

Pengaruh Pemberian Larutan Daun Pepaya Pada Lele yang Diinfeksi *Aeromonas hydrophila* Ditinjau Dari Histopatologi Insang, Kulit dan Otot

Effect of Papaya Leaf Solution on Catfish Infected with Aeromonas hydrophila in Terms of Histopathology of Gills, Skin and Muscles

Dewi Susyowati¹, Sri Andayani², Maheno Sri Widodo³

¹Dosen Prodi S1 Akuakultur, Universitas Muhammadiyah Purwokerto

^{2,3}Dosen Prodi Budidaya Perairan, Universitas Brawijaya

ARTICLE INFO

Article history:

DOI:

[10.30595/pspfs.v4i.514](https://doi.org/10.30595/pspfs.v4i.514)

Submitted:

August 20, 2022

Accepted:

Oct 28, 2022

Published:

Nov 28, 2022

Keywords:

Lele, Daun Pepaya,
Histopatologi, Kulit, Insang,
Otot

ABSTRACT

Histopatologi dapat memberikan gambaran perubahan atau kelainan pada level jaringan. Parameter utama pada penelitian ini adalah histopatologi insang, kulit, dan otot. Penelitian menggunakan dua kontrol yaitu kontrol normal (tanpa infeksi dan tanpa perlakuan daun pepaya) dan kontrol infeksi (tanpa paparan larutan daun pepaya). Lima perlakuan yang digunakan yaitu pengobatan dengan paparan larutan daun pepaya dengan dosis 10, 15, 20, 25 dan 30 mg/mL. Hasil penelitian menunjukkan insang dan kulit ikan normal tidak mengalami hiperplasia. Otot ikan normal terlihat kompak dan rapat antara sel yang satu dengan yang lainnya. Insang dan kulit ikan yang terinfeksi mengalami kerusakan jaringan. Kerusakan jaringan juga terjadi pada perlakuan pengobatan paparan larutan daun pepaya berupa hiperplasia dengan tingkat radang, degenarasi, dan nekrosis yang berbeda-beda. Hasil skoring ikan terinfeksi tanpa pengobatan memiliki nilai yang hampir sama dengan perlakuan pengobatan pada paparan larutan daun pepaya dosis 25 dan 30 mg/mL. Hal ini diakibatkan larutan dengan konsentrasi tinggi memberikan efek toksik. Sebaliknya, dosis 10 mg/mL kurang efektif untuk pengobatan karena bersifat bakteriostatik yaitu hanya menahan pergerakan bukan membunuh bakteri. Dosis yang tepat untuk membunuh bakteri dan tidak bersifat toksik adalah pengobatan dengan paparan larutan daun pepaya dosis 15 dan 20 mg/mL. Hal tersebut didukung oleh kelulushidupan ikan lele.

This work is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).



Corresponding Author:

Dewi Susyowati

Dosen Prodi S1 Akuakultur Universitas Muhammadiyah Purwokerto

Email: dewisusyowati@ump.ac.id

1. PENDAHULUAN

Antimikroba adalah zat yang menghambat pertumbuhan atau menghancurkan mikroba yang berbahaya. Namun, tingkat resistensi mikroorganisme patogen terhadap agen anti-mikroba yang digunakan secara konvensional pada tahap mengkhawatirkan. Oleh karena itu sebagian peneliti mengalihkan konsentrasinya pada produk herbal (tanaman obat) untuk mengendalikan mikroba yang resisten terhadap obat. Beberapa keuntungan menggunakan tanaman obat yaitu efek samping yang lebih sedikit, relatif terjangkau, riwayat penggunaan yang panjang sehingga mudah diterima dan bersifat terbarukan. Disebut riwayat penggunaan yang panjang karena

tanaman herbal masih menjadi andalan sekitar 75-80% dari seluruh populasi, dan bagian utama dari terapi tradisional melibatkan penggunaan ekstrak tumbuhan dan konstituen aktifnya (konstituen fitokimia) dalam ekstrak tumbuhan seperti alkaloid, saponin, flavonoid, dan fenol. Menurut Susylowati (2022) besarnya nilai flavonoid dan fenol berbanding lurus dengan aktivitas antioksidan. Kadar total flavonoid dapat menjadi indikator keefektifannya sebagai penangkap radikal bebas karena dapat menghasilkan radikal fenoksil yang terstabilkan oleh efek resonansi dari cincin aromatis.

Daun pepaya merupakan salah satu bahan yang digunakan dalam pengobatan tradisional. Menurut Unaeze (2018), ekstrak methanol daun pepaya selain memiliki senyawa fenol (asam protocatechuic, asam p-coumaric, 5,7-dimethoxycoumarin, asam kafeik, kaempferol, kuersetin dan asam klorogenik) juga banyak memiliki metabolit sekunder lainnya. Senyawa utama dalam tumbuhan pepaya adalah chymopapain dan papain, yang membantu pencernaan. Papain biasanya digunakan untuk pengobatan radang sendi dan merupakan enzim proteolitik yang memiliki banyak kegunaan di bidang industri. Dalam kaitannya dengan antimikroba, tumbuhan pepaya memiliki senyawa kimia karpain, zat yang membunuh mikroorganisme yang sering mengganggu saluran pencernaan.

Penelitian ini bertujuan mengetahui efektivitas larutan daun pepaya dalam mengobati ikan lele yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. Serangan *A. hydrophila* yang masif dalam akuakultur menyebabkan penyakit bercak merah pada ikan sehingga menyebabkan kerugian pada usaha akuakultur. Untuk melihat gambaran detail larutan daun pepaya dalam pengobatan jaringan ikan lele yang diinfeksi *A. hydrophila* maka dapat ditinjau dari histopatologi insang, kulit dan otot. Pengamatan histopatologi akan memberikan informasi pada peneliti gambaran perubahan jaringan/organ setelah perlakuan penelitian.

2. METODOLOGI

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen dimana memungkinkan peneliti mengendalikan suatu sistem untuk mengetahui sebab dan akibat yang timbul dengan diberikannya perlakuan pada subjek penelitian. Menurut Anjani *et.al.* (2021), penelitian eksperimen merupakan penelitian yang berusaha mencari pengaruh variabel tertentu terhadap variabel lain yang kemunculan variabel lain itu dipicu oleh keadaan yang terkontrol ketat dengan tujuan untuk mencari hubungan sebab akibat antar kedua variabel. Menurut Maksam (2011) dalam Prastowo (2014) salah satu ciri pokok dari penelitian eksperimen adalah adanya perlakuan yang diberikan ke subjek penelitian.

