

Toksisitas Subletal Limbah Cair Batik hasil Biosorpsi terhadap Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.) ditinjau dari Differensial Leukosit

Hana Agustiana, Sri Lestari, Eko Setio Wibowo

Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman
Jalan dr Suparno 63 Purwokerto 53122
Email: hana.agustiana@gmail.com

Rekam Jejak Artikel:

Diterima : 23/09/2019
Disetujui : 22/06/2020

Abstract

Research on the differential leukocyte of fish exposed to waste from biosorption needs to be done because the differential leukocyte is one indicator of the presence of contaminants that enter the body of fish and to check the health status of fish immunity. This research aims to determine the effects of batik wastewater biosorption results expose on Carp (*Cyprinus carpio*) differential leukocyte and determine the concentration that has the most effect on it. The results showed that the mean differential percentage of leukocytes, for the highest monocytes, neutrophils, and eosinophils were found in the treatment of 3.96 % v.v⁻¹ respectively 7.50 ± 1.04%; 11.50 ± 1.64%; 2.83 ± 0.17% and the lowest were shown in the treatment of 0 % v.v⁻¹, respectively 3.50 ± 0.083%; 7 ± 1.26%; 0.66 ± 0.08%, and the highest average percentage of lymphocytes from the 0 % v.v⁻¹ treatment was 81.50 ± 1.87% and the lowest from the 3.96 % v.v⁻¹ treatment was 74.5 ± 3.33%. This study concludes that batik liquid waste resulted from biosorption affected the differential leukocytes; the increase in monocytes, neutrophils, eosinophils and the decrease in lymphocytes. In addition, the concentration of batik liquid waste from biosorption that major influences the differential leukocytes was the concentration of 3.96 % v.v⁻¹.

Key Words: batik waste water, biosorption, differential leukocyte, carp

Abstrak

Penelitian tentang diferensial leukosit ikan yang terpapar limbah dari biosorpsi perlu dilakukan karena diferensial leukosit merupakan salah satu indikator keberadaan kontaminan yang masuk ke dalam tubuh ikan dan untuk memeriksa status kesehatan imunitas ikan. Tujuan penelitian adalah mengetahui pengaruh pemaparan dan mengetahui konsentrasi limbah cair batik hasil biosorpsi yang paling berpengaruh terhadap diferensial leukosit Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.). Hasil penelitian menunjukkan bahwa rerata persentase diferensial leukosit, untuk monosit, neutrofil, dan eosinofil tertinggi terdapat pada perlakuan 3,96 v.v⁻¹ yaitu berturut-turut 7,50 ± 1,04%; 11,50 ± 1,64 %; 2,83 ± 0,17 % dan terendah terdapat pada perlakuan 0 v.v⁻¹ yaitu berturut-turut 3,50 ± 0,083%; 7 ± 1,26 %; 0,66 ± 0,08%, serta rerata persentase limfosit yang tertinggi dari perlakuan 0 v.v⁻¹ yaitu 81,50 ± 1,87% dan terendah dari perlakuan 3,96 v.v⁻¹ yaitu 74,5 ± 3,33 %. Kesimpulan dari penelitian yaitu limbah cair batik hasil biosorpsi berpengaruh terhadap diferensial leukosit yaitu terjadi peningkatan pada monosit, neutrofil, dan eosinofil serta penurunan pada limfosit. Selain itu, konsentrasi limbah cair batik hasil biosorpsi yang paling berpengaruh terhadap diferensial leukosit adalah konsentrasi 3,96 v.v⁻¹.

Kata kunci : biosorpsi, diferensial leukosit, limbah batik, ikan mas,

PENDAHULUAN

Industri di Indonesia sangat berkembang pesat baik industri modern maupun industri rumahan. Salah satu industri rumahan yaitu Sentra Batik Sokaraja di Kabupaten Banyumas yang berpotensi mencemari lingkungan karena limbahnya dibuang ke Kali Wangan. Industri batik merupakan penghasil limbah cair organik dengan volume yang besar, warna yang pekat dan berbau menyengat serta memiliki suhu, pH basa, *Biological Oxygen Demand* (BOD), *Chemical Oxygen Demand* (COD), *Total Suspended Solid* (TSS) yang tinggi. Industri batik pada umumnya akan menghasilkan limbah cair yang dibuang ke lingkungan sekitar (Sumarni, 2012). Air limbah yang dibuang ke lingkungan tanpa pengolahan terlebih dahulu maka dapat

menyebabkan pencemaran lingkungan terutama ekosistem perairan (Kurniawan *et al.*, 2013)

