomi Ren. *Enviro.* 4 (2) ; 54-60
- Hibiya, T., (edited) 1982. An Atlas of Fish Histology, Normal And Pathological Features. Kodansha Ltd. Japan.
- Natalia, M., 2007. Pengaruh Pb terhadap Struktur Insang Ikan Mas (*Cyprinus carpio*, L). *Jurnal Perikanan dan Kelautan* 12, 1 (2007): 42-47.
- Pazra, D. F., 2008. Gambaran Histopatologi Insang, Otot, dan Usus Pada Ikan Lele (*Clarias* sp) Asal Dari Daerah Bogor. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.
- Raza'i, R. S., 2008. Analisis Histopatologi Organ Insang dan Usus Ikan Kerapu (*Epinephelus coloides*) Yang Diberikan Khamir laut (Marine yeast) Sebagai Imunostimulan.

Tesis . Minat Bioteknologi Perikanan dan Kelautan Jurusan Budidaya Perairan Program Pascasarjana Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, universitas Brawijaya, Malang.

Suntoro, S.H., 1983. Metode Pewarnaan (Histologi dan Histokimia). Penerbit Bhatara Karya Aksara, Jakarta. 395 hal.