

Identifikasi Tipe Sel Hemosit Larva Serangga *Trigona* Sp (*Hymenoptera* : *Apidae*) dan Fungsinya Terhadap Pertahanan Tubuh

Maria Marselina Bay^{a,b*}, Tjandra Anggraeni^b

^a Fakultas Ilmu Pendidikan, Universitas Timor, Kefamenanu, TTU – NTT, 85613, Indonesia, email : marselinabay@gmail.com

^b Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung, Jawa Barat 40123 Indonesia.

Article Info

Keywords:

Identifikasi, Hemosit, *Trigona* sp, Pertahanan Tubuh

Abstrak

Tipe hemosit serangga telah banyak digambarkan, namun pengklasifikasian secara komperhensif masih sulit untuk dilakukan karena setiap individu serangga memiliki bentuk yang sangat berbeda pada berbagai kondisi. Secara umum tipe hemosit serangga dikelompokkan ke dalam enam jenis utama. Sel-sel itu adalah: prohemosit, plasmatisit, granulosit (yang mungkin sama seperti sistosit atau koagulosit), sel-sel spherule (spherulosit), oenositoid dan adipohemosit. Berdasarkan hal tersebut maka tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk mengetahui tipe sel hemosit larva serangga *Trigona* sp yang telah dilaporkan berperan sebagai vektor penyebab penyakit darah pada tanaman pisang. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Uji Hayati Serangga, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung. Hemolimf diambil dari pembuluh darah pada bagian punggung menggunakan jarum yang halus (Haemotokrit-Kapillaren). Kemudian sampel hemolimf ditetaskan pada kaca objek yang telah diberi larutan turk. Untuk penghitungan total hemosit (*Total Hemocytes Count* (THC)) dihitung menggunakan mikroskop cahaya (pembesaran 40 X). Hasil identifikasi menunjukkan bahwa larva *Trigona* sp memiliki 5 jenis hemosit, yaitu : Plasmatisit, Prohemosit, Oenositoid, Sel sperul dan Granulosit. Berdasarkan penelitian dapat disimpulkan bahwa terdapat lima jenis tipe hemosit larva serangga *Trigona* sp, yaitu : plasmatisit, prohemosit, oenositoid, sel sperul dan granulosit.

1. Pendahuluan

Banyak jenis hemosit telah digambarkan, tetapi klasifikasi komprehensif sulit karena sel-sel individu dapat memiliki bentuk yang sangat berbeda pada berbagai kondisi dan berbagai teknik telah digunakan untuk mempelajari hal ini. Chapman, 1998 berusaha menyamakan tipe sel-sel ini dan dikelompokkan ke dalam enam jenis utama. Sel-sel itu adalah: prohemosit, plasmatisit, granulosit (yang mungkin sama seperti sistosit atau koagulosit), sel-sel spherule (spherulosit), oenositoid dan adipohemosit.

Darah atau hemolimf beredar mengelilingi seluruh tubuh serangga dan memenuhi seluruh jaringan secara penuh. Hemolimf sendiri terdiri dari cairan plasma, dimana sel-sel darah tersuspensi. Disebut plasma karena fungsinya mempertahankan jaringan pada seluruh tubuh serangga dan mengandung banyak bahan kimia. Pada kebanyakan serangga, hemolimf terdiri dari 20-25 % air tubuh pada serangga dewasa, tapi pada larva hemolimf terdiri dari hampir 50%.

Volume hemolimf juga dipengaruhi oleh faktor-faktor lain. Dalam *Locusta*, volume hemolimf berkurang setelah makan, disebabkan karena air yang bergerak ke dalam usus. Perubahan volume hemolimf juga merupakan hasil dari pengeringan karena kondisi lingkungan yang ekstrim. Fungsi penting dari hemolimf adalah sebagai cadangan air untuk mempertahankan tingkat air di jaringan. Sejumlah air pada jaringan diambil dari darah, sisanya berasal dari metabolisme lemak (Nicolson, 1980).