Limbah cair batik mengandung logam berat yang berbahaya karena sifatnya tidak dapat dihancurkan (*nondegradable*) oleh organisme hidup yang ada di lingkungan. Logam berat masuk ke dalam organisme melalui berbagai cara yaitu saluran pernafasan (insang), saluran pencernaan (usus, hati, ginjal), melalui rantai makanan, dan melalui penetrasi kulit. Logam berat masuk ke dalam sel dan ikut didistribusikan oleh darah keseluruh jaringan tubuh sehingga dapat terakumulasi pada organ tubuh. Sirkulasi darah menyebabkan logam berat terakumulasi di dalam dinding pembuluh darah dan jaringan ikat. Salah satu komponen sel darah yang sangat berpengaruh terhadap penyakit akibat polutan

atau benda asing adalah sel darah putih (*leukosit*). Sel darah putih (*leukosit*) terbagi atas dua bagian yaitu agranulosit (*limfosit* dan *monosit*) dan granulosit (*neutrofil*, *eosinofil*, dan *basofil*). Setiap ikan memiliki kondisi haematologi yang sangat spesifik dan bervariasi mulai dari jenis, umur serta jenis kelamin ikan tersebut.

Kromium merupakan salah satu logam yang berbahaya bagi lingkungan karena bersifat persisten, bioakumulatif, toksik, dan tidak mampu terurai di dalam lingkungan, serta terakumulasi di dalam tubuh manusia atau hewan melalui rantai makanan. Akumulasi kromium ditemukan di berbagai organ seperti hati, kulit, dan ginjal. Daya toksisitas logam kromium sangat tergantung pada kestabilan kimianya. Kestabilan kromium berurutan mulai dari tingkat toksisitas terendah yaitu Cr, Cr (III), dan Cr (VI) (Destiany, 2007). Krom hexavalent (Cr VI) mudah menembus ke dalam membran sel melalui sistem transportasi anion, contohnya ion chromate (CrO_4^{2-}) adalah salah satu ion krom heksavalen (Cr VI) dalam larutan dengan mudah melewati membran seluler. Dampak kromium yang ditimbulkan bagi organisme akuatik yaitu terganggunya metabolisme tubuh akibat terhalangnya kerja enzim dalam proses fisiologis. Krom diabsorpsi di dalam darah, berikatan dengan protein darah kemudian masuk ke dalam organ secara sistemik melalui peredaran darah. Krom akan menumpuk dalam tubuh sehingga bersifat kronis yang berakibat terjadi kematian organisme akuatik (Andriani & Hartini, 2017).

Adanya dampak dari logam krom maka perlu dilakukan pengolahan limbah cair industri batik sebelum masuk ke badan air untuk mengurangi tingkat pencemaran air sungai. Upaya untuk menekan logam berat krom bisa dilakukan dengan metode pengolahan limbah yang mudah dan ramah lingkungan yaitu metode biosorpsi (Natalina & Firdaus, 2017). Biosorpsi merupakan proses pengikatan logam pada permukaan biosorben menggunakan organisme yang diinaktifkan. Hasil penelitian dari Lestari *et al.* (2017) menggunakan biosorben terdiri dari campuran *Sargassum cinereum* dan limbah baglog *P. ostreatus* yang dikemas dalam kantong teh celup cukup efektif menurunkan senyawa krom pada limbah batik. Biosorben *S. cinereum* memiliki kandungan zat alginat sebagai situs aktif pengikat logam berat, sedangkan kandungan dari limbah baglog *P. ostreatus* yaitu miselium jamur, lignin, hemiselulosa dan selulosa yang mampu digunakan sebagai adsorpsi logam (biosorben).

Diferensial leukosit merupakan gambaran kondisi dari komponen darah yang dapat digunakan menemukan status fisiologis ikan. Pengamatan differential leukosit meliputi peresentase rata-rata limfosit, monosit, neutrofil, dan eosinofil. Ikan Mas digunakan sebagai hewan uji pada penelitian karena bersifat sensitive terhadap lingkungan dan banyak

dibudidayakan oleh masyarakat di sekitar Kali Wangan.

Tujuan penelitian ini yaitu mengetahui pengaruh pemaparan limbah cair batik hasil biosorpsi terhadap differensial leukosit pada ikan mas (*Cyprinus carpio* L.) dan mengetahui konsentrasi limbah cair batik hasil biosorpsi yang paling berpengaruh terhadap differensial leukosit ikan mas (*Cyprinus carpio* L.).

