

Short Paper

TINGKAT KERUSAKAN SEL DARAH MERAH LELE DUMBO (*Clarias gariepinus*) YANG DIPAPARKAN DALAM ENDOSULFAN PADA KONSENTRASI SUBLETAL

THE RED BLOOD CELLS IMPAIRMENT OF LELE DUMBO (*Clarias gariepinus*) EXPOSED TO ENDOSULFAN AT SUBLETHAL CONCENTRATION

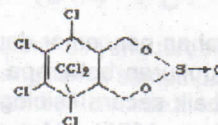
Indra Gumay Yudha¹⁾

Abstract

The objective of this experiment was to study the effect of endosulfan on red blood cells of catfish, *C. gariepinus*. Ten fishes, (2-3 g of body weight), were kept in 30 l fish tank. Fish were exposed to 5 concentrations of endosulfan (1.71 ppb, 3.43 ppb, 5.14 ppb, 6.85 ppb and 8.57 ppb) for 6 weeks. The experiment was done in triplicates. The result showed that endosulfan caused the red blood cells damage by forming cerroids and lipofuscin complex. This impairment was over 90% of total red blood cells when fishes were exposed to endosulfan at 6.85-8.57 ppb.

Key words: *Clarias gariepinus*, endosulfan, red blood cells impairment

Penggunaan pestisida dalam bidang pertanian dapat menimbulkan masalah lingkungan, antara lain pencemaran di lingkungan perairan yang dapat mengakibatkan kerusakan sumberdaya perikanan (Connel & Miller, 1995). Menurut Koesoemadinata (1980), dari pengujian toksisitas akut 79 formula pestisida padi sawah yang terdaftar di Indonesia, sekitar 17,7% bahan aktif pestisida tersebut memiliki toksisitas yang tinggi terhadap ikan. Sehubungan dengan bahaya yang ditimbulkan akibat penggunaan pestisida, pemerintah telah membatasi dan melarang penggunaan beberapa jenis pestisida, terutama insektisida golongan klororganik. Endosulfan termasuk insektisida klororganik yang digunakan di Indonesia secara terbatas (*restricted*) dan sangat dilarang digunakan di lingkungan perairan. Namun demikian, diduga masih banyak disalahgunakan untuk kegiatan yang berhubungan dengan perairan. Rumus molekul endosulfan adalah $C_9H_6Cl_6O_3S$, dengan struktur kimia sebagai berikut:



Gambar 1. Struktur kimia endosulfan

Menurut ADB (1987) penggunaan endosulfan dibatasi dan dilarang di beberapa negara karena sifat toksisitasnya yang tinggi terhadap ikan dan biota air lainnya. Di Indonesia penggunaan endosulfan dibatasi pada areal yang tidak berhubungan dengan perairan dan dilarang digunakan di persawahan.

Penyalahgunaan endosulfan yang merusak lingkungan perairan dapat dijumpai antara lain dalam bentuk peracunan ikan di daerah aliran sungai dan tambak udang tradisional di wilayah Propinsi Lampung.

Penggunaan endosulfan di perairan menimbulkan dampak negatif terhadap ekosistem perairan berkenaan dengan toksisitasnya yang sangat tinggi terhadap biota perairan. Bencana ekologis dapat terjadi jika endosulfan terus menerus mencemari perairan, seperti kematian ikan, krustasea, plankton, bakteri pengu-

¹⁾ Program Studi Budidaya Perairan, Fak. Pertanian, Universitas Lampung Jl. Sumantri Brojonegoro 1 Bandar Lampung, E-mail: indra_gumay@yahoo.com.

rai, dan biota air lainnya, sehingga dapat menyebabkan keseimbangan ekosistem terganggu dan punahnya beberapa ikan *indigenous spesies* pada perairan tersebut. Menurut Schoettger (1970) pada konsentrasi 46 ppb endosulfan mampu membunuh semua ikan *minnows*, *perch*, *sunfish*, *bullheads*, dan *sucker* yang berada dalam kolam seluas lebih kurang 12,5 ha selama 7 hari; sedangkan cladocera (*Daphnia magna*) sudah mengalami kematian pada konsentrasi 52,9 ppb dalam 4 hari. Mc. Leese & Metcalfe (1980) menyatakan bahwa endosulfan pada konsentrasi 0,2 ppb dapat menyebabkan kematian pada udang *Crangon septemspinosa* dewasa; sedangkan hasil penelitian Mc. Leese *et al.* (1982) menunjukkan bahwa cacing polichaeta (*Nereis nereis*) dewasa mengalami kematian pada saat dipaparkan dalam endosulfan pada konsentrasi 100 ppb selama 12 hari.