Respon pertahanan tubuh serangga sendiri terdiri dari respon selular dan respon humoral. Respon selular meliputi fagositosis, enkapsulasi, pembentukan nodul/kapsul dan koagulasi sedangkan respon humoral meliputi sintesis peptide antimikroba, enzim prophenoloksidase dan sintesis protein lektin. Kedua bentuk respon pertahanan ini akan diaktifkan ketika ada benda asing yang masuk ke dalam tubuh.

Serangga *Trigona* sp merupakan serangga yang hidup berkelompok dan membentuk koloni. Jenis lebah ini termasuk dalam golongan *stingless bee* karena lebah ini menggigit namun tidak memiliki sengat. Lebah ini mudah dijumpai di daerah tropis dan subtropis di daerah Amerika Selatan, Afrika Selatan dan Asia Tenggara (Sihombing, 2005). Lebah ini telah dilaporkan berperan sebagai vektor penyebar penyakit darah (*blood disease*) pada tanaman pisang di beberapa daerah diantaranya di daerah dataran tinggi Tabek Panjang, Kecamatan Baso, Kabupaten Agam, Propinsi Sumatera Barat (Mairawita dkk, 2012), di daerah Lampung (Leiwakabessy, 1999).

Sebagai serangga vektor penyebar penyakit darah, serangga ini berinteraksi dengan bakteri penyebab penyakit darah yaitu *Blood Disease Bacterium* (BDB). Interaksi ini akan berpengaruh terhadap mekanisme pertahanan tubuh serangga tersebut, sehingga sangat diperlukan untuk mengetahui tipe-tipe sel hemosit yang berperan dalam sistem pertahanan selular maupun humoral serangga *Trigona* sp.

2. Metode

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Uji Hayati Serangga, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung, pada bulan Januari 2016 - Agustus 2016.

2.2 Bahan

Penelitian ini menggunakan serangga *Trigona* sp. (*Apidae*) yang diperoleh dari Peternakan *Trigona* Kampung Cibeusi, Ciater Subang, Jawa Barat. Serangga kemudian dibiarkan dalam koloninya dan diberikan pakan cairan berupa larutan sukrosa 10 % (Neyen, 2014).

2.3 Prosedur Penelitian

Hemolimf diambil dari pembuluh darah pada bagian punggung menggunakan jarum yang halus (Haemotokrit-Kapillaren). Kemudian sampel hemolimf ditetaskan pada kaca objek yang telah diberi larutan turk. Larutan

turk terdiri dari gentian violet dan asam asetat glasial. Untuk penghitungan total hemosit (*Total Hemocytes Count* (THC)) dihitung menggunakan mikroskop cahaya (pembesaran 40 X) (Hwang, 2015). Untuk tiap sampel, jumlah larva yang cukup untuk menghasilkan 1 μ L aliquot dari hemolimf bervariasi antara 4-10 larva (Nelson, 2002).

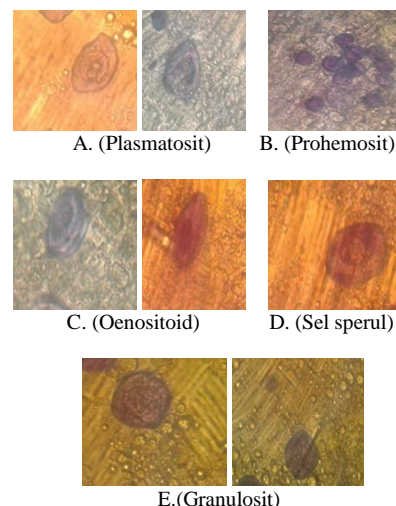
2.4. Analisis data

Jumlah konsentrasi total hemosit dihitung menggunakan hemositometer dibawah mikroskop. Hemosit yang teramat ditentukan tipe dan presentasinya. Pengulangan dilakukan sebanyak 3 kali.