METODE

Penelitian dilaksanakan pada Maret sampai April 2019 di stasiun percobaan program studi D3 dan Laboratorium Fisiologi Hewan Fakultas Biologi Universitas Jendral Soedirman, Purwokerto. Penelitian dilaksanakan selama 2 bulan dari April-Mei 2019. Metode yang digunakan dalam penelitian adalah eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola searah menggunakan empat perlakuan dengan enam kali ulangan. sehingga didapat 24 unit percobaan. Penentuan konsentrasi berdasarkan nilai LC50 limbah cair batik hasil biosorpsi, yaitu sebesar 52,876 v.v-1. Konsentrasi yang diujikan adalah K0= kontrol (0 % v.v-1), K1= 25% nilai LC50 (1,32 v.v-1), K2= 50% nilai LC50 (2,64 v.v-1) dan K3= 75% nilai LC50 (3,96 v.v-1). Ikan dipaparkan dengan limbah cair batik hasil biosorpsi selama 7 ahri. Sampel darah yang diamati pada hari ke-8. Sampel darah diamati untuk diperiksa pengaruh perlakuan paparan limbah cair batik terhadap diferensial leukosit (limfosit, monosit, neutrofil, dan eosinofil).

Variabel yang digunakan dalam penelitian berupa variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas berupa konsentrasi limbah cair batik hasil biosorpsi, sedangkan variabel terikatnya berupa differensial leukosit Ikan Mas. Parameter utama yang diamati yaitu persentase diferensial leukosit pada ikan mas (leukosit, neutrofil, limfosit dan monosit) dalam darah (%). Parameter pendukung yang diamati yaitu suhu, pH, dan DO.

Persiapan Limbah Cair Batik

Limbah cair batik diperoleh dari Sentra Batik Sokaraja di Desa Sokaraja Kidul, Kecamatan Sokaraja, Kabupaten Banyumas, Jawa Tengah. Limbah cair batik dibiosorpsi sebelum menggunakan campuran jerami padi dan limbah baglog *P. ostreatus* yang dikemas dalam teh celup dengan ukuran 6x6 cm. Biosorben ditimbang dengan bobot 300 mg dengan komposisi 3:1 yaitu 75% jerami padi dan 25% limbah baglog *P. ostreatus*. Biosorpsi dilakukan dengan menggunakan erlenmeyer 250 mL diisi sebanyak 100 mL limbah cair batik, kemudian dimasukkan satu komposisi kantong teh celup ke dalam erlenmeyer. Setiap erlenmeyer diisi satu buah kantong teh (biosorben). Erlenmeyer ditutup dengan plastik kemudian dihomogenkan dalam *shaker* r dengan kecepatan 175 rpm dan temperatur 25 selama 1 jam. Limbah hasil biosorpsi selanjutnya di

ekstraksi untuk mengetahui persen penurunan kadar Cr (Lestari *et al.*, 2017).

Ekstraksi Limbah Cair Batik Hasil Biosorpsi

Ekstraksi limbah cair batik hasil biosorpsi dilakukan dengan mengambil 50 mL dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 100 mL. Larutan tersebut dipanaskan menggunakan *hotplate* dengan suhu 180 °C hingga tersisa 20 mL. Larutan kemudian ditambahkan 5 mL HNO₃ pekat dan 2 mL HCl 20% dan dipanaskan diatas *hotplate* hingga larutan berwarna jernih. Larutan tersebut disaring dengan kertas Whatmann No.42, larutan yang tersisa diencerkan dengan akuades menggunakan labu ukur 50 mL dan dilakukan pengukuran absorbansi Cr dengan AAS pada panjang gelombang 357,9 nm. Hasil nilai absorbansi yang didapat kemudian dimasukkan kedalam rumus untuk mengetahui persen penurunan kadar Cr pada limbah batik cair hasil biosorpsi.

$$\text{kadar Cr} = \frac{\text{Kadar Cr awal} - \text{kadar Cr akhir}}{\text{kadar Cr akhir}} \times 100\%$$

Persiapan Hewan Percobaan

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian adalah ikan mas dengan ukuran 20-25 cm dan berat 90-160 gram sebanyak 24 ekor. Ikan diperoleh dari pembibitan ikan di Desa Beji, Purwokerto. Ikan di aklimasi selama 7 hari pada bak fiber yang dilengkapi dengan aerator. Selama di aklimasi ikan diberi pakan pelet dua kali sehari yaitu pagi dan sore hari. Pemberian pakan dilakukan secara *adlibitum*.

Persiapan Tempat Percobaan

Media pemeliharaan yang digunakan adalah bak plastik dengan ukuran 15 liter ukuran 30x25x20 cm³ sebanyak 24 buah. Masing-masing bak diisi 1 ekor ikan. Bak diisi dengan volume 10 liter berisi campuran limbah cair batik hasil biosorpsi yang berasal dari Kauman, Sokaraja, Banyumas dan air sumur.

