Berita Biologi
LIPI
Jurnal Ilmu-ilmu Hayati

10.14203/beritabiologi.v20i1.3991
P-ISSN 0126-1754
E-ISSN 2337-8751

PENGARUH BAHAN AKTIF INSEKTISIDA *CHLORPYRIFOS* TERHADAP STRUKTUR HISTOLOGIS HATI LARVA IKAN WADER PARI (*Rasbora lateristriata* Bleeker, 1854)

[*Influence of Active Ingredient Insecticide Chlorpyrifos on Liver Histological Structure of Wader Pari Fish Larvae (Rasbora lateristriata Bleeker, 1854*)]

KHOIRUDDIN ANSHORI[1*] AND BAMBANG RETNOAJI[1]✉

[1] Laboratorium Struktur dan Perkembangan Hewan, Fakultas Biologi,
Universitas Gadjah Mada Jl. Teknika Selatan,
Senolowo, Sinduadi, Mlati, Sleman Yogyakarta, Indonesia 55281.
Email: bambang.retnoaji@ugm.ac.id

ABSTRACT

The use of insecticides of the organophosphorus group is increasing along with the expansion of agricultural land. Chlorpyrifos (CPF) as one of the active ingredients can accumulate in the fish and impact human health through bioaccumulation and biomagnification mechanisms. This research aims to investigate the effects of sub-lethal exposure of CPF to yellow rasbora larvae (*Rasbora lateristriata*) using mortality parameters and histological changes in the liver. One-month-old yellow rasbora larvae were exposed to CPF with concentrations of 0.001, 0.005, and 0.01 ppm for 168 hours based on the preliminary test. The paraffin method was used in the manufacture of liver histological preparations with Haematoxylin-Eosin staining. Observations were conducted descriptively-quantitatively to determine the type and extent of damage to the liver. The actual test results showed that the LC50 value of CPF against yellow wader larvae for 168 hours was 0.078 ppm. The higher concentration used shows a decrease in the survival rate of fish larvae. Histological observations showed cell swelling, necrosis, and haemorrhagic tissue damage in CPF treatment. The increase in CPF concentration significantly affected cellular damage to hepatocyte cells, with the highest rate of damage at a concentration of 0.01 ppm.

Keywords: *Rasbora lateristriata*, histopathology, chlorpyrifos, insecticides, liver

ABSTRAK

Penggunaan insektisida golongan organofosfat semakin meningkat seiring dengan perluasan lahan pertanian. *Chlorpyrifos* (CPF) sebagai salah satu bahan aktif dapat terakumulasi dalam tubuh ikan dan berdampak pada kesehatan manusia melalui mekanisme bioakumulasi dan biomagnifikasi. Penelitian ini bertujuan untuk menyelidiki efek paparan sub-letal dari CPF terhadap larva ikan wader pari (*Rasbora lateristriata)* dengan menggunakan parameter mortalitas dan perubahan histologis pada organ hati. Larva ikan wader pari berumur satu bulan dilakukan pemaparan CPF dengan konsentrasi 0,001, 0,005, dan 0,01 ppm selama 168 jam berdasarkan uji pendahuluan. Metode parafin digunakan dalam pembuatan preparat histologis hati dengan pewarnaan *Haematoxylin-Eosin*. Pengamatan dilakukan secara deskriptif-kuantitatif untuk mengetahui jenis dan tingkat kerusakan pada organ hati. Hasil uji sebenarnya menunjukan bahwa nilai LC_{50} dari CPF terhadap larva ikan wader pari selama 168 jam adalah 0,078 ppm. Semakin tinggi konsentrasi yang digunakan menunjukan penurunan tingkat kehidupan ikan. Pengamatan histologis menunjukan adanya *cell swelling* dan nekrosis serta kerusakan jaringan hemoragi pada perlakuan CPF. Peningkatan konsentrasi CPF berpengaruh secara signifikan terhadap kerusakan seluler sel hepatosit, dengan tingkat kerusakan tertinggi terdapat pada konsentrasi 0.01 ppm.

Kata kunci: *Rasbora lateristriata*, histopatologi, klorpirifos, insektisida, hati

PENDAHULUAN

Insektisida merupakan salah satu produk hasil industri modern yang berperan dalam meningkatkan kesejahteraan hidup masyarakat dalam bidang agrikultur. Petani menggunakan insektisida sebagai agen untuk mengendalikan hama pertanian dan menjaga hasil produksi tetap stabil. Peningkatan penggunaan insektisida harus diikuti dengan kesesuaian dalam aturan penggunaan. Penggunaan pestisida yang melebihi ambang batas dapat berdampak buruk secara langsung maupun dalam jangka panjang terhadap organisme di lingkungan hingga manusia. Insektisida yang sering digunakan termasuk dalam jenis organofosfat dengan bahan aktif *chlorpyrifos* (CPF) (Yen *et al*., 2011; Deb dan Das, 2013; Topal *et al*., 2016).