3. Hasil

Berdasarkan hasil identifikasi diperoleh bahwa larva *Trigona* sp memiliki 5 jenis hemosit, yaitu : Plasmatisit, Prohemosit, Oenositoid, Sel sperul dan Granulosit terlihat pada gambar 1. Kelima sel yang ditemukan ini memiliki karakteristik yang sesuai dengan Anggraeni (Anggraeni, 2011).

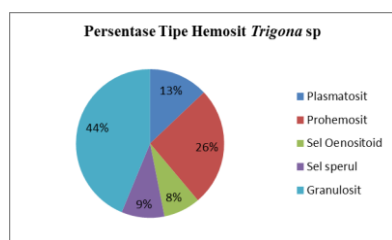
Plasmatisit merupakan tipe sel yang penting dalam reaksi pertahanan selular serangga, sangat aktif dalam fagositosis, pembentukan kapsul dan pembentukan nodul, serta dapat mengandung zat antimikrobal. Sel ini mempunyai bentuk yang sangat berubah-ubah (bulat, lonjong, memanjang, dan sebagainya) dan biasanya mempunyai inti ditengah yang besar yang ditunjukkan pada gambar 1.A. Prohemosit kemungkinan merupakan stem sel untuk tipe hemosit yang lain (Brehelin dan Zachary, 1986). Sel ini berukuran kecil, bulat sampai lonjong, memiliki perbandingan inti-sitoplasma yang besar dan mengandung banyak ribosom bebas (gambar 1.B).



Gambar 1. Tipe Hemosit *Trigona* sp

Sel oenositoid memiliki sitoplasma yang mengandung aktifitas phenoloksidase yang dapat dideteksi setelah inkubasi dengan tyrosine, DOPA, Dopamine (Anggraeni, 2011). Sel ini berukuran besar, inti dapat ditengah tetapi seringkali eksentrik dan dapat mengandung kristal (gambar 1.C). Sel sperul memiliki karakteristik : sangat stabil dalam keadaan in vitro. Secara umum bentuk sel ini berbentuk ovoid, ada yang berbentuk butiran yang bulat atau lonjong (gambar 1.D). Fungsi dan hubungan sperul sel dengan tipe sel yang lain tidak diketahui. Sel granulosit kebanyakan berbentuk bulat sampai lonjong dan mempunyai granul bulat yang kecil (gambar 1.E).

Sel granulosit sangat tidak stabil, dapat membentuk pseudopodia seperti duri, tetapi kemudian akan segera berdegranulasi. Proses degranulasi ini merupakan pusat dari banyak mekanisme imunologi, seperti aktivasi PPO, pembentukan plasma gel dan kemudian pelapisan dan pengenalan partikel asing sebelum terjadi fagositosis dan pembentukan kapsul.



Gambar 2. Persentase tipe hemosit *Trigona* sp

Gambar 2 menunjukkan presentase jumlah sel hemosit larva serangga *Trigona* sp. Berdasarkan gambar 2 terlihat bahwa sel granulosit larva *Trigona* sp memiliki jumlah tertinggi dibandingkan dengan jumlah sel hemosit lainnya yaitu sebesar 44 %. Granulosit memegang peranan penting dalam respon pertahanan yaitu sebagai pengenalan awal terhadap masuknya patogen ke dalam tubuh serangga (Anggraeni, 2011) dan seperti yang dinyatakan oleh Chapman bahwa sel ini akan melepaskan isinya (degranulate) pada permukaan sehingga mengganggu organisme sebagai bagian awal dari respon pertahanan (Chapman, 1995). *Trigona* sp memiliki jumlah sel prohemosit sebesar 26 %. Sel ini merupakan sel yang aktif bermitosis dan melakukan diferensiasi menjadi bentuk sel hemosit lainnya seperti yang dinyatakan oleh Qamar dan Jamal (2009) dalam Maulina (2013) bahwa prohemosit meningkat jumlahnya saat diinduksi oleh benda asing, sel akan melakukan aktifitas mitosis yang tinggi. Sel plasmatosit memiliki jumlah sebesar 5,8 %. Plasmatosit sendiri berperan dalam aktifitas fagositosis serangga.