Pengaruh bahan pencemar dapat diamati melalui pengukuran beberapa parameter pada ikan, baik secara fisiologis maupun biokimia (Heat, 1975). Menurut APHA, AWWA, & WPCF (1985), ikan yang digunakan dalam pengujian toksisitas suatu bahan pencemar harus memenuhi kriteria sebagai berikut: terdapat pada lingkungan tercemar yang akan diteliti atau setidaknya berhubungannya dengan spesies yang terdapat di perairan yang tercemar; tersedia dalam jumlah banyak untuk mencukupi kebutuhan pengujian; dapat dipelihara di laboratorium dalam kondisi yang sehat minimal selama sebulan; serta memiliki peranan dalam jaringan makanan atau merupakan sumberdaya yang bernilai ekonomis di suatu ekosistem. Berdasarkan kriteria tersebut lele dumbo (*Clarias gariepinus*) dapat digunakan sebagai ikan uji. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh endosulfan pada berbagai konsentrasi subletal terhadap kerusakan sel darah merah lele dumbo.

Penelitian ini dilakukan dengan metode pergantian media uji (*renewal test*) dengan 6 perlakuan dan 3 ulangan. Setiap unit percobaan terdiri dari 10 ekor lele dumbo

dengan berat rata-rata individu 2-3 g, dipelihara dalam akuarium berukuran 50x40x40 cm³ yang berisi 30 l media uji, yaitu air yang mengandung endosulfan dalam konsentrasi subletal, yaitu 1,71; 3,43; 5,14; 6,85; dan 8,57 ppb, serta konsentrasi 0 sebagai kontrol. Nilai LC₅₀ 96 jam diperoleh dari penelitian Yudha (2001), yaitu 17,13 ppb. Media uji yang digunakan dalam setiap akuarium diganti setiap 2 hari sekali dan waktu pemaparan dilakukan selama 6 minggu.

Pemberian pakan dilakukan setiap pagi, siang, dan sore hari sebanyak 18% dari berat tubuh (Setiawan, 1986). Pengukuran parameter fisika-kimia air dilakukan setiap minggu, yang meliputi suhu, pH, O₂ terlarut, CO₂ bebas, dan amonia total. Suhu diukur dengan termometer, pH diukur dengan pH meter, O₂ terlarut, CO₂ bebas, dan amonia total diukur dengan metode titrasi.

Pengamatan kondisi sel darah merah dilakukan 6 minggu setelah ikan uji dipaparkan dalam endosulfan. Pembuatan preparat ulas darah dilakukan dengan metode kering udara dan pewarnaan Giemsa (Angka *et al.*, 1985). Pengambilan darah dilakukan menggunakan jarum suntik steril dari *vena caudalis* yang sebelumnya telah dibasahi dengan Nasitrat 3,8% sebagai antikoagulan. Preparat dibiarkan kering udara selama 15 menit, kemudian direndam dalam metanol selama 5 menit dan dilakukan pewarnaan dengan Giemsa 5% selama 10 menit.

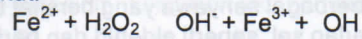
Penentuan tingkat kerusakan sel darah merah pada masing-masing perlakuan dilakukan dengan menghitung persentase sel darah merah yang rusak pada preparat ulas darah melalui mikroskop pada pembesaran 1000 kali. Pada setiap akuarium diambil 3 ekor ikan secara acak untuk diambil darahnya, sehingga diperoleh 9 ulangan untuk setiap perlakuan. Analisis sidik ragam dilakukan untuk mengetahui beda nyata perlakuan terhadap tingkat kerusakan sel darah merah. Pengujian lanjutan dilakukan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk menge-

tahui perbedaan di antara masing-masing perlakuan tersebut.

Darah lele dumbo yang dipaparkan dalam endosulfan terlihat mengalami kerusakan. Kerusakan terjadi pada inti dan sitoplasma sel darah merah. Pada kondisi normal, sel-sel darah merah lele dumbo berbentuk oval dengan sitoplasma mulus dan inti sel kompak. Sel darah merah lele dumbo yang dipaparkan dalam endosulfan terlihat ada kompleks lipofuscin pada inti sel dan seroid yang membesar dan memenuhi hampir semua bagian sitoplasma. Keadaan ini menyebabkan inti sel terlihat membesar dan seolah-olah pecah dengan permukaan tidak rata. Demikian juga sitoplasma mengalami kelainan karena ada seroid tersebut (Gambar 2).