Pemeliharaan Hewan Percobaan

Ikan Mas (*C. carpio*) dipelihara dengan dipaparkan limbah cair batik hasil biosorpsi selama 7 hari dan pengambilan sampel darah dilakukan pada hari ke-8.

Pengambilan Sampel Darah

Pengambilan darah dengan spuit 1 mL yang telah dibilas dengan EDTA 10% sebagai antikoagulan. Sampel darah menggunakan teknik *punctie cardiac* (jantung ikan). Darah yang telah diambil kemudian dimasukkan ke dalam tabung *vacutainer* untuk diuji differensial leukositnya.

Pembuatan Apusan Darah

Preparat apus darah digunakan untuk pengamatan differensial leukosit. Pengamatan differensiasi leukosit dilakukan untuk menentukan presentase setiap jenis leukosit yang terdapat di dalam darah. Gelas objek yang digunakan disterilisasi menggunakan alcohol 70%. Pembuatan preparat apus darah dilakukan dengan cara menempatkan setetes darah pada gelas objek. Tetesan darah ke-1 dan ke-2 dibuang terlebih dahulu, darah tetesan ke-3 langsung diteteskan pada object glass dan dibuat preparat apus. Gelas objek kedua diletakkan dengan sudut 45° diatas gelas objek pertama, lalu digeser ke belakang sampai menyentuh darah sehingga darah menyebar. Gelas objek kedua kemudian digeser ke arah yang berlawanan sehingga membentuk suatu lapisan darah tipis. Preparat ulas darah yang terbentuk dibiarkan kering. Lalu dilanjutkan dengan proses fiksasi dengan cara merendam preparat di dalam methanol selama 5 menit, lalu dikeringkan. Preparat kemudian dimasukkan kedalam larutan giemsa selama 30 menit, setelah itu dicuci dan dikeringkan. Mengacu pada Handari (1983) perbesaran mikroskop 40x10 dilakukan untuk mengamati hasil ulasan darah.

Perhitungan Persentase Differensial Leukosit

Pengamatan differensial leukosit dilakukan untuk menentukan persentase setiap jenis leukosit yang terdapat dalam darah. Persentase differensial leukosit dihitung dengan cara mengamati jumlah sel limfosit, monosit, neutrophil, dan eosinofil. Masing-masing jenis leukosit yang terhitung dikelompokkan dan diresentasikan menurut jenisnya (Santoso *et al.*, 2013). Cara perhitungan differensial leukosit sebagai berikut:

$$\% \text{ Limfosit} = \frac{\text{Limfosit terhitung}}{100} \times 100\%$$

$$\% \text{ Monosit} = \frac{\text{Jumlah monosit terhitung}}{100} \times 100\%$$

$$\% \text{ Neutrofil} = \frac{\text{Jumlah neutrofil terhitung}}{100} \times 100\%$$

$$\% \text{ Eusofil} = \frac{\text{Jumlah eusofil terhitung}}{100} \times 100\%$$

Analisis Data

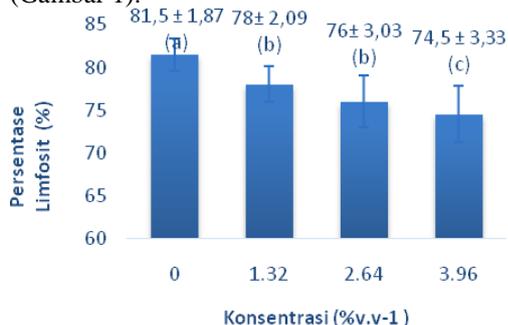
Data hasil penghitungan differensial leukosit dianalisis dengan ANOVA (Analysis of Variance) menggunakan software SPSS 16.0 pada tingkat kesalahan 5%. Hasil yang diperoleh berbeda nyata dilanjutkan dengan Uji Duncan pada tingkat kesalahan yang sama.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian limbah cair batik yang dibiosorpsi menggunakan campuran jerami (*Oryza sativa*) dan limbah baglog *P.ostreatus* dapat menurunkan konsentrasi krom (Cr) dari 0.0282 mg.L-1 menjadi 0.0045 mg.L-1 sehingga diperoleh persentase penurunan sebesar 75,72%. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan salah satunya oleh Lestari *et al.* (2017) menggunakan biosorben terdiri dari campuran biosorben *Sargassum cinereum* dan limbah baglog *P.ostreatus* yang dikemas dalam kantong teh celup cukup efektif menurunkan senyawa krom pada limbah batik menunjukkan bahwa persentase adsorpsi krom total tertinggi sebesar 62,69% dari konsentrasi awal 0,744 mg/L menjadi 0,156 mg/L. Proses biosorpsi terjadi karena adanya pertukaran ion seperti Na^+ , Mg dan Ca^{2+} serta pembentukan ikatan kompleks dengan formasi fungsional yang terletak di dinding sel, seperti karbonil, hidroksil, fosfat, dan karboksi-hidroksi. Keunggulan proses biosorpsi adalah proses adsorpsi yang berlangsung cepat dan selektif. Proses biosorpsi tersebut efektif menurunkan kandungan krom (Cr) dalam limbah cair batik namun masih ada kandungan Cr, sehingga masih memiliki peluang terakumulasi dalam organisme (Lestari *et al.*, 2017).