Lahan pertanian menjadi tempat potensial bagi pembuangan residu insektisida. Insektisida dapat menyebar melalui udara dengan bantuan angin serta melalui limpasan permukaan (*surface runoff*) yang disebabkan oleh air hujan (Banaee, 2012; Tanvir *et al*., 2016). CPF yang masuk ke dalam saluran irigasi akan berlanjut menuju badan air hingga bagian hilir sungai. Organisme yang hidup di sepanjang badan sungai akan terdampak oleh bahan aktif tersebut.

Salah satu spesies *non* target yang dapat menjadi bioindikator pencemaran air adalah ikan wader pari (*Rasbora lateristriata* Bleeker, 1854). Ikan wader pari menjadi salah satu spesies endemik

*Kontributor Utama
*Diterima: 11 Juni 2021 - Diperbaiki: 11 Maret 2022- Disetujui:

yang banyak ditemukan di area persawahan, saluran irigasi, dan sungai (Sentosa dan Djumanto, 2010). Salah satu faktor penurunan populasi ikan ini disebabkan oleh keracunan limbah bahan kimia dari penggunaan insektisida. Larva ikan mempunyai tingkat sensitivitas yang tinggi terhadap zat toksikan serta dapat mengalami perubahan morfologis yang dapat digunakan sebagai biomarker abnormalitas (Sumon *et al*., 2016; Rahman *et al*., 2020). Menurut (Sabra *et al*., 2015), paparan insektisida pada ikan yang berlangsung cukup lama dapat mengakibatkan perubahan kimia darah, kerusakan organ, kerusakan fungsi reproduksi hingga kematian. Penghambatan *acetylcholinesterase* (ACE) pada sel saraf ikan menjadi efek utama yang ditimbulkan oleh CPF. Efek sekunder yang teramati diantaranya adalah peningkatan stress, imunotoksisitas, dan respon hipoksia (Olsvik *et al., 2019;* Yen et al., 2011).

Hati merupakan salah satu organ yang dapat digunakan sebagai indikator dalam penelitian toksisitas. Hal ini berkaitan dengan fungsi dari hati dalam melakukan metabolisme terhadap senyawa berbahaya dari luar tubuh (Begum dan Mithra, 2015). Toksikan yang masuk kedalam tubuh ikan dapat terserap dan beredar melalui pembuluh darah sehingga akan didetoksifikasi oleh hati (Camargo dan Martinez, 2007). Paparan toksikan dengan konsentrasi tinggi dan jangka waktu lama dapat menyebabkan kerusakan hati yang dapat dilihat secara seluler hingga jaringan. Penelitian yang dilakukan oleh (Muttappa *et al*., 2015), menunjukan adanya kerusakan sel nekrosis hingga degenerasi vakuola pada struktur histologis hati ikan nila (*Oreochromis mossambicus*) setelah paparan CPF.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh perlakuan insektisida CPF terhadap struktur histologis hati larva ikan wader pari dan melihat kemungkinan terjadinya kerusakan serta menilai tingkat kerusakan tersebut. Saat ini, belum banyak data penelitian mengenai efek CPF terhadap organisme non target endemik yang ada di Indonesia. Oleh karena itu, penelitian ini menjadi penting untuk mengetahui efek dari CPF terhadap struktur histologis organisme non target larva ikan wader pari sebagai representasi organisme endemik yang mempunyai habitat asli di perairan Indonesia.

BAHAN DAN CARA KERJA

Penelitian ini menggunakan bahan insektisida *chlorpyrifos* dengan konsentrasi stok 100 ppm. Hewan uji menggunakan larva ikan wader pari berumur 1 bulan dengan panjang tubuh 0,5–1 cm yang berasal dari unit pemeliharaan ikan wader pari Fakultas Biologi UGM.

Pemijahan dan pembesaran ikan

Pemijahan ikan wader dilakukan dalam kontainer berukuran 100 x 60 x 30 cm^3. Kontainer dibersihkan kemudian diisi dengan air sebanyak 180 liter. Lima ikat ijuk dimasukkan sebagai pengganti substrat. Induk ikan wader diambil dari bak pemeliharaan kemudian dilakukan seleksi untuk mengetahui ikan yang sudah matang gonad. Rasio seksual yang digunakan adalah 2:1 dengan 14 jantan dan 7 betina. Ikan dimasukkan ke dalam kontainer dan diberi aerasi. Koleksi telur dilakukan pada hari berikutnya. Telur ikan wader pari dikoleksi dengan menggunakan jaring kemudian dimasukkan kedalam akuarium berukuran 40 x 25 x 15 cm^3. Telur ikan wader ditunggu hingga menetas dan dibesarkan hingga berumur 1 bulan. Larva ikan diberi pakan pelet komersil pada pagi dan sore hari.

Pengenceran larutan stok *Chlorpyrifos*

Larutan stok *chlorpyrifos* berasal dari produk yang mempunyai konsentrasi 100 ppm. Larutan stok dilakukan pengenceran dengan air menggunakan rumus $M_1.V_1 = M_2.V_2$ untuk mendapatkan konsentrasi paparan 0,005, 0,001, dan 0,01 ppm. Masing-masing konsentrasi paparan dibuat dalam satu liter.