Subjek dalam penelitian ini adalah ikan lele (*Clarias sp*) dengan tujuh perlakuan yang terdiri dari dari perlakuan kontrol normal, kontrol negatif dan lima perlakuan eksperimen. Kontrol normal adalah perlakuan tanpa infeksi dan pengobatan. Kontrol normal digunakan sebagai acuan dasar pengamatan atas perubahan yang terjadi pada perlakuan eksperimen. Kontrol negatif adalah perlakuan infeksi *A. hydrophila* tanpa diberikan pengobatan yang digunakan untuk pembandingan kondisi terburuk terhadap kelompok perlakuan eksperimental. Perlakuan eksperimental dalam penelitian kali ini yaitu pemberian dosis yang berbeda pada pengobatan akibat infeksi *A. hydrophila*. Dosis larutan daun pepaya yang diberikan adalah 10, 15, 20, 25 dan 30 mg/mL. Setiap perlakuan dilakukan tiga kali pengulangan.

Persiapan Wadah

Wadah yang digunakan dalam penelitian adalah akuarium. Akuarium disterilkan terlebih dahulu untuk meminimalisir kontaminan sehingga penelitian benar-benar terkondisikan. Akuarium dicuci bersih dengan menggunakan *methylene blue* sebanyak 5mL yang diencerkan dalam 1 L air, didiamkan selama 24 jam, dan kemudian dibilas dengan air mengalir. Setelah bersih, akuarium diisi air dan aerasi. Akuarium yang digunakan untuk infeksi *A. hydrophila* berukuran 80 x 30 x 40 cm³. Sedangkan akuarium untuk perlakuan berukuran 30 x 30 x 30 cm³.

Persiapan Ikan Lele Dumbo

Subjek penelitian kali ini adalah ikan lele dumbo berukuran 10-12 cm. Jumlah lele yang digunakan adalah 10 ekor per akuarium. Sebelum perlakuan ikan diaklimatisasi terlebih dahulu dan diberi pakan secara ad libitum sebanyak dua kali sehari. Selain itu juga dilakukan penyiponan agar kualitas air terjaga dengan baik.

Pembuatan Larutan Daun Pepaya

Menurut Unaeze *et.al* (2018) larutan daun pepaya yang mengandung senyawa aktif diperoleh dari metode maserasi, ekstraksi air bubuk daun pepaya. Bubuk daun pepaya dimasukkan ke dalam air suling dan didiamkan selama 48 jam, diaduk selama 45 menit. Ekstrak disaring menggunakan filter mesh dan kain muslin pertama dan dipekatkan dengan menggunakan pengeringan udara di bawah arus udara konstan dan penangas air pada 50°C

Daun pepaya yang digunakan dalam penelitian dicuci bersih dengan air mengalir, dikering anginkan, dijemur dan ditutup kain steril selama satu minggu. Kadar air daun pepaya dihitung. Jari daun pepaya

dipisahkan dengan daunnya dan kemudian dihaluskan menjadi bubuk dan diayak untuk mendapatkan ukuran butiran yang merata. Bubuk daun pepaya ditimbang sebanyak 50 gram dan dilarutkan dalam 1 L akuades kemudian ditutup dengan aluminium foil. Setelah itu direbus pada suhu 50°C kurang lebih 30 menit kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring. Larutan yang dihasilkan ini memiliki konsentrasi 50 mg/mL. Maka Langkah selanjutnya adalah melakukan pengenceran untuk mendapatkan dosis-dosis perlakuan 10, 15, 20, 25 dan 30 dengan rumus berikut:

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

V_1 : Volume larutan yang dibutuhkan (L)

V_2 : Volume larutan hasil saringan (L)

N_1 : Konsentrasi larutan yang dibutuhkan

N_2 : Konsentrasi larutan hasil saringan

Contoh mencari dosis dosis 10 mg/ML yang akan digunakan dalam 2 liter air adalah:

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$2 \times 10 = V_2 \times 50$$

$$V_2 = 0,4 \text{ L larutan daun pepaya } 50 \text{ mg/mL}$$

Persiapan Suspensi Bakteri *Aeromonas sp* dan Infeksi

Sterilisasi merupakan langkah awal dalam mempersiapkan suspensi bakteri. Sterilisasi berfungsi untuk meminimalisir kontaminan yang tidak diinginkan dalam menumbuhkan atau meremajakan bakteri atau kultur jaringan tertentu yang dibutuhkan. Menurut Wulandari et.al (2021), sterilisasi berguna untuk membunuh dan membersihkan semua bentuk mikrobia hidup yang dapat dilakukan dengan sterilisasi basah, sterilisasi kering, sterilisasi menggunakan api dan sterilisasi menggunakan *Glass Bead Sterilizier*.

Sebelum membuat suspensi bakteri dengan kepadatan 10^7 alat-alat dan media disterilisasi basah dan menggunakan api. Sterilisasi basah merupakan metode sterilisasi menggunakan uap air di bawah tekanan dengan menggunakan autoklaf. Sterilisasi basah digunakan untuk mensterilkan alat-alat yang terbuat dari plastik dan kaca serta media kultur. Menurut Sari et.al (2022), autoklaf memiliki fungsi sebagai alat pensteril dengan banyak kelebihan antara lain pemanasan berlangsung cepat, mempunyai daya tembus, dan menghasilkan kelembaban yang tinggi. Semua proses tersebut akan mempermudah koagulasi protein sel-sel mikroorganisme sehingga kematian mikroorganisme disebabkan oleh suhu bukan karena uap atau tekanannya. Suhu autoklaf untuk sterilisasi alat dan media kultur bakteri *A. hydrophila* dalam penelitian ini adalah 121°C tekanan udara 1,5 atm selama 15 menit. Kondisi tersebut sangat efektif untuk membunuh bakteri dan spora jamur. Sedangkan alat-alat berupa pinset dan jarum ose disterilisasi menggunakan api Bunsen. Menurut Wulandari et.al (2021) sebelum dibakar dengan api bunsen, pinset dan jarum ose terlebih dahulu dicelupkan ke dalam etanol 70%.