Hasil pengamatan tipe sel hemosit serangga *Trigona* sp, diketahui terdapat tiga tipe sel hemosit dengan presentase terbanyak, yaitu : plasmatosit, prohemosit dan sel granulosit (Gambar 12). Tingginya jumlah ketiga sel tersebut berkaitan dengan fungsi dan peranan dari ketiga sel tersebut. Sesuai dengan pernyataan Chapman bahwa plasmatosit, granulosit dan prohemosit adalah jenis sel yang paling berlimpah dari jumlah total hemosit. Secara aktif ketiga jenis sel tersebut terlibat dalam mekanisme pertahanan serangga (Chapman, 1998).

4. Pembahasan

Umumnya serangga memiliki tujuh jenis tipe sel hemosit yang berbeda, yaitu : sel granular, plasmatosit, oenositoid, prohemosit, koagulosit, sel sperul dan adipohemosit (Ribeiro dan Brehelin, 2006). Tipe sel hemosit setiap spesies serangga tidak hanya beragam, namun memiliki jumlah yang berbeda-beda. Perbedaan tipe hemosit ini bergantung pada aktifitas dan proses fisiologis yang terjadi pada tubuh serangga. Banyak faktor yang mempengaruhi jumlah dari setiap tipe sel diantaranya : perbedaan akan pola eclosion pada serangga, usia dan tingkatan stadia, jenis kelamin dan peristiwa perkawinan yang menandai adanya peningkatan jumlah hormon saat perkawinan (Maulina, 2013).

Plasmatosit mengandung sejumlah moderat retikulum endoplasma kasar, kompleks Golgi dan mungkin mengandung butiran membran yang terikat. Plasmatosit adalah yang paling berlimpah dan tercatat sebanyak 30% dari jumlah total hemosit. Plasmatosit terlibat dalam fagositosis dan enkapsulasi organisme asing yang menyerang hemosol (Chapman, 1998).

Spherule sel dijumpai pada hemosit sejumlah spesies serangga, secara umum berbentuk ovoid (diameter 6-16 µm), dengan beberapa sampai banyak butiran yang bulat atau lonjong. Reticulum endoplasma kasar biasanya berkembang dengan baik. Spherule sel sangat stabil dalam keadaan *in vitro*. Persentase keberadaannya biasanya sangat rendah, dibawah 5 % dari populasi hemosit (Anggraeni, 1992).

Sel oenositoid berukuran relatif besar dengan diameter lebih dari 20 µm, perbandingan inti sitoplasma rendah, hanya terdapat pada beberapa jenis serangga. Letak intinya sentris dan eksentris, kadang mengandung kristal. Oenositoid dijumpai dalam jumlah kecil sekitar 1-2 % dari total populasi hemosit (Ribeiro dan Brehe' lin, 2006).

Granulosit berisi sejumlah besar endoplasma yang secara ekstensif melebar. Kompleks Golgi juga berlimpah dan sel-sel mengandung butiran membran yang terikat dalam jumlah besar. Granulosit memiliki proporsi jumlah yang cukup besar, biasanya lebih dari 30% dari populasi hemosit. Sel ini melepaskan isinya (degranulate) pada permukaan sehingga mengganggu organisme sebagai bagian awal dari respon pertahanan. Granulosit mungkin berasal dari plasmatosit dan zat antara dari kedua jenis sel ini. Sistosit mungkin adalah granulosit dimana mereka mengandung butiran berlimpah, tapi biasanya berisi jumlah yang lebih kecil kompleks golgi dan endoplasma kasar daripada granulosit. Mereka memiliki inti relatif tinggi dibandingkan rasio sitoplasma (Chapman, 1998).