Uji tingkat ketahanan hidup

Konsentrasi 0,001, 0,005, dan 0,01 ppm masing-masing dimasukkan ke dalam empat gelas plastik sebanyak 250 ml. Ulangan dilakukan sebanyak tiga kali. Larva berumur 1 bulan diseleksi kemudian 5 ekor larva dimasukkan kedalam masing -masing gelas. Larva dilakukan pemaparan selama 7 hari (168 jam). Larva diberikan pakan pelet ikan pada pagi dan sore hari, pembersihan kotoran, dan penggantian air dengan konsentrasi perlakuan yang sama setiap hari untuk menjaga kualitas air tetap stabil. Perhitungan ketahanan hidup dilakukan setiap hari. Setelah proses paparan selama 7 hari, ikan diterminasi untuk dilakukan pembuatan preparat histologi.

Pembuatan sediaan histologis

Larva ikan difiksasi dengan menggunakan *Neutral Buffered Formaline* 10% kemudian dilanjutkan dengan metode parafin berdasarkan protokol Bancroft *and* Cook (Bancroft dan Cook, 1988) dengan modifikasi penambahan proses dekalsifikasi. Sebelum proses dehidrasi dilakukan dekalsifikasi menggunakan asam nitrat 3% dalam alkohol 70% selama 8 jam. Selanjutnya dilakukan dehidrasi dengan alkohol bertingkat dan penjernihan dengan *toluol*. Sampel dilakukan

infiltrasi dengan parafin dan ditanam menjadi blok parafin. Blok parafin dilakukan pemotongan secara transversal. Sampel yang sudah dipotong kemudian dilakukan pewarnaan menggunakan *Hematoxylin-Eosin* (HE) dan diberi entelan untuk menutup preparat.

Pengamatan dan skoring kerusakan sel hepatosit

Pengamatan kerusakan sel hepatosit dilakukan dengan mengambil gambar pada masing-masing preparat dengan mikroskop perbesaran 400x dan 1000x. Jenis kerusakan sel hepatosit dilakukan identifikasi berdasarkan karakteristik kerusakan sel. Skoring kerusakan sel dilakukan dengan menggunakan metode *ordinal* (0–4). Metode skoring yang digunakan mengacu pada (Gibson-Corley *et al*., 2013) dengan modifikasi berdasarkan jenis kerusakan pada uji pendahuluan. Penelitian ini menggunakan lima ekor ikan sebagai ulangan biologis dan 15 bidang pandang diambil dari preparat masing-masing ikan.

Skoring pendahuluan dilakukan untuk mengamati jenis kerusakan secara umum yang terdapat pada sampel. Parameter kerusakan sel hepatosit ditentukan sebagai standarisasi skoring dengan mencari referensi jenis-jenis kerusakan yang umum terjadi pada organ hati dan dimodifikasi berdasarkan hasil skoring pendahuluan (Anshori, 2021). Parameter kerusakan yang digunakan adalah pembengkakan sel, perlemakan, dan nekrosis. Selanjutnya label pada masing-masing sampel ditutup untuk mengurangi bias saat perhitungan kerusakan sel. Selanjutnya, kerusakan sel dihitung dengan menggunakan ImageJ (*https://imagej.nih.gov/ij/download.html*) sub program *Cell counter* (https://imagej.nih.gov/ij/plugins/cell-counter.html) dan dimasukan dalam tabulasi data. Parameter kerusakan sel yang digunakan dalam skoring histopatologi hati adalah sebagai berikut:

Tabel 1. Parameter skoring kerusakan hati (*Liver damage scoring parameters*) (Anshori, 2021)

No.	Kerusakan seluler (cellular damage)	Skor (score)	Keterangan (description)
1	Tidak ada kerusakan seluler	0	Tidak ada kerusakan (*No injury)*
2	Kerusakan *reversible* dan nekrosis rendah (< 15%)	1	Ringan (*Mild)*
3	Kerusakan *reversibel* dan nekrosis sedang (15%-40%)	2	Sedang *(Moderate)*
4	Kerusakan *reversibel* dan nekrosis berat (41%-70%)	3	Parah (*Severe)*
5	Kerusakan *reversibel* dan nekrosis sangat berat (71%-100%)	4	Sangat parah (*Very severe*)

Analisis data

Analisis data yang dilakukan dalam uji ketahanan hidup yaitu dengan mengumpulkan data rerata jumlah ikan hidup. Analisis regresi digunakan untuk menentukan LC_{50} dengan menarik garis lurus dari persentase 50% dari sumbu Y ke kanan menuju sumbuh X. Histopatologi hati dianalisis secara deskriptif-kuantitatif. Hasil skoring dianalisis menggunakan uji normalitas (*Kolmogorov-Smirnov*) dan penentuan perbandingan antar sampel dengan uji *T-test*.