Bakteri *A. hydrophila* diaktifkan dalam *nutrient broth* dan kemudian diresuspensi bakteri uji ke dalam 5 mL garam fisiologis (NaCl 0,85%) lalu dibandingkan kekeruhannya menggunakan standar *McFarland* no. 9 (setara dengan kekeruhan bakteri 10^9 sel bakteri/mL). Suspensi bakteri tersebut selanjutnya diencerkan dengan kepadatan 10^7 sel bakteri/mL sebanyak 100 mL. Larutan suspensi bakteri tersebut kemudian dituangkan ke dalam akuarium yang di dalamnya telah terdapat lele sebagai hewan uji. Penginfeksi dilakukan selama 24 jam. Menurut Putri et.al. (2022) kepadatan bakteri 10^7 menyebabkan kematian 50% ikan yang disebut dengan LC50.

Pemberian Dosis Larutan Daun Pepaya

Ikan yang telah diinfeksi dimasukkan ke dalam akuarium yang telah berisi larutan daun pepaya dengan dosis 10, 15, 20, 25 dan 30 mg/mL. Ikan yang dimasukkan ke akuarium pengobatan adalah 10 ekor per perlakuan. Ikan diobati dengan larutan daun pepaya selama lima (5) hari dan sembilan (9) hari masa pemeliharaan.

Pengamatan Jaringan

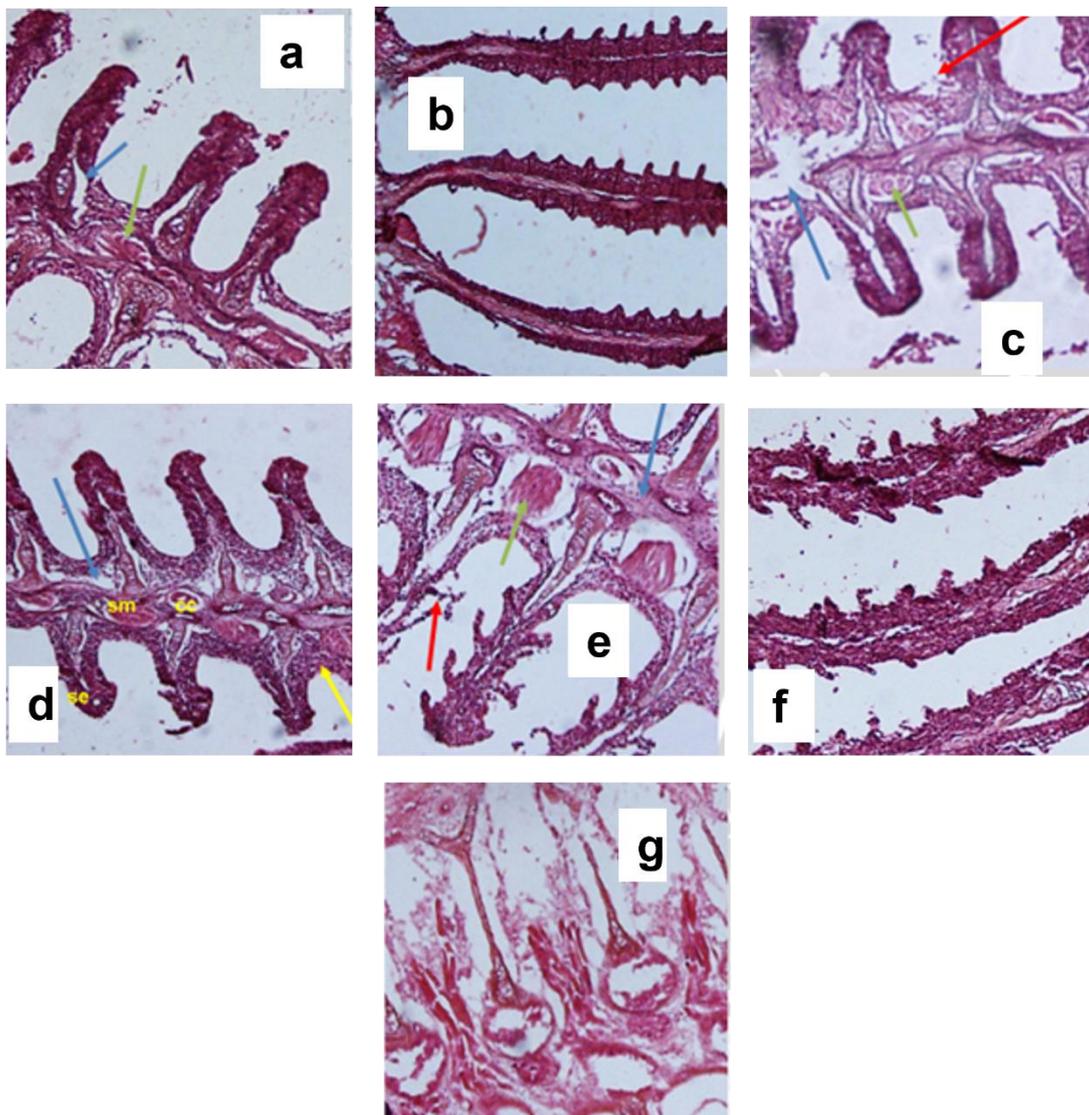
Setelah masa pemeliharaan diambil sampel insang, kulit dan otot untuk pembuatan preparat histologi. Langkah selanjutnya adalah fiksasi dan pemrosesan jaringan, pembuatan blok, pemotongan blok, penempelan, pewarnaan (staining) dan penutupan preparate dengan cover glass menggunakan entellan. Preparat jaringan kemudian diamati dengan mikroskop electron dan didokumentasikan dengan perbesaran 100x. Menurut Sugiantari et.al. (2022) preparate insang diamati edema lamella skunder, hiperplasia dan fusi lamella. Menurut Halim et.al (2022) pengamatan histopatologi otot meliputi nekrosis, degenerasi otot (kerusakan serabut otot), pyknosis (perubahan inti otot), hialinasi (pecahnya serabut otot), edema (meningkatnya jumlah cairan antar

jaringan). Hasil pengamatan kemudian dianalisa secara deskriptif kualitatif dengan melihat perubahan jaringan (Utami *et.al*, 2017).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Histopatologi Insang

Ikan rentan terhadap penyakit bakteri dan parasit di perairan yang tidak dikelola dengan baik sebagai akibat dari stres oksidatif dan pertahanan imunologi yang lemah. Kondisi tersebut dapat menyebabkan perubahan struktural dan biokimia pada sel, jaringan dan organ, yang pada akhirnya mempengaruhi kualitas ikan yang dikonsumsi. Teknik histopatologi merupakan metode yang tepat untuk melihat gambaran perubahan yang terjadi pada bagian tubuh ikan (Joshua *et.al*, 2022). Menurut Abdullah-Al Mamun *et.al*. (2022) studi histopatologi pada ikan sangat penting bagi para petani budidaya ikan terutama untuk pencegahan dan manajemen kesehatan ikan.