Sel prohemosit berukuran kecil (diameter 6-13 µm), bentuk bulat hingga lonjong, dengan perbandingan inti sitoplasma yang besar, dikelilingi oleh lapisan sitoplasma yang homogeni dan tipis serta mengandung banyak ribosom bebas, sedikit retikulum endoplasma kasar dan beberapa mitokondria

(Anggraeni, 1992). Prohemosit memiliki indeks mitosis besar, merupakan stem sel untuk tipe hemosit yang lain (Brehelin and Zachary, 1986). Jumlahnya 5 % atau kurang dari total populasi.

Perbedaan jumlah sel hemosit ini juga dinyatakan oleh Laughton dkk (2011) pada pea aphid *Acyrtosiphon pisum* dimana persentase tipe hemosit tertinggi yaitu sel prohemosit dengan jumlah 56 % dari total populasi hemosit, sel granulosit sebesar 35 % dan sel oenositoid sebesar 9 %.

Pada *Drosophila*, jumlah sel hemosit terbesar adalah plasmatosit dengan total 95 % dari jumlah hemosit, lebih tinggi dibandingkan dengan sel lamellosit dan kristal sel. Jika dibandingkan dengan keragaman tipe sel pada serangga *Trigona* sp dimana sel granulosit memiliki persentase tertinggi sebanyak 44 %, sel prohemosit 26 %, sel plasmatosit 13 % dan sel oenositoid 8 %, maka dapat dikatakan bahwa, masing-masing spesies serangga memiliki keragaman tipe hemosit. Keragaman tipe hemosit tiap spesies serangga berkaitan dengan kemampuan masing-masing spesies dalam sistem pertahanan tubuhnya.

Keragaman pada tipe hemosit juga terlihat dari setiap spesies serangga, misalnya pada beberapa serangga berikut ini, seperti pada pea aphid *Acyrtosiphon pisum* memiliki 3 jenis hemosit, yaitu : prohemosit, granulosit dan oenositoid (Laughton dkk, 2011) ; *Drosophilla melanogaster* memiliki 3 tipe hemosit, yaitu : plasmatosit, lamellosit dan crystal sel (Goto dkk, 2003) ; kumbang Japanese *Rhinoceros Allomyrina dichotoma* L memiliki 6 tipe hemosit, yaitu : granulosit, plasmatosit, oenositoid, spherulosit, prohemosit dan adipohemosit (Hwang, 2015) ; belalang *Oxya japonica* memiliki 5 tipe hemosit, yaitu : plasmatosit, granulosit, koagulosit, prohemosit dan oenositoid (Melanie, 2004) ; *Spodoptera litura* memiliki 5 tipe hemosit, yaitu : plasmatosit, prohemosit, oenositoid, sel granular dan sel sperul (Maulina, 2013) ; *Spodoptera exigua* memiliki 5 tipe hemosit, yaitu : granulosit, plasmatosit, oenositoid, sel sperul dan prohemosit (Suryani, 2013).

Setiap tipe sel hemosit serangga memiliki fungsi dan perannya tersendiri dalam sistem pertahanan tubuh. Keragaman tipe hemosit juga akan dipengaruhi oleh berbagai macam faktor dalam siklus hidup serangga tersebut, aktivitas serangga, dan lain sebagainya. Hemosit melakukan berbagai fungsi diantaranya adalah perbaikan luka dan pertahanan melawan patogen dan parasit, tetapi mereka memiliki peran dalam banyak aspek dalam fungsi normal serangga. Granulosit dan sel-sel spherule dari larva *Calpodes* akan mensintesis proline yang dikeluarkan menjadi hemolimf dan kemudian dimasukkan ke dalam kutikula. Peptida lain yang diproduksi oleh hemosit mungkin ditambahkan ke lamina basal (Chapman, 1998).