HASIL

Uji tingkat ketahanan hidup

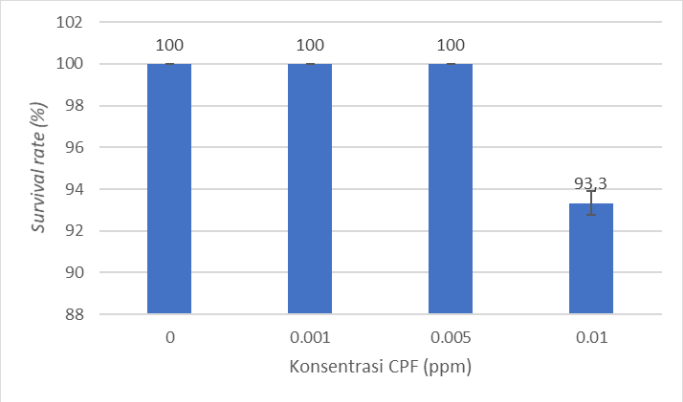
Tingkat keberhasilan hidup larva ikan pada perlakuan kontrol (0 ppm), 0,001, dan 0,005 ppm adalah 100%. Sementara larva ikan pada perlakuan 0.01 ppm mempunyai tingkat kehidupan 93,3% (gambar 1). LC_{50} dihitung dengan membandingkan antara tingkat keberhasilan hidup larva ikan dengan masing-masing konsentrasi pada waktu paparan terakhir (186 jam). Berdasarkan hasil uji regresi linear terhadap perbandingan tingkat keberhasilan hidup dengan konsentrasi menunjukan LC_{50} *chlorpyrifos* pada 168 jam terhadap larva ikan wader pari adalah 0,078 ppm.

Pengamatan perbesaran lemah pada hati larva ikan wader pari

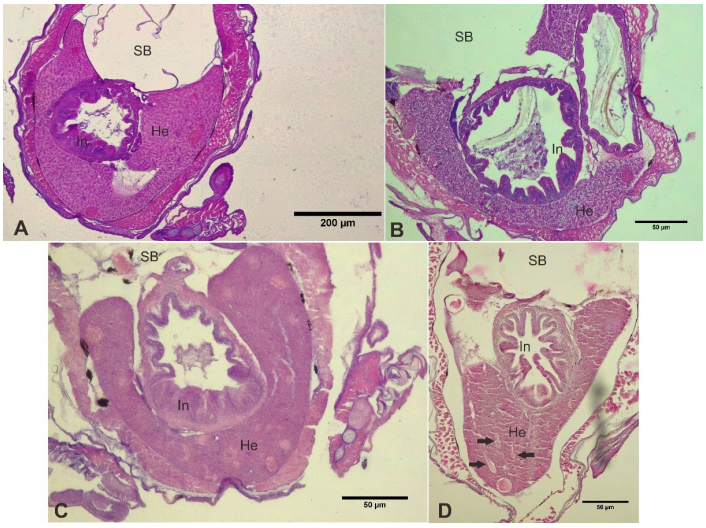
Pengamatan struktur histologis hati pada perbesaran lemah (gambar 2) menunjukan organ hati menyelubungi intestinum yang terletak di bagian ventral dari gelembung renang. Masing-masing organ hati mempunyai pembuluh darah dengan bentuk dan ukuran yang beragam. Pengamatan hati secara umum menunjukan struktur yang normal pada kelompok kontrol serta pada konsentrasi paparan 0,001 dan 0,005 ppm. Sementara itu, pada konsentrasi 0,01 ppm terlihat adanya lesi pada parenkim hati (anak panah) yang dapat menunjukan adanya abnormalitas pada organ hati.

Pengamatan perbesaran kuat pada hati larva ikan wader pari

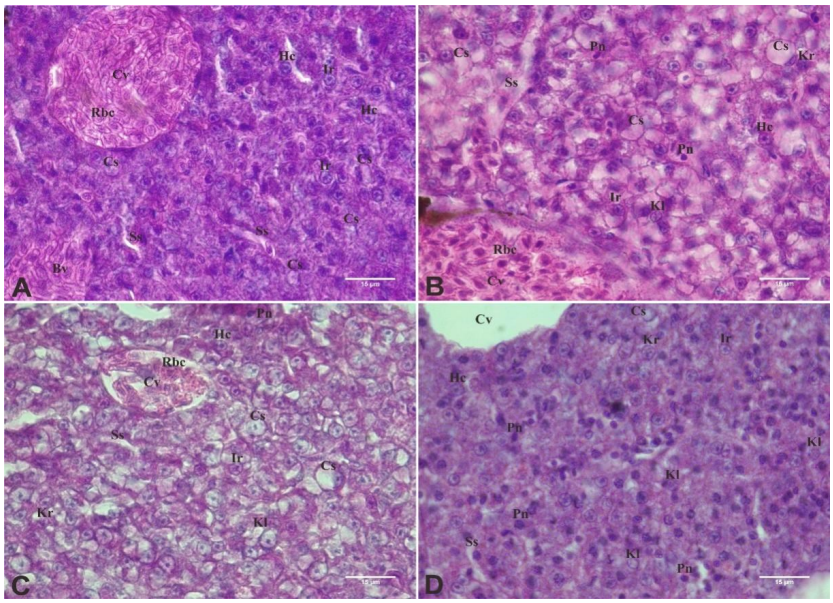
Struktur histologis hati pada kelompok kontrol (Gambar 3) secara umum menunjukan arsitektur yang normal, namun juga ditemukan jenis kerusakan yang dapat kembali normal seperti pembengkakan sel, perubahan bentuk sel, dan apoptosis. Sementara itu, pembengkakan sel dan nekrosis ditemukan pada struktur histologis hati pada kelompok perlakuan CPF (Gambar 3). Jenis kerusakan jaringan *haemorrhage* juga ditemukan pada kelompok perlakuan CPF (Gambar 4). Perlakuan insektisida CPF dengan konsentrasi 0,001; 0,005; dan 0,01 ppm mempunyai pola kerusakan seluler yang sama namun dengan tingkat kerusakan yang berbeda (Tabel 2).