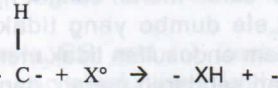
Menurut Azhar & Tjahjono (1999) *cit.* Yudha (2001), proses pembentukan kompleks lipofuscin dan seroid tersebut diduga akibat adanya radikal bebas yang timbul karena pengaruh endosulfan terhadap sel darah merah. Hal tersebut diperkuat dengan pendapat Wijaya (1996) yang menyatakan bahwa suatu bahan toksik atau racun dapat menyebabkan kerusakan jaringan dan pada gilirannya dapat menimbulkan pelepasan protein heme, yang akan bereaksi dengan peroksidase dan melepaskan ion Fe^{2+} . Dengan adanya ion Fe^{2+} akan terjadi reaksi fenton dan menghasilkan radikal bebas hidroksil (OH) yang sangat reaktif,

dengan persamaan reaksi sebagai berikut:

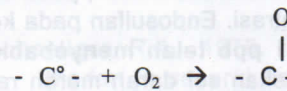


Radikal hidroksil tersebut dapat merusak asam lemak tak jenuh jamak (PUFA, *Poly Unsaturated Fatty Acids*) yang merupakan komponen penting fosfolipid penyusun membran sel. Serangan radikal hidroksil terhadap membran sel dapat menimbulkan reaksi berantai yang terus berlanjut, yang disebut peroksida lipid, dengan tahapan sebagai berikut (Wijaya, 1996):

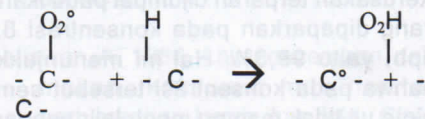
a) ROS (*Reactive Oxygen Species*) akan menarik atom H dari rantai samping PUFA:



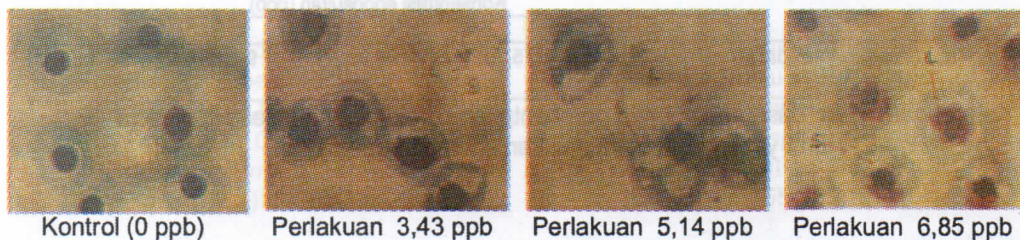
b) Radikal karbon akan bereaksi dengan oksigen:



c) Radikal peroksil yang terbentuk akan menyerang rantai samping PUFA lagi untuk membentuk radikal karbon baru:



d) Reaksi berantai akan terus berlanjut, yang hanya dapat berhenti bila dua radikal bebas bertemu.



Gambar 2. Perbandingan sel darah merah lele dumbo pada kondisi normal (kontrol) dengan sel darah merah yang mengalami kerusakan akibat dipaparkan dalam endosulfan pada konsentrasi subletal selama 6 minggu (1000 x). L, lipofuscin; S, seroid.

Akibat akhir reaksi berantai tersebut adalah terputusnya rantai asam lemak menjadi berbagai senyawa yang bersifat toksik terhadap sel, seperti aldehid dan berbagai hidrokarbon, yang dapat mengakibatkan kerusakan membran sel yang parah dan membahayakan kehidupan sel. Reaksi tersebut menurut Azhar & Tjahjono (1999) *cit.* Yudha (2001) juga menyebabkan pembentukan kompleks lipofuscin dan seroid yang besar dan tidak larut, yang semakin lama semakin membesar hingga dapat memenuhi seluruh sel.

Pengaruh perlakuan terhadap tingkat kerusakan sel darah merah sangat nyata (Tabel 1). Lele dumbo yang tidak dipaparkan dalam endosulfan tidak mengalami kerusakan sel darah merah; dan hal ini berbeda dengan lele dumbo yang dipaparkan dalam endosulfan pada berbagai konsentrasi. Endosulfan pada konsentrasi 1,71 ppb telah menyebabkan tingkat kerusakan sel darah merah rata-rata 69,9%. Sebagai bahan toksik, pada konsentrasi rendah endosulfan telah menyebabkan kerusakan yang hebat. Kerusakan terparah dijumpai pada ikan uji yang dipaparkan pada konsentrasi 8,57 ppb, yaitu 99,3%. Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut semua biota uji tidak mampu mentolelir pengaruh endosulfan dan hampir seluruh sel darah merah mengalami kerusakan. Keadaan tersebut sesuai dengan pendapat Mason

(1992) yang menyatakan bahwa pengaruh suatu toksikan terhadap organisme tergantung pada konsentrasi dan lamanya kontak organisme dengan bahan tersebut.