5. Simpulan

Berdasarkan penelitian dapat disimpulkan bahwa terdapat lima jenis tipe hemosit larva serangga *Trigona* sp, yaitu : plasmatosit, prohemosit, oenositoid, sel sperul dan granulosit.

Pustaka

- Anggraeni T , Melanie, Ramadhani Eka Putra. (2011) : Cellular and humoral immune defenses of *Oxya japonica* (Orthoptera: Acrididae) to entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* . Entomological Research , 41: 1-6
- Brehelin, M., and Zachary, D. (1986) : Insect Hemocytes : A New Classification to Rule Out The Controversy, In : Brehelin, M. (ed) Immunity in Invertebrates. Springer-Verlag, Berlin, 36-48
- Chapman, R.F. (1998) : The Insect Structure and Function 4th Edition. Cambridge, Cambridge University Press
- Hwang S. Kyeongrin Bang, Jiae Lee & Saeyoull Cho. 2015. Circulating Hemocytes from Larvae of the Japanese Rhinoceros Beetle *Allomyrina dichotoma* (Linnaeus) (Coleoptera: Scarabaeidae) and the Cellular Immune Response to Microorganisms. Department of Applied Biology, College of Agriculture and Life Science, Environment Friendly Agriculture Center, Kangwon National University, Chuncheon. Republic of Korea
- Laughton A.M, Justine R.Garcia, Boran Altincicek, Michael R. Strand, Nicole M. Gerardo. Characterisation of immune responses in the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. Biology Department, Emory University, O. Wayne Rollins Researcher Center. USA
- Leiwakabessy, C. 1999. Potensi Beberapa Jenis Serangga Dalam Penyebaran Penyakit Layu Ralstonia (*Pseudomonas Solanacearum* Yabuuchi et al. Pada Pisang Di Lampung. Tesis Bogor. Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor
- Maulina, D. 2013. Respon Imun Seluler *Spodoptera litura* Terhadap biopestisida *Mirabilis jalapa* Dan Tingkat Mortalitasnya Ketika Dikombinasikan Dengan *Bacillus thuringiensis*. Tesis Biologi. Sekolah Ilmu Dan Teknologi Hayati. Institut Teknologi Bandung
- Mairawita, Trimurti Habazar, Ahsol Hasyim & Nasril Nasir. 2012. Potensi *Trigona* spp. Sebagai Agen Penyebar Bakteri *Ralstonia Solanacearum* Phylotipe IV Penyebab Penyakit Darah Pada Tanaman Pisang
- Nelson, C., Stephen Hendy, Kim Reid & John Cavanagh. 2002. Quantitative Analysis of Phenol Oxidase Activity in Insect Hemolymph. Vancouver General Hospital, Vancouver, BC. *BioTechniques* 32:815-823. Canada
- Neyen, C, Andrew J.B, Olivier B, Bruno L. 2014. Methods to study *Drosophila* Immunity. Global Helath Institute, School of Life Sciences, Ecole

Polytechnique Federale de Lausanne (EPFL), Station 19, 1015 Laussane,
Switzerland

- Nicolson, S.W. 1980. Water Balance and Osmoregulation in *Onymacris plana*, a Tenebrionid Beetle From Namib Desert. *Journal of Insect Physiology* 26, 315-320
- Ribeiro C dan Michel Brehelin. 2006. Insect haemocytes: What type of cell is that?. *Ecologie Microbienne des Insectes et Relations Ho[^]te-Pathoge[^]ne* (UMR 1133 INRA-UMII), Pl. E. Bataillon 34095 Montpellier, France. *Journal of Insect Physiology* 52 (2006) 417–429
- Suryani, A.I. 2013. Respon Imun Humoral dan Mortalitas *Spodoptera exigua* Terhadap Pemberian Kombinasi Biopestisida Daun *Mirabilis jalapa* Dan Jamur Entomopatogen *Metarhizium anisoplae*. Tesis Biologi. Sekolah Ilmu Dan Teknologi Hayati. Institut Teknologi Bandung