Limbah hasil biosorpsi tidak dapat dibuang langsung ke lingkungan karena sifat logam dapat mengakumulasi pada biota air, sehingga perlu dilakukan uji toksisitas untuk mengetahui dampak yang masih ditimbulkan dari limbah yang telah diolah tersebut. Uji toksisitas subletal terhadap ikan mas dapat memberikan gambaran dampak yang masih ditimbulkan dari limbah batik hasil biosorpsi. Hasil penelitian menunjukkan limbah cair batik hasil biosorpsi berpengaruh terhadap peningkatan limfosit dan penurunan neutrofil, monosit dan eosinofil.

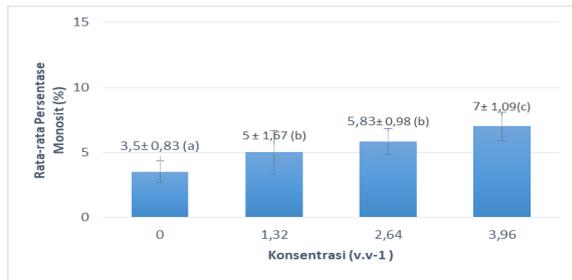
Hasil perhitungan persentase limfosit Ikan Mas yang dipaparkan pada limbah cair batik hasil biosorpsi menunjukkan bahwa rerata tertinggi persentase limfosit yaitu $81,5 \pm 1,87$ % pada konsentrasi 0 %v.v-1 diikuti konsentrasi 1,32 %v.v-1 yaitu $78 \pm 2,09$ %, konsentrasi 2,64% v.v-1 yaitu $76 \pm 3,03$ % dan persentase limfosit terendah yaitu $74,5 \pm 3,33$ % pada konsentrasi 3,96 %v.v-1 (Gambar 1).



Gambar 1. Rata-Rata Persentase Limfosit Ikan Mas

Berdasarkan gambar 1 persentase limfosit semakin menurun seiring penambahan konsentrasi limbah. Penurunan persentase tersebut masih dalam kisaran rata-rata limfosit normal ikan mas. Sebagian besar limfosit ditarik dari sirkulasi dan berkonsentrasi ke dalam jaringan dimana terdapat peradangan. Jika terjadi penurunan persentase limfosit di dalam sirkulasi pada saat terjadi peradangan (inflamasi) karena aktifitas limfosit B dalam memproduksi antibodi terganggu (Berne & Levy, 2001). Menurut Salasia (2001) nilai limfosit normal pada ikan berkisar antara 60,20-81,00%. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian Uttamrao *et.al* (2017) yang menunjukkan bahwa percobaan terhadap *C.carpio* yang dipaparkan Krom trivalent (Cr III) dengan konsentrasi 2 mg.L-1 selama 28 hari mengalami penurunan limfosit. Penurunan sel limfosit adalah reaksi normal terhadap logam berat atau bahan kimia yang menunjukkan efek dari sistem kekebalan dalam kondisi beracun. Berbeda dengan hasil penelitian Jyoti & Langer (2014) menggunakan spesies lain yaitu dengan ikan *G. gotyla gotyla* dengan paparan Mn dengan konsentrasi 0,64; 1,28; 1,96 mg/l menunjukkan bahwa nilai persentase limfosit mengalami peningkatan dibanding kontrol ($40 \pm 0,63\%$) dengan nilai berturut-turut yaitu $53,2 \pm 1,76\%$; $55 \pm 0,69\%$; $55,8 \pm 0,39\%$. Hal tersebut karena faktor jenis ikan dan logam berat. Logam Mn kelompok logam essential, logam berat yang dalam jumlah tertentu dibutuhkan tetapi dapat bersifat racun jika dikonsumsi secara berlebihan (Irharni *et.al*2017). Penurunan sel limfosit juga terkait dengan peningkatan hormon kortikosteroid, sekresi yang merupakan respon nonspesifik terhadap pemicu stress lingkungan (Srivastava & Punia, 2011). Peningkatan limfosit sesuai dengan penelitian Thatheyus (2018), pemaparan Krom hexavalent (Cr IV) pada ikan *C. carpio* selama 30 hari dengan konsentrasi 60 ppm mengalami penurunan leukosit. Pemaparan pada species lain yaitu *Oreochromis mossambicus* yang terpapar baik Cr (VI) atau Cr (III) mengalami limfosit dan jumlah leukosit menurun di kedua kelompok tersebut (Velma *et al.*, 2010).