Gambar 01. Gambaran histologi insang a. kontrol normal, b. kontrol negatif, c. paparan larutan daun pepaya 10 mg/mL, paparan larutan daun pepaya 15 mg/mL, paparan larutan daun pepaya 20 mg/mL, paparan larutan daun pepaya 25 mg/mL, paparan larutan daun pepaya 30 mg/m. sm (sel mucus), se (sel epitel), dan cc (chondrocytes). Panah: merah (nekrosis), kuning (inflamasi), biru (hemoragi) dan hijau (degenerasi sel). Pewarnaan HE bar 100 μ m perbesaran 400x

Histopatologi pada insang ikan dibutuhkan dalam pengamatan utama penelitian dengan metode pengobatan perendaman. Insang merupakan organ yang permukaannya luas dan terbuka sehingga dapat dipengaruhi secara langsung struktur fisiologi insangnya. Perubahan struktur fisiologi pada Gambar 01 disebut dengan hiperplasia yang merupakan bentuk adaptasi terhadap perubahan lingkungan atau adanya infeksi dalam

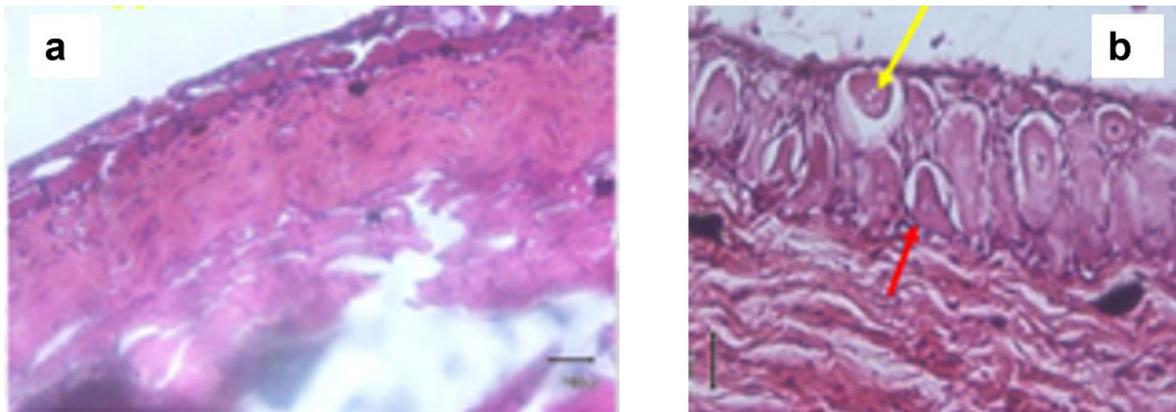
kurun waktu tertentu. Menurut Rifqiyati *et.al* (2017) mekanisme terjadinya hiperplasia merupakan reaksi pertahanan terhadap serangan bakteri sehingga lamela menstimulasi pertumbuhan sel epitel lamela insang yang sangat cepat dan mengeluarkan lendir (mukus). Menurut Saputra *et.al* (2013) hiperplasia dapat mengakibatkan fusi lamela yang dapat mengurangi efisiensi difusi gas. Menurut Tanjung (1982) tingkat kerusakan insang ditinjau dari pengamatan histologi terdiri dari lima tingkatan. Tingkat I, terjadi edema pada lamela dan terlepasnya sel-sel epitelium dari jaringan dibawahnya; tingkat II, terjadi hiperplasia pada basal proximal lamela sekunder; tingkat III, hiperplasia menyebabkan bersatunya dua lamela sekunder; tingkat IV, hampir seluruh lamela sekunder mengalami hiperplasia; dan tingkat V, hilangnya struktur lamela sekunder dan rusaknya filamen.

Gambaran insang kontrol (Gambar 01.a) dan perlakuan 15 mg/mL (Gambar 01.d) mengalami kerusakan insang tingkat I. Kedua gambar tersebut menunjukkan edema, inflamasi dan terlepasnya sel-sel epitel pada lamella sekunder. Inflamasi mengindikasikan bahwa jaringan mengalami penyembuhan. Kerusakan jaringan pada ikan kontrol dimungkinkan karena stress pengangkutan atau memang kondisi ikan demikian adanya yaitu media hidup sebelumnya telah tercemar atau mengandung bahan toksik. Insang ikan kontrol dan perlakuan 15 mg/mL menunjukkan gambaran epitel yang jelas pada lamella sekunder, hanya sedikit ruang interstitial pada basal proksimal, dan sel-sel pembentuk jaringan masih terlihat jelas dan utuh. Sel-sel mukus, sel-sel chondrocytes, sel-sel kapiler dan sel-sel epitel terlihat dengan jelas serta sedikit ditemukan degenerasi sel.