Gambar 1. Persentase ketahanan hidup larva ikan berumur 1 bulan setelah paparan CPF selama 168 jam (*Percentage survival rate of fish larvae aged 1 month after exposure to CPF for 168 hours*).



Gambar 2. Struktur histologis hati larva ikan wader pari kelompok kontrol (A) dan kelompok perlakuan insektisida CPF dengan konsentrasi 0,001 ppm (B); 0,005 ppm (C); dan 0,01 ppm (D). Skala garis A: 200 µm, B-D: 50 µm. Keterangan singkatan: He: Hati, In: *Intestinum*, SB: *Swim Bladder* (*Histological structure of the liver of yellow rasbora in the control group (A) and the CPF insecticide treatment group with a concentration of 0.001 ppm (B); 0.005 ppm (C); and 0.01 ppm (D). Line scale A: 200 m, B-D: 50 µm. Abbreviation: He:* Hati, *In: Intestinum, SB: Swim Bladder*).

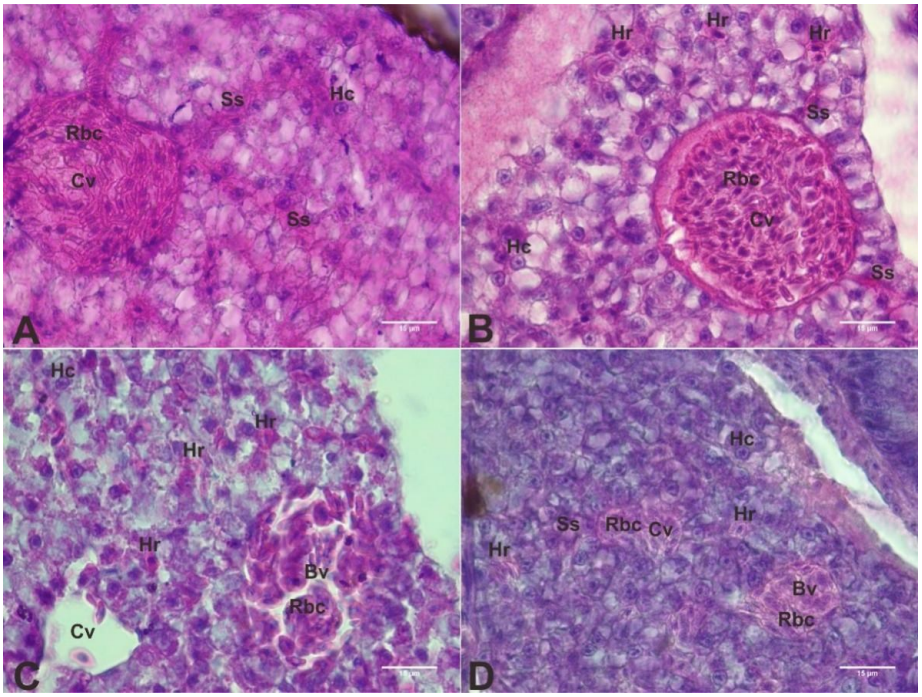


Gambar 3. Struktur histologis hati larva ikan wader pari kelompok kontrol (A) dan kelompok perlakuan insektisida CPF dengan konsentrasi 0,001 ppm (B); 0,005 ppm (C); dan 0,01 ppm (D). Skala garis A-D: 15 µm. Keterangan singkatan: Cv: *Central vena,* Rbc: *Red blood cell*, Hc: *hepatocyte*, Ir: *Irregular shape of hepatocyte*, Pn: piknosis, Kr: *Karyorrhexis,* Kl: *Karyolisis* (*Histological structure of the liver of yellow rasbora in the control group (A) and the CPF insecticide treatment group with a concentration of 0.001 ppm (B); 0.005 ppm (C); and 0.01 ppm (D). A-D line scale: 15 µm. Abbreviation: Cv: Central vein, Rbc: Red blood cell, Hc: hepatocyte, Ir: Irregular shape of hepatocyte, Pn: pyknosis, Kr: Karyorrhexis, Kl: Karyolysis*).

Tabel 2. Skoring kerusakan seluler hati larva ikan wader pari dengan perlakuan insektisida CPF dalam waktu pemaparan 168 jam (*Score of liver cellular damage of yeloow rasbora with CPF insecticide treatment within 168 hours of exposure*).

Perlakuan（treatment)	**Skor Kerusakan（damage score)**
	Mean±SD
Kontrol	1,84 ± 0,37[a]
0,001 ppm	2,09 ± 0,29[b]
0,005 ppm	2,62 ± 0,53[c]
0,01 ppm	2,91 ± 0,47[d]

Keterangan: Angka dalam kolom dengan huruf yang berbeda menunjukan perbedaan yang signifikan pada P<0,05 menggunakan uji T *test*.