Menurut Moyle & Cech (1988), kerusakan sel darah merah dapat menyebabkan gangguan dalam transpor oksigen ke jaringan, sehingga menghambat proses metabolisme. Keadaan tersebut menyebabkan keseimbangan energi keseluruhan terganggu, yang selanjutnya dapat mempengaruhi keseimbangan energi untuk pengaturan suhu tubuh, pemeliharaan (*maintenance*), aktivitas, maupun pertumbuhan.

Selama percobaan berlangsung, parameter kualitas air media uji masih dalam batas normal untuk kehidupan ikan. Suhu berkisar antara 29-30°C, pH 6, O₂ terlarut antara 5,4-6,8 mg/l, CO₂ 4-8 mg/l, dan amonia total 0,21-1,39 mg/l. Dengan demikian, faktor mortalitas ataupun *stress* pada ikan uji selama pengujian berlangsung bukan disebabkan oleh kondisi kualitas air, tetapi karena toksisitas media uji tersebut.

Tabel 1. Tingkat kerusakan sel darah merah lele dumbo pada berbagai konsentrasi endosulfan

	Konsentrasi endosulfan (ppb)					
	0	1,71	3,43	5,14	6,85	8,57
Tingkat kerusakan sel darah merah rerata (%) ¹⁾	0	69,9 ± 18,0 ^a	75,7 ± 17,6 ^{ab}	85,9 ± 11,5 ^{bc}	95,3 ± 6,2 ^{cd}	99,3 ± 1,1 ^d

Keterangan: 1) Berdasarkan adanya pembentukan seroid dan kompleks lipofuscin

2) Huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan:

1. Paparan endosulfan pada konsentrasi subletal 1,71; 3,43; 5,14; 6,85; dan 8,57 ppb selama 6 minggu dapat menyebabkan kerusakan sel-sel darah merah lele dumbo.
2. Tingkat kerusakan sel darah merah lele dumbo dapat mencapai lebih dari 90% apabila dipaparkan pada konsentrasi lebih dari 6,85 ppb.

Daftar Pustaka

- APHA, AWWA, and WPCF. 1985. Standard methods for the examination of water and waste-water. Sixteen edition. American Public Health Association. Washington D.C. 1268 p.
- Angka, S.L., G.T. Wongkar, and W. Karwani. 1985. Blood pictured and bacteria isolated from ulcered and crooked-back *Clarias batrachus*. Symposium on Practical *Aeromonas hydrophila*. AFS (3): 313-351
- Connel, D.W. dan G.J. Miller. 1995. Chemistry and ecotoxicology of pollution (Kimia dan ekotoksikologi pencemaran, diterjemahkan oleh Y. Koestoer). Universitas Indonesia Press. Jakarta. 520 p.
- Heath, A.G. 1987. Water pollution and fish physiology. CRC Press Inc. Boca Raton. Florida. 245 p.
- Koesoemadinata, S. 1980. Lethal toxicity of 24 insecticide formulations commonly used for rice pest control in irrigated rice field to two Indonesian freshwater fish species, *Cyprinus carpio* and *Puntius gonionotus*. Bul. Penelitian Perikanan. 2(1): 67-82.
- Mason, C.F. 1992. Biology of freshwater pollution. Longman Inc. London. 250 p.
- Mc Leese, D.W. and C.D. Metcalfe. 1980. Toxicities of eight organochlorine compounds in sediment and sea-water to *Rangon septemspinosa*. Bull. environ. Contam. Toxicol. 25: 921-928.
- Mc Leese, D.W., L.E. Burrige, and J. Van Dinter. 1982. Toxicities of 5 organochlorine compounds in water and sediment to *Nereis virens*. Bull. environ. Contam. Toxicol. 28: 216-220.
- Moyle, P.B. and J.J. Cech. 1988. Fishes: An introduction to ichthyology. Prentice Hall. Englewood Cliffs. New Jersey. 559 p.
- Schoeltger, R.A. 1970. Toxicology of thiodan in several fish and aquatic invertebrates. US Department of the Interior. Bureau of Sport, Fish and Wildlife, Investigations in Fish Control. 35:1-31.
- Seliawan, A. 1986. Laju pencernaan, nafsu makan, konsumsi makanan dan pertumbuhan benih ikan lele (*Clarias batrachus* L.). Tesis Magister Sains Institut Pertanian Bogor. Bogor. 67 p.
- Wijaya, A. 1996. Radikal bebas dan parameter status antioksidan. Forum Diagnosticum No.1. Prodia Diagnostics Educational Service. 12 p.
- Yudha, I.G. 2001. Toksisitas akut dan pengaruh subletal endosulfan terhadap pertumbuhan ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*). Prosiding Hasil-Hasil Penelitian Dosen Universitas Lampung: 155-163.