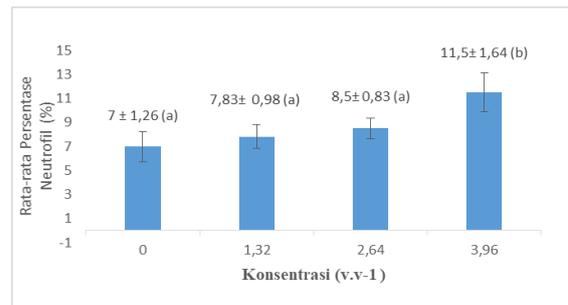
Persentase monosit Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang dipaparkan pada limbah cair batik hasil biosorpsi berbeda pada tiap perlakuan. Rerata terendah persentase monosit yaitu $3,5 \pm 0,83\%$ pada konsentrasi 0 %v.v-1 diikuti konsentrasi 1,32 %v.v-1 yaitu $5 \pm 1,67\%$, konsentrasi 2,64 %v.v-1 yaitu $5,83 \pm 0,98$ % dan persentase monosit tertinggi yaitu $7 \pm 1,09\%$ pada konsentrasi 3,96 %v.v-1 (Gambar 2). Persentase rata-rata monosit berada pada kisaran normal kecuali perlakuan 3,96 %v.v-1.



Gambar 2. Rata-Rata Persentase Monosit Ikan Mas.

Peningkatan persentase monosit yang terpapar limbah batik merupakan dampak yang ditimbulkan akibat adanya kandungan logam Cr di dalam limbah. Hasil tersebut menjelaskan bahwa peningkatan konsentrasi limbah hasil biosorpsi, mempengaruhi peningkatan jumlah monosit. Hal tersebut sesuai dengan Moyle & Cech (1989) yang menyatakan bahwa jumlah monosit di dalam populasi sel darah putih sedikit, namun jumlah akan meningkat jika ada substansi asing pada jaringan atau sirkulasi. Hasil tersebut sesuai penelitian dilakukan Hedayati (2012) menggunakan Ikan Seabream yang dipaparkan K_2CrO_7 dengan konsentrasi berbeda, persentase rerata monosit meningkat seiring bertambahnya konsentrasi yaitu sebesar $3,16 \pm 0,75\%$ hingga $3,66 \pm 0,61\%$. Peningkatan monosit menandakan adanya respon imunitas ikan. Peningkatan persentase monosit karena monosit memiliki aktivitas fagosit yang menjelaskan bahwa terjadi peradangan akibat paparan limbah. Menurut Moyle dan Cech (1988), proporsi monosit di dalam populasi leukosit sedikit kecuali ada benda asing di dalam jaringan atau aliran darah. Penurunan jumlah monosit di dalam populasi sel darah putih sedikit, namun jumlah akan meningkat jika ada substansi asing pada jaringan atau sirkulasi. Menurut Utami *et al.* (2013), bahwa fungsi monosit sebagai agen makrofag yang memfagosit benda asing yang masuk ke dalam tubuh. Menurut Asfari'ah *et al.* (2015), adanya inflamasi kronis atau proses peradangan akan merangsang terjadinya monositosis.

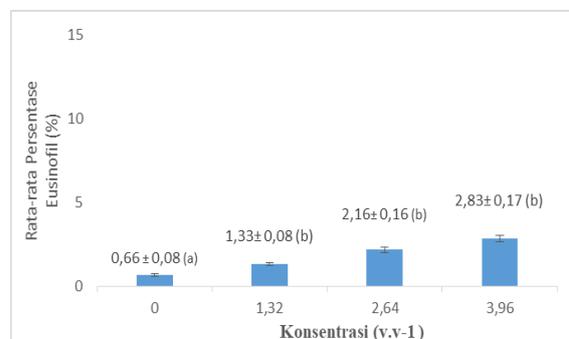
Persentase neutrofil Ikan Mas yang dipaparkan pada limbah cair batik hasil biosorpsi terdapat perbedaan tiap perlakuan. Rerata tertinggi persentase neutrofil yaitu $11,5 \pm 1,64\%$ pada perlakuan $3,96 \% v.v^{-1}$ diikuti perlakuan $2,64 \% v.v^{-1}$ yaitu $8,5 \pm 0,83\%$, perlakuan $1,32 \% v.v^{-1}$ yaitu $7,83 \pm 0,98\%$ dan persentase neutrofil terendah $7 \pm 1,26\%$ pada perlakuan $0 \% v.v^{-1}$ (Gambar 3).