Gambar 4. Struktur histologis hati larva ikan wader pari kelompok kontrol (A) dan kelompok perlakuan insektisida CPF dengan konsentrasi 0,001 ppm (B); 0,005 ppm (C); dan 0,01 ppm (D). Skala garis A-D: 15 µm. Keterangan singkatan: Cv: *Central vena,* Rbc: *Red blood cell*, Ss: Sinusoid, Hc: *hepatocyte*, Hr: *Haemorrhage* (*Histological structure of the liver of yellow rasbora in the control group (A) and the CPF insecticide treatment group with a concentration of 0.001 ppm (B); 0.005 ppm (C); and 0.01 ppm (D). A-D line scale: 15 µm. Abbreviation: Cv: Central vein, Rbc: Red blood cell, Ss: Sinusoid, Hc: hepatocyte, Hr: Haemorrhage*).

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil uji regresi linear pada uji ketahanan hidup menunjukan LC_{50} pada 168 jam adalah 0,078 ppm. Hal ini menunjukan bahwa konsentrasi 0,078 ppm dapat mengakibatkan kematian dari 50% populasi sampel ikan selama 168 jam waktu pemaparan CPF. Hal ini menjadi dasar penguat penggunaan konsentrasi perlakuan 0,001, 0,005, dan 0,01 ppm masih berada pada konsentrasi sub letal.

CPF dikenal sebagai neurotoksin yang dapat menyebabkan gangguan neurologi perilaku seperti respon sensorimotor, respon stress, hingga penurunan aktivitas otak secara signifikan (Sledge *et al.,* 2011). CPF dapat menghambat fungsi dari Asetilkolinesterase (AChE). Gejala yang dapat diamati pada paparan tingkat tinggi dari insektisida organofosfat (Ops) adalah kram otot yang mengakibatkan kebengkokan pada tubuh ikan, peningkatan aktivitas, kelumpuhan, kehilangan keseimbangan dan berakhir pada kematian. Sementara paparan tingkat rendah dalam jangka waktu yang lama dapat menyebabkan perubahan tingkah laku dan gangguan fisiologis (Deb dan Das, 2013). AChE mempunyai fungsi dalam menghidrolisis asetilkolin (ACh) menjadi kolin dan asam asetat. Insektisida organofosfat dapat melepas gugus fosfatnya sehingga terjadi reaksi fosforilasi. Fosfat akan berikatan secara kovalen dengan AChE sehingga dapat menghambat fungsi dari enzim tersebut. ACh yang tidak dapat terhidrolisis, akan terakumulasi pada celah sinapsis sehingga akan mengganggu proses penghantaran impuls.

Pengamatan struktur histologis hati pada kelompok kontrol secara umum menunjukan arsitektur yang normal dengan sel hepatosit berbentuk heksagonal, mempunyai sitoplasma homogen, dan mempunyai satu nukleus berbentuk bulat. Hasil ini sesuai dengan hasil penelitian dari (Agamy, 2012). Struktur *vena sentralis* tersebar secara acak di dalam jaringan hati serta mempunyai variasi dalam bentuk dan ukuran. *Vena sentralis* mempunyai *lumen* yang terdapat sel darah merah berbentuk bikonkaf dengan mempunyai nukleus (Gambar 3). Struktur saluran empedu juga ditemukan dalam pengamatan dimana mempunyai tipe epitel kolumner, jaringan ikat, dan otot polos yang menyusun bagian dinding (Agamy, 2012). Kelompok kontrol ditemukan beberapa jenis

kerusakan seperti pembengkakan sel, perubahan bentuk sel (*irregulary shape of cell)*, hingga apoptosis. Namun, hal ini wajar terjadi pada organ hati. Kondisi hati secara normal juga akan mengalami kerusakan seiring dengan berjalannya waktu dan fungsinya dalam melakukan filtrasi dalam tubuh (Anshori, 2021). Pembengkakan dan perubahan bentuk pada sel merupakan kerusakan sel yang dapat kembali ke dalam keadaan normal. Sementara apoptosis masuk ke dalam *program cell death* dimana merupakan mekanisme sel dalam mengganti sel-sel yang sudah rusak dengan sel-sel baru yang fungsional. Kedua kerusakan tersebut kemungkinan dapat disebabkan oleh media pemeliharaan yang terkontaminasi oleh organisme biologis seperti bakteri (Anshori, 2021).