Gambaran insang dengan perlakuan 10 mg/mL dan 20 mg/mL (Gambar 01.e dan 01.c) menunjukkan kerusakan insang tingkat II yaitu terjadinya hiperplasia pada basal proksimal lamela sekunder. Hiperplasia pada lamela sekunder tersebut ditunjukkan dengan ruang-ruang interstitial yang panjang pada lamella sekunder, adanya ruang atau rongga pada sel-sel mukus dan sel-sel chondrocytes. Paparan larutan daun pepaya dosis 10 mg/mL dan 20 mg/mL dapat dikatakan kurang cukup baik untuk pengobatan. Paparan larutan 10 mg/mL merupakan dosis yang hanya bisa menghambat pertumbuhan bakteri namun tidak untuk membunuh bakteri sedangkan dosis 20 mg/mL lebih pekat sehingga sifat toksik larutannya meningkat. Tingginya konsentrasi larutan daun pepaya mengganggu proses metabolisme jaringan insang. Gambar 01.b (kontrol negatif) dan Gambar 01.f (perlakuan 25 mg/mL) menunjukkan kerusakan insang tingkat IV, yaitu hampir seluruh lamella sekunder mengalami hiperplasia. Hal tersebut jelas karena ikan tidak mendapatkan pengobatan dan semakin toksiknya media hidup ikan. Kerusakan tingkat V ditunjukkan oleh perlakuan 30 mg/mL (Gambar 01.g) yaitu hilangnya struktur lamella sekunder dan rusaknya filamen. Menurut Jamin dan Erlangga (2016), ketika insang tertutup mukus dan terganggunya proses difusi oksigen maka sel klorida meningkat dan menyebabkan sel lamella sekunder mengalami penebalan hingga mengakibatkan berkurangnya area respirasi. Pendarahan (hemoragi) pada lamella terjadi karena adanya kontak langsung lamella dengan senyawa kimia pada saat respirasi. Hal tersebut menyebabkan iritasi sehingga daya osmotik pembuluh darah semakin tinggi yang mengakibatkan cairan pada kapiler darah keluar dan kemudian masuk ke ajingan sekitarnya sehingga sel bertambah besar. Menurut Novalia *et.al* (2013), peningkatan hiperplasia pada lamella insang diikuti dengan ketidakmampuan memperbaiki kerusakan sel dapat menyebabkan terjadinya kematian sel dan kemudian sel lepas dari jaringan penyokongnya.

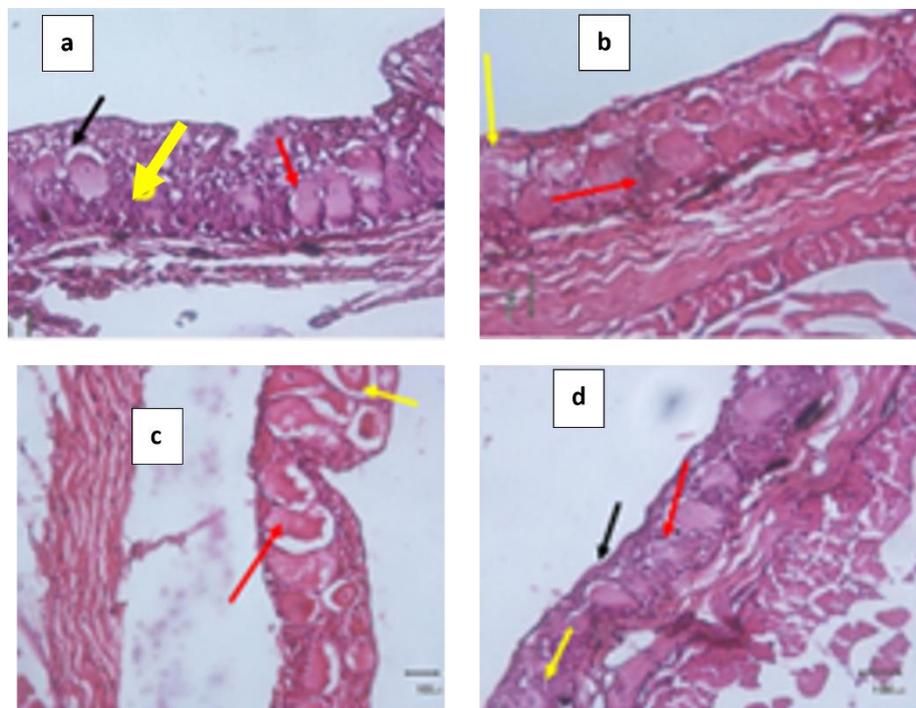
Histopatologi Kulit

Kulit hewan akuatik selalu berhadapan langsung dengan banyak mikroorganisme. Mikroorganisme yang terdapat pada perairan akan menimbulkan penyakit pada ikan jika masuk dan keberadaannya pada jaringan membuat ikan tidak mampu lagi menjalankan fungsinya secara normal. Dan mikroorganisme seperti *A. hydrophila* dapat menyebabkan infeksi luka pada jaringan ikan secara sistemik. Kulit ikan terinfeksi *A. hydrophila* pada penelitian ditunjukkan pada Gambar 02.a dan kulit ikan yang tidak terinfeksi terlihat pada Gambar 02.b. Perbedaan dari kedua gambar tersebut sangat jelas yaitu dengan perbesaran yang sama memperlihatkan kondisi sel-sel dalam jaringan yang jauh berbeda. Pada kulit ikan normal tidak mengalami pembesaran sel, ruang-ruang antar sel sangat rapat, adanya keseragaman warna, dan sedikit radang. Sedangkan pada kulit ikan terinfeksi banyak terdapat ruang antar sel, warna tidak seragam dan sel dalam jaringan tidak utuh. Adanya ruang antar sel menunjukkan jaringan mengalami radang, tidak seragamnya warna jaringan menunjukkan adanya degenerasi sel dan tidak utuhnya sel dalam jaringan menunjukkan adanya nekrosis.



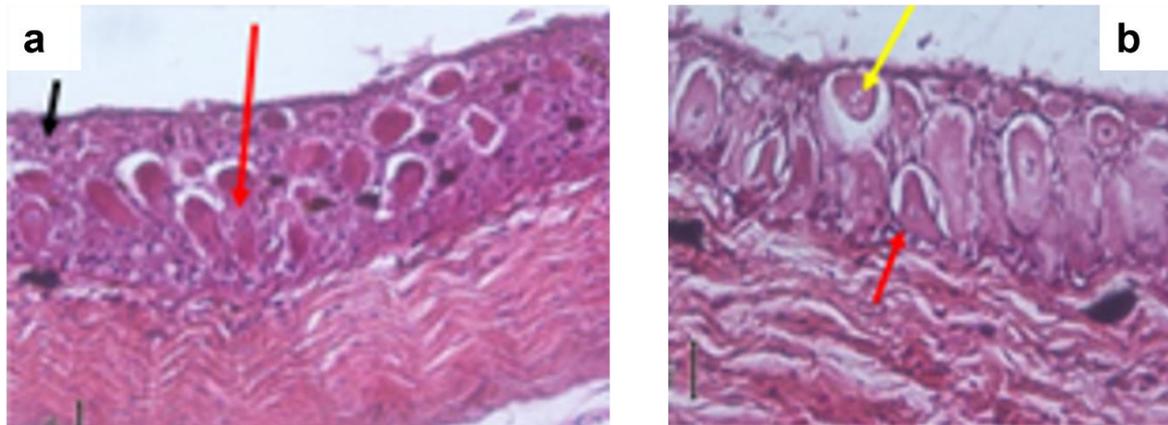
Gambar 02.a Jaringan kulit kontrol normal, b. gambaran histopatologi kontrol negatif (tanda panah kuning: nekrosis, tanda panah merah degenerasi sel). Pewarnaan HE bar 100 μ m perbesaran 400x

Efek farmakologi sangat lemah pada paparan daun pepaya dengan dosis 10 mg/mL karena hanya bersifat bakteriostatik. Senyawa bioaktif larutan daun pepaya mengalami kesulitan dan kegagalan untuk menghambat *A. hydrophila*. Menurut Mewengkang *et.al* (2022), cara kerja antibakteri bakteriostatik hanya pada tahapan menghambat pertumbuhan bakteri. Antibakteri tidak dapat membunuh bakteri karena bakteri gram negatif memiliki struktur dinding sel yang kompleks terdiri dari tiga lapisan yaitu lipoprotein, lipopolisakarida dan peptidoglikan.



Gambar 03. Gambaran histopatologi a. perlakuan 10 mg/mL, b. 20 mg/mL, c. 25 mg/mL, d. 30 mg/mL (tanda panah kuning: nekrosis, tanda panah merah degenerasi sel, dan tanda panah hitam: radang atau inflamasi). Pewarnaan HE bar 100 μ m perbesaran 400x

Gambaran histopatologi paparan larutan daun pepaya dosis 10 mg/mL (Gambar 03.a) tidak berbeda jauh dengan gambaran histopatologi paparan larutan daun pepaya dengan dosis 20 mg/mL, (Gambar 03.b), 25 mg/mL (Gambar 03.c) dan 30 mg/mL (Gambar 03.d). Sel-sel mengalami degenerasi sel ditandai dengan perubahan bentuk sel dan berwarna lebih kusam. Degenerasi sel-sel tersebut disertai dengan kematian sel-sel pada jaringan kulit (nekrosis). Nekrosis ditandai dengan adanya sel-sel yang koyak atau memiliki konsentrasi yang buruk seperti bubur. Lebih lanjut, jaringan epidermis kulit mudah terlepas dari jaringan dermis. Dosis yang terlalu tinggi tidak hanya mematikan bagi *A. hydrophila* tetapi juga toksik bagi ikan sehingga ikan mengalami stress. Stress yang dialami ikan akan memperparah infeksi yang diderita dan berujung pada kematian.

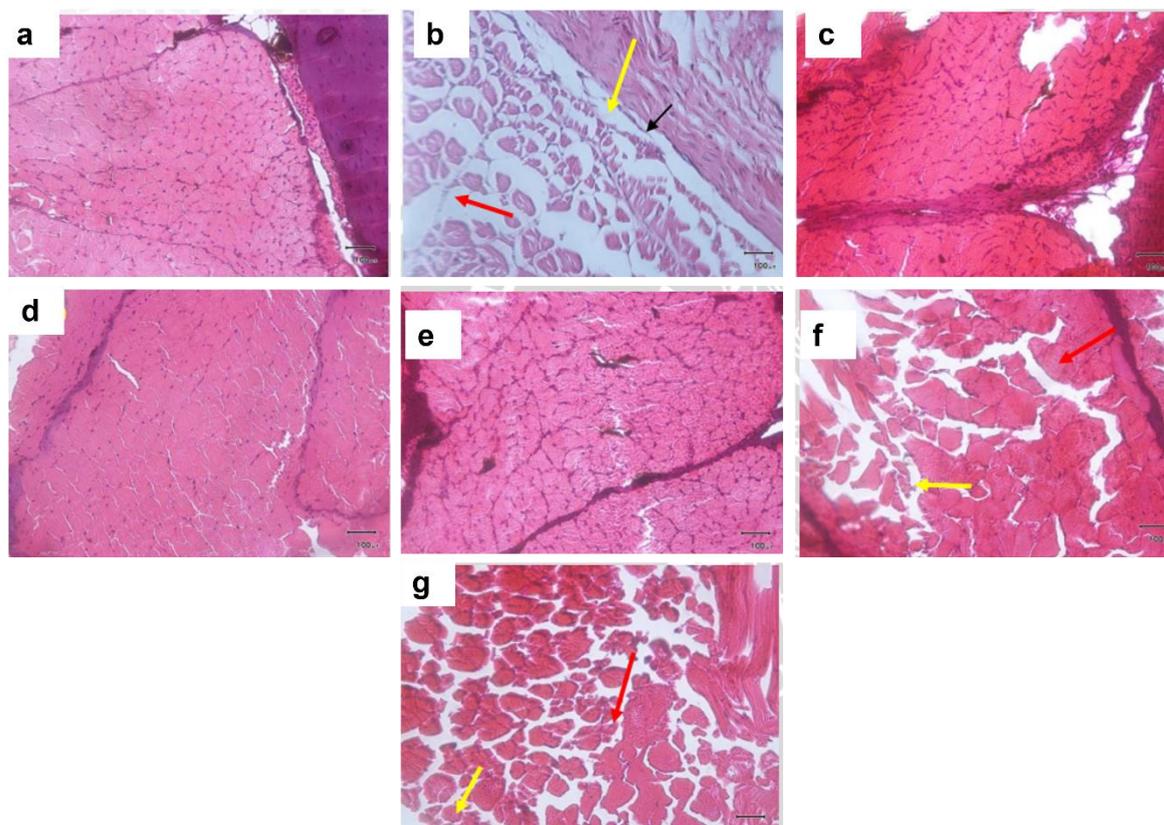


Gambar 04. Gambaran histopatologi a. perlakuan 15 mg/mL dan b. kontrol negatif (tanda panah kuning: nekrosis, tanda panah merah degenerasi sel, dan tanda panah hitam: radang atau inflamasi). Pewarnaan HE bar 100µm perbesaran 400x

Gambaran histopatologi paparan dosis larutan daun pepaya 15 mg/mL (Gambar 04.a) dibandingkan dengan kontrol negatif (Gambar 04.b) banyak mengalami perbaikan jaringan. Paparan larutan daun pepaya dengan dosis 15 mg/mL tidak hanya bersifat bakterisidal tetapi juga dapat memperbaiki kerusakan jaringan akibat infeksi *A. hydrophila* sebelumnya. Gambaran jaringan perlakuan dosis 15 mg/mL menunjukkan struktur warna sel yang lebih seragam dan rapat dibandingkan kontrol negatif. Artinya, takaran dosis tersebut memungkinkan cukup banyak senyawa aktif yang dapat membunuh bakteri hingga dapat menghambat kerusakan jaringan. Paparan dosis larutan daun pepaya 15 mg/mL pada ikan yang terinfeksi *A. hydrophila* merupakan dosis yang memiliki toksisitas selektif. Menurut Hermawan *et.al* (2021), antibiotik dapat dikatakan memiliki toksisitas selektif jika dalam penggunaannya bersifat toksik bagi bakteri namun tidak toksik bagi inangnya.