Gambar 3. Rata-Rata Persentase Neutrofil Ikan Mas.

Berdasarkan gambar 3 menunjukkan bahwa persentase neutrofil Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang dipaparkan pada limbah cair batik hasil biosorpsi terdapat perbedaan tiap perlakuan. Rerata tertinggi persentase neutrofil yaitu $11,5 \pm 1,64\%$ pada perlakuan $3,96 \% v.v^{-1}$ diikuti perlakuan $2,64 v.v^{-1}$ yaitu $8,5 \pm 0,83\%$, perlakuan $1,32 \% v.v^{-1}$ yaitu $7,83 \pm 0,98\%$ dan persentase neutrofil terendah $7 \pm 1,26\%$ pada perlakuan $0 \% v.v^{-1}$. Hasil tersebut menunjukkan bahwa persentase neutrofil semakin tinggi seiring penambahan konsentrasi limbah. Peningkatan persentase neutrofil yang terpapar limbah batik, sehingga terjadi adanya inflamasi akibat paparan krom selama 7 hari sehingga persentase eosinofil meningkat dari kadar normal. Inflamasi merupakan suatu respon seluler non-spesifik terhadap invasi patogen atau toksin, dalam hal ini terjadi Inflamasi akut (jangka pendek/tidak berlangsung lama).

Berdasarkan hasil pengukuran nilai rata-rata persentase eosinofil gambar 4 pada ikan mas yang dipaparkan limbah cair batik hasil biosorpsi berbeda pada masing-masing perlakuan. Rerata-rata persentase eosinofil tertinggi hingga terendah berturut-turut terdapat pada perlakuan 0; 1,32; 2,64 dan $3,96 \% v.v^{-1}$ yaitu $2,83 \pm 0,17$; $2,16 \pm 0,16$; $1,33 \pm 0,08$ dan $0,66 \pm 0,05\%$ (Gambar 4). Hal tersebut secara grafik mengalami peningkatan tetapi tersebut masih dalam kisaran normal pada konsentrasi 0 ; 1,32 ; dan $2,64 \% v.v^{-1}$, sedangkan konsentrasi $3,96\% v.v^{-1}$ diatas nilai rata-rata.



Gambar 4. Rata-Rata Persentase Eusinofil Ikan Mas

Adanya inflamasi menyebabkan peningkatan eosinofil akibat paparan krom selama 7 hari sehingga persentase eosinofil meningkat dari kadar normal. Paparan dengan konsentrasi yang cukup lama sehingga terjadinya inflamasi akut, tetapi persentase tersebut berada dalam kisaran nilai yang normal. Persentase eosinofil di dalam sirkulasi darah ikan mas normal menurut Affandi dan Tang (2002) berkisar antara 0,78-2,00%. Hasil tersebut sesuai penelitian Hedayati (2012) pemaparan merkuri pada ikan Bream menyebabkan penurunan eosinofil seiring bertambahnya konsentrasi.

Peningkatan jumlah rata-rata eosinofil (eosinofilia) secara umum karena adanya kondisi penyakit yang kronis, sedangkan penurunan persentase rata-rata eosinophil (eosinopenia) terjadi pada kondisi penyakit akut. Respon eosinofilia yang terjadi bukan merupakan akibat dari kondisi karena adanya parasit atau respon alergi, tetapi akibat adanya beragam penyakit kronis yang menyebabkan degranulasi sel mast secara terus menerus. Fungsi eosinofil adalah mensekresikan isi granularnya sebagai respon terhadap adanya infeksi parasit (Jain, 1993).

Hasil pengujian statistik analisis ragam (ANOVA) terhadap data persentase limfosit, monosit, neutrofil dan eosinofil terdapat perbedaan nyata dengan nilai signifikan ($p < 0,05$). Hal ini menjelaskan bahwa pemberian perlakuan konsentrasi limbah cair batik hasil biosorpsi selama 7 hari berpengaruh terhadap rata-rata limfosit, monosit, neutrofil dan eosinofil ikan mas, tetapi nilai rerata limfosit pada setiap kelompok konsentrasi mengalami penurunan dibandingkan dengan kontrol. Persentase rerata limfosit terus menurun seiring dengan peningkatan konsentrasi yang diberikan sedangkan persentase monosit, neutrofil dan eosinofil meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi.

Tabel 1. Kualitas air yang diamati dalam penelitian.

Parameter Lingkungan	Konsentrasi (% v.v ⁻¹)			
	K0 (0,00)	K1 (1,32)	K2 (2,64)	K3 (3,96)
Suhu	24	23,5	23	23
Ph	6	6	6	6
DO (mg/L)	6,8-7,6	6,8-7,6	6,2-7,4	6,8-8

Kualitas air yang diamati selama penelitian berlangsung adalah suhu, oksigen terlarut (DO) dan pH (Tabel 1), suhu selama pemeliharaan berkisar 23-24°C. Menurut Rachmaningrum *et al.* (2015), kisaran suhu air yang baik dalam kehidupan ikan yaitu berkisar antara 23-32°C. Suhu didalam perairan mempengaruhi proses kelarutan logam berat yang masuk ke dalam suatu perairan. Jika semakin tinggi suhu perairan maka kelarutan logam berat akan semakin tinggi pula (Wardhana, 2004). Nilai pH pada media pemeliharaan yaitu 6, nilai tersebut dalam penelitian berada pada kisaran yang optimal untuk pertumbuhan ikan mas. Tinggi rendahnya pH

sangat berpengaruh terhadap kadar kandungan logam. Menurut Effendi (2003) bahwa toksisitas logam memperlihatkan peningkatan pada pH yang rendah, sehingga pH yang rendah maka toksisitas Cr (krom) tinggi.

Hasil pengukuran oksigen terlarut memiliki kisaran 6,2 – 8, kisaran oksigen terlarut ini masih optimal untuk kehidupan ikan mas. Menurut Asmawi (1984) menyatakan bahwa kisaran oksigen terlarut tidak boleh < 4 . Kandungan oksigen yang rendah menyebabkan ikan akan bernafas dengan cepat, sehingga menyebabkan insang membuka dan menutup lebih cepat dan mengakibatkan masuknya ion logam melalui insang (Kordi 2004). Kualitas air selama penelitian pada tabel 1 menunjukkan bahwa kondisi differensial leukosit bukan dipengaruhi pH, suhu, dan DO melainkan krom (Cr).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan dapat disimpulkan limbah cair batik hasil biosorpsi berpengaruh differensial leukosit ikan mas, yaitu peningkatan neutrofil, monosit, eosinofil dan penurunan limfosit. Konsentrasi limbah cair batik hasil biosorpsi yang paling berpengaruh yaitu 75% nilai LC50 96 jam sebesar 3,96 %v.v⁻¹.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada LPPM Unsoed, yang telah membiayai penelitian ini dengan dana dari Program DIPA-BLU Universitas Jenderal Soedirman dengan nomor kontrak 2461/UN23.14/PN/2018 pada tahun 2018.

DAFTAR PUSTAKA

- Affandi, R. & Tang, U.M. 2002. *Fisiologi Hewan Air*. Riau: Uni press.
- Andriani, R. & Hartini. 2017. Toksisitas Limbah Cair Industri Batik Terhadap Morfologi Sistik Ikan Nila Gift (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal SainHealth*, 1(2), pp. 32-40.
- Asfari'ah, N., Alno, M. & Ridwanto, W. 2015. Uji Toksisitas Sublethal dengan menggunakan Piretroid sintetis 0,10 ppm terhadap Benih Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). *Ekotoksikologi Perairan*, 1(1), pp. 1-17.
- Asmawi, S. 1984. *Pemeliharaan Ikan dan Ekosikologi Pencemaran*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Berne & Levy, 2001. *Physiology*. 6 Ed. Canada: Mosby.
- Destiany, M. 2007. *Pengaruh Pemberian Merkuri Klorida Terhadap Struktur Mikroanatomi Hati Ikan Mas*. Semarang: Universitas Negeri Semarang.
- Effendi, H. 2003. *Telaah Kualitas Air bagi Pengelolaan Sumber Daya dan Lingkungan Perairan*. Yogyakarta: Kanisius.

- Handari, S.S. 1983. *Metode Pewarnaan*. Jakarta: Bhatara Karya Aksara.
- Hedayati, A. 2012. Effect of Marine Mercury Toxicity on Immunological Responses of Seabream. *Asian Journal of Animal Sciences*, 6, pp.1-12.
- Iman, K.N. Riauwaty, M. & Syawal, H. 2017. Leukocytes Differentiation of Pangasius hypothalmus that were Feed with Curcumin Extract from Curcuma domestica V. *Jurnal Online Mahasiswa