Jenis kerusakan yang didapatkan pada struktur histologis hati pada kelompok perlakuan CPF dapat dibagi menjadi dua, yaitu kerusakan seluler dan kerusakan jaringan. Kerusakan sel yang ditemukan adalah pembengkakan sel. Pembengkakan sel biasa juga dikenal dengan nama *hydropic change* atau *vacuolar degeneration* yang merupakan kerusakan sel yang dapat kembali ke dalam kondisi normal ketika tekanan patologis dihilangkan. Pembengkakan sel merupakan keadaan sel yang mengakumulasi air yang disebabkan oleh hilangnya kemampuan sel untuk mengatur masuknya ion sodium (Na^+) dan air serta keluarnya ion potasium (K^+) menuju sitosol. Membran sel tidak dapat mempertahankan homeostasis sehingga secara pasif ion sodium (Na^+) dan air akan masuk ke dalam sel. Kondisi patologis ini dapat diakibatkan oleh molekul CPF yang mengganggu fungsi sistem pompa ion sehingga menyebabkan ketidakmampuan sel dalam mempertahankan homeostasis ionik dan cairan (Kumar *et al.*, 2007). Pengamatan mikroskopis pembengkakan sel menunjukan pembengkakan atau peningkatan ukuran sel yang terkadang disertai dengan perpindahan organela sel seperti nukleus (Solter dan Beasley, 2013). Pewarnaan *H*dan*E* menunjukan warna sel dengan sitoplasma pucat serta bentuk dan batas sel yang tidak jelas (Gambar 3).

Kerusakan sel yang tidak dapat kembali kedalam keadaan normal yang didapatkan dalam pengamatan struktur histologis hati larva ikan wader pari adalah nekrosis. Nekrosis merupakan kondisi kematian sel yang disebabkan oleh tekanan patologis dari luar. Parameter ini sangat penting dalam studi histopatologi karena merupakan kondisi yang menunjukan pengaruh dari toksikan secara langsung. Kerusakan ini bersifat permanen atau tidak dapat kembali ke dalam kondisi normal ketika tekanan patologis dihilangkan. Nekrosis yang terjadi secara meluas dapat mengakibatkan organ kehilangan fungsi secara bertahap hingga keseluruhan (Agamy, 2012). Sel yang mengalami nekrosis tidak dapat mempertahankan integritas membrannya sehingga membran dapat pecah dan mengakibatkan konten seluler keluar (Kumar *et al.*, 2007). Enzim dapat keluar dari lisosom dan mencerna sel, sedangkan komponen seluler yang keluar dari sel dapat memicu terjadinya respon inflamasi. Sel yang mengalami nekrosis menunjukan beberapa ciri-ciri seperti peningkatan warna menjadi eosinofilik dan perubahan pada struktur nukleus. Penciri histologis yang dapat digunakan sebagai penanda nekrosis adalah kerusakan DNA dan kromatin pada nukleus yang meliputi 3 tahap. Tahapan pertama ditunjukan dengan penyusutan nukleus sehingga menjadikan warna lebih basofilik (piknosis), kemudian diikuti dengan fragmentasi pada nukleus (*karyorrhexis*), dan berakhir dengan *karyolisis* yang ditandai dengan hilang atau memudarnya inti sel (warna basofil memudar) (Gambar 3).

Hasil skoring menunjukan data yang terdistribusi normal dalam pengujian normalitas *Kolmogorov smirnov* sehingga dilanjutkan dengan uji *T-test* untuk membandingkan antara kontrol dengan perlakuan serta antar perlakuan konsentrasi yang berbeda. Hasil uji *T-test* menunjukan adanya beda nyata antara kontrol dengan masing-masing perlakuan serta antar perlakuan konsentrasi yang berbeda. Hal ini menunjukan bahwa pemaparan CPF dengan konsentrasi minimum 0,001 ppm dapat mengakibatkan perubahan struktur histologis secara signifikan pada hati larva ikan wader pari. Penambahan konsentrasi menjadi 0,005 ppm serta 0,01 ppm juga mengakibatkan peningkatan kerusakan secara signifikan pada struktur seluler hati pada 168 jam waktu pemaparan (Tabel 2).

Kerusakan jaringan hemoragi tidak terlihat pada struktur histologis hati kelompok kontrol, sedangkan pada perlakuan CPF dengan konsentrasi 0.001, 0.005, dan 0.01 ppm menunjukan adanya hemoragi yang ditandai dengan adanya sel darah merah diluar pembuluh darah hati (Gambar 4). Hemoragi pada jaringan hati ikan ditandai dengan ditemukannya sel darah merah berbentuk bikonkaf bernukleus serta terlihat lebih eosinofilik dibandingkan dengan sel hepatosit. Hemoragi dapat disebabkan oleh kerusakan dinding pembuluh darah sehingga mengakibatkan sel darah dapat keluar. Hemoragi juga dapat disebabkan oleh kongesti krosnik sehingga darah mengalami penyumbatan pada suatu lokasi tertentu (Kumar *et*

al., 2007). Kerusakan hemoragi juga ditemukan pada pemaparan insektisida organofosfat (*malathion*) terhadap ikan *Heteropneustes fossilis* dengan konsentrasi 1,07 ppm (Begum dan Mithra, 2015).

KESIMPULAN

Perlakuan insektisida *chlorpyrifos* menyebabkan terjadinya abnormalitas pada struktur histologis hati larva ikan wader pari pada konsentrasi 0,001, 0,005, dan 0,01 ppm. Jenis kerusakan yang ditemukan pada struktur histologis hati yang terekspos CPF meliputi pembengkakan sel, nekrosis, dan kerusakan jaringan hemoragi. Tingkat kerusakan organ hati paling tinggi terdapat pada konsentrasi 0,01 ppm dengan waktu pemaparan selama 168 jam.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada rekan peneliti yang bernaung dalam Tim Riset Gama Wader dan Aquatic Research Group Fakultas Biologi UGM yang telah membantu dan memberikan saran masukan dalam pelaksanaan penelitian ini hingga selesai.