Histopatologi Otot

Infeksi *A. hydrophila* pada ikan dapat menyebabkan radang dan pendarahan pada jaringan tubuh ikan, salah satunya adalah bagian otot. Infeksi yang masif pada ikan akan menyebabkan kematian ikan (Pratama *et.al*, 2022). Oleh karena itu perlu diketahui kajian histopatologi otot lele yang diinfeksi *A. hydrophila* dengan perlakuan pengobatan larutan daun pepaya berbagai dosis yang telah ditentukan. Gambaran histopatologi pada otot terdiri dari radang atau inflamasi, edema, degenerasi sel dan nekrosis. Radang atau inflamasi merupakan respon awal jaringan terhadap infeksi untuk melawan serangan bakteri. Radang yang berlebih yaitu peningkatan jumlah dan migrasi sel akan menyebabkan edema. Edema pada otot ikan ditunjukkan dengan ruang-ruang interstisial antar sel yang sangat lebar hampir di seluruh jaringan. Tingkatan kerusakan yang selanjutnya adalah degenerasi sel. Degenerasi sel pada otot ikan ditunjukkan dengan warna sel-sel otot yang kusam dan membesar. Tingkat kerusakan paling parah dari jaringan otot ikan adalah nekrosis. Sel-sel nekrosis pada sel jaringan otot terlihat rapuh dan terkoyak.



Gambar 05. Gambaran histologi otot a. kontrol normal, b. kontrol negatif, c. paparan larutan daun pepaya 10 mg/mL, paparan larutan daun pepaya 15 mg/mL, paparan larutan daun pepaya 20 mg/mL, paparan larutan daun pepaya 25 mg/mL, paparan larutan daun pepaya 30 mg/mL. sm (sel mucus), se (sel epitel), dan cc (chondrocytes). Panah: hitam (radang), merah (degenerasi), kuning (nekrosis). Pewarnaan HE bar 100 μ m perbesaran 400x

Gambar 05. menunjukkan gambaran otot ikan lele control negatif (Gambar 05.b), perlakuan 25 mg/mL (Gambar 05.f) dan perlakuan 30 mg/mL (Gambar 05.g) memberikan gambaran yang mirip yaitu menunjukkan kerusakan kronis yaitu sel terlihat rapuh dan terkoyak hampir di seluruh jaringan. Sel-sel nekrosis juga terlihat pada perlakuan 10 mg/mL (Gambar 05.c) namun hanya di bagian tertentu jaringan dan tidak mendominasi. Perlakuan 15 mg/mL (Gambar 05.d) dan 20 mg/mL (Gambar 05.e) merupakan perlakuan terbaik karena gambaran jaringan mendekati gambaran jaringan otot ikan normal. Adanya sedikit ruang-ruang antar sel dimungkinkan karena sebelumnya telah terinfeksi *A. hydrophila*. Dengan demikian, dapat disebutkan bahwa perlakuan 15 mg/mL dan 20 mg/mL memiliki sifat toksisitas selektif. Pada dosis tersebut dapat membunuh bakteri namun tidak toksik pada inangnya bahkan dapat memperbaiki kerusakan jaringan akibat infeksi *A. hydrophila*.

Menurut Santoso (2020), daun pepaya memiliki antimikroba alami yaitu senyawa bioaktif flavonoid dan alkaloid. Senyawa flavonoid berperan sebagai antibiotik dengan mengganggu mikroorganisme. Senyawa alkaloid daun pepaya selain berfungsi menghambat pertumbuhan bakteri juga memiliki aktivitas terapeutik. Menurut Sudarwati (2018), selain mengandung flavonoid dan alkaloid, daun pepaya juga mengandung saponin dan tanin. Aktivitas antimikroba saponin adalah merusak struktur dinding sel bakteri dan merusak permeabilitasnya sehingga terjadi kebocoran nutrisi sel bakteri. Kebocoran nutrisi tersebut mengakibatkan pertumbuhan sel bakteri terhambat bahkan mengalami lisis. Tanin merupakan antibakteri yang mampu menginaktivkan adhesin sel mikroba dan menginaktivkan enzim, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel. Tanin juga menghalangi pembentukan dinding sel bakteri hingga menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik. Kompleksasi dari ion besi dengan tanin juga dapat menjelaskan toksisitas tanin. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian yaitu tingginya dosis larutan daun pepaya yaitu perlakuan 25 mg/mL dan 30 mg/mL toksik pada hewan uji.

4. KESIMPULAN

Gambaran jaringan insang dan kulit terbaik yang mendekati perlakuan kontrol normal adalah perlakuan 15 mg/mL. Gambaran jaringan otot terbaik yang mendekati perlakuan kontrol normal adalah perlakuan 15

mg/mL dan 20 mg/mL. Dapat disimpulkan bahwa perlakuan 15 mg/mL dosis terbaik untuk pengobatan lele yang terinfeksi *A. hydrophila*. Dosis 10mg/mL tidak direkomendasikan karena hanya bersifat bakteriostatik sedangkan dosis 25 dan 30 mg/mL tidak direkomendasikan karena bersifat toksik bagi ikan budidaya.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah-Al Mamun, M., S. Nasren, S.S. Rathore., and M.M.M Alam. 2022. Histopathological Analysis of Striped Catfish, *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage, 1878) Spontaneously Infected with *Aeromonas hydrophila*. *Jordan Journal of Biological Sciences* **15** (1): 93-100
- Angela, E., A. Kunaedi, I. Suharyani dan Andriana. 2022. Pengaruh waktu fermentasi madu dan bawang putih tunggal (*allium sativum L.*) terhadap daya hambat bakteri *Propionibacterium acnes*. *Medical Sains : Jurnal Ilmiah Kefarmasian* **7** (3): 407-418
- Anjani, A.D., D.L.N. Aulia, dan Suryanti. 2021. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Banyumas: CV Pena Persada
- Halim, A.M., F.N. Nurin, dan M.H. Edy. 2022. Pengaruh penambahan ekstrak kasar daun kemangi (*Ocimum sanctum*) terhadap histopatologi otot ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Airaha* **11** (1): 014-022
- Hermawan, D., Cacu, A.O. Anggraini, Irmanto. 2021. Optimasi metode kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) untuk analisis obat ofloxacin. *Prosiding Seminar Nasional dan Call for Papers "Pengembangan Sumber Daya Perdesaan dan Kearifan Lokal Berkelanjutan XI"* 12-14 Oktober 2021 Purwokerto ISBN 978-602-1643-67-9
- Jamin dan Erlangga. 2016. Pengaruh insektisida golongan organofosfat terhadap benih ikan nila gift (*Oreochromis niloticus, Bleeker*): analisis histologi hati dan insang. *Acta Aquatica* **3**(2): 46-53
- Joshua, B.I., B.R. Bulus, I.L. Elisha, L.S. Nyam, I. Suleiman, A.S. Abubakar, S. Audu, L.L. Emmanuel, U.A. Dominic, B.D. Jummai, L.A. Aliyu, N.S. Samuel, A.I. Waziri, A.S. Chukwuemeka and C.L. Amos 2022. Histopathology, coprology, bacteriological survey of tilapia fish in Josh Plateau State, Nigeria. *Acta Scientific Veterinary Science* **4**(6):
- Mewengkang, T.T., R.A.J. Lintang, F. Losung, D.A. Sumilat, L.J.L. Lumingas. 2022. Identifikasi Senyawa Bioaktif Dan Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daging Teripang *Holothuria* (*Halodeima*) atra Jaeger 1833 Asal Perairan Pantai Kalasey, Minahasa. *Jurnal Ilmiah PLATAX* **10** (2): 355-363
- Novalia, L., B Putri dan H.W. Maharani. 2013. Pengaruh metil metsulfuron terhadap jaringan insang insang patin siam (*Pangasius hypophthalmus*). *E-Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan* **2** (1): 175-178
- Prastowo, G. 2014. Pengaruh metode pembelajaran *part practice* terhadap hasil belajar *shooting* bola basket. *Jurnal Pendidikan Olahraga dan Kesehatan* **2** (3): 747-749
- Pratama, I., R. Talaha, M.A. Rijal, dan D. SusyLOWATI. 2022. Respon Pertumbuhan dan Daya Tahan Tubuh Benih Ikan Mas Rajadanu (*Cyprinus carpio L*) yang Diberi Probiotik terhadap Infeksi *Aeromonas hydrophila*. *Sainteks* **19** (1): 69-78
- Putri, F.A., Rahman, dan M.M. Arif. 2022. Determination of LC50 and clinical symptoms of *Aeromonas hydrophila* infection on the fingerlings of Semah (*Tor Soro*), the Indonesian native freshwater fish. *E3S Web of Conference* **348**
- Rifqiyati, N., M.J. Luthfi, dan A.N. Miftah. 2017. Gambaran Histologi Insang Ikan Mas Koki (*Carassius auratus*) yang Terinfeksi Ektoparasit *Argulus sp.* *Jurnal Bionature* **18**(1): 1-7
- Sari, R., P. Apriidamayanti, dan L. Pratiwi. 2022. Efektivitas SNEDDS kombinasi fraksi etil asetat daun cengkok (*Melastoma malabathricum*)-antibiotik terhadap bakteri hasil isolate dari pasien ulkus diabetic. *Pharmaceutical Journal of Indonesia* **7** (2): 105-114
- Santoso, M.D.Y. 2020. Pengawetan telur ayam dengan antimikroba alami. *Jurnal Peternakan Lingkungan Tropis* **3**(1): 44-49
- Saputra, H.M., N. Marusin, dan P. Santoso. 2013. Struktur Histologis Insang dan Kadar Hemoglobin Ikan Asang (*Osteochilus hasseltii* C.V) di Danau Singkarak dan Maninjau, Sumatera Barat. *Jurnal Biologi Universitas Andalas (J. Bio. UA.)* **2**(2): 138-144

-
- Sudarwati, T.P.L. 2018. Aktivitas Antibakteri Daun Pepaya (*Carica Papaya*) Menggunakan Pelarut Etanol Terhadap Bakteri *Bacillus subtilis*. *Journal of Pharmacy and Science* **3** (2): 13-16
- Sugiantari, I.A.P., A.A.S.A. Sukmaningsih K., dan I.M.S. Wijana. 2022. *Buletin anatomi dan fisiologi* **7** (1): 51-59
- SusyLOWATI, D., N.D. Takarina, Yasman, dan I. Pratama. 2022. Karakteristik Biologi dan Kandungan Antioksidan Daun Beluntas yang Hidup di Lahan Wanamina Blanakan, Subang-Jawa Barat. *Sainteks* **19** (1): 97-107
- Tanjung, S. 1982. The Toxicity of Alumunium for Organs of *Salvalinus Fontanalis Mitchill* In Acid Water. Jakarta
- Unaeze, B.C., O. M. B. Ochiabuto, E.C. Ejike, M.C. Obi, and S.N. Nwankpa. 2018. Antimicrobial activities of *Carica papaya* leaf against diarrhoea causing agents. *International Journal of Advanced Engineering Research and Science* **5** (8): 310-316
- Utami, I.A.N.S., A.A.A. Ciptojoyo dan N.N. Wiadnyana. 2017. Histopatologi insang ikan patin siam (*Pangasius hypophthalmus*) yang terinfestasi trematoda monogenean. *Media akuakultur* **12** (1): 35-43
- Wulandari, S., Y.S. Nisa, Taryono, S. Indarti, dan R.R.S. Sayekti. 2021. Sterilisasi peralatan dan media kultur jaringan. *Agrinova: Journal of Agrotechnology Innovation* **4**(2): 16-19