DAFTAR PUSTAKA

Agamy, E., 2012. Histopathological liver alterations in juvenile rabbit fish (*Siganus canaliculatus*) exposed to light Arabian crude oil, dispersed oil and dispersant. *Ecotoxicology and Environmental Safety, 75* (1), pp.171–179.

Anshori, K., 2021. Pengaruh bahan aktif insektisida *chlorpyrifos* terhadap struktur histologis hati ikan wader pari (*Rasbora lateristriata,* Bleeker, 1854). Skripsi. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.

Banaee, M., 2012. Adverse effect of insecticides on various aspects of fish's biology and physiology. *Insecticides - Basic and Other Applications*, pp.101–126.

Begum, B.H., Mithra, D., 2015. Effects of an organophosphate pesticide, malathion (50 % e.c) on the liver of air breathing fish, *Heteropneustes fossilis*. *International Research Journal of Environment Science, 4*(9), pp.21–24.

Camargo, M.M. and Matinez, C.B., 2007. Histopathology of gills, kidney, and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. *Neotropical. Ichthyology,* 5, pp. 327–336.

Deb, N., Das, S., 2013. Chlorpyrifos toxicity in fish: A Review. *Current World Environment Journal*, *8*(1), pp.77–78.

Solter, P.F. and Beasley, V.R., 2013. *Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic Pathology*. *3*rd ed. Academic Press. Amsterdam. pp.1155.

Gibson-Corley, K.N., Olivier, A.K. and Meyerholz, D.K., 2013. Principles for valid histopathologic scoring in research. *Veterinary Pathology, 50*(6), pp.1007–1015.

Muttappa, K, Reddy, H.R.V., Padmanabha, A., Shridhar, B., Prabhudeva, K.N., Basavaraju, Y., Gangadhar, G., Rajanna, K.B. and Chethan, N., 2015. Chlorpyrifos induced histopathological changes in the liver of tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *International Journal of Recent Scientific Research*, *6*(8), pp.5819–5823.

Olsvik, P.A., Larsen, A.K., Berntssen, M.H.G., Goksøyr, A., Karlsen, O.A., Yadetie, F., Sanden, M. and Kristensen, T., 2019. Effects of agricultural pesticides in aquafeeds on wild fish feeding on leftover pellets near fish farms. *Frontiers in Genetics* 10, pp.1–18.

Kumar, V., Abbas, A.K. and Aster, C., 2007. *Robbin Cotran Kumar.* 8th ed. Philadelphia: Elsevier. pp.1–10.

Rahman, M.S., Islam, S.M.M., Haque, A. and Shahjahan, M., 2020. Tpxicity of the Organophosphate Insecticides Sumithion to Embryo and Larvae of evrafish. *Toxicology Report*, *07* .pp. 317–323.

Sabra, F., El-Deeb Mehana, E.-S. and Soliman, S.F., 2015. Pesticides Toxicity in Fish with Particular Reference to Insecticides. *Asian Journal of Agriculture and Food Sciences, 03* (01), pp.2321–1571.

Sentosa, A.A. and Djumanto., 2010. Habitat pemijahan ikan wader pari (*Rasbora lateristriata*) di Sungai Ngrancah, Kabupaten Kulonprogo. *Jurnal Iktiologi Indonesia*, *10* (1), pp.55–63.

Sledge, D., Yen, J., Morton, T., Dishaw, L., Petro, A., Donerly, S., Linney, E. and Levin, E.D., 2011. Critical duration of exposure for developmental chlorpyrifos-induced neurobehavioral toxicity. *Neurotoxicology and Teratology*, *33*(6), pp.742–751.

Sumon, K.A., Saha, S., Brink, P.J., Peeters, E.T.H.M., Bosma, R.H. and Rashid, H., 2016. Acute toxicity of chlorpyrifosto embryo and larvae of banded gourami *Trichogaster fasciata*. *Journal Environmental Science and Health*, 52(2), pp. 92–98.

Tanvir, E.M., Afroz, R., Chowdhury, M.A.Z., Gan, S.H., Karim, N., Islam, M.N. and Khalil, M.I., 2016. A model of chlorpyrifos distribution and its biochemical effects on the liver and kidneys of rats. *Human and Experimental Toxicology*, *35*(9), pp.991–1004.

Topal, A., Şişecioɨlu, M., Atamanalp, M., Işik, A.

and Yilmaz, B., 2016. The in vitro and in vivo effects of chlorpyrifos on acetylcholinesterase activity of rainbow trout brain. *Journal of Applied Animal Research*, *44*(1), pp.243–247.

Yen, J., Donerly, S., Levin, E.D. and Linney, E.A., 2011. Differential acetylcholinesterase inhibition of chlorpyrifos, diazinon and parathion in larval zebrafish. *Neurotoxicology and Teratology*, *33*(6), pp.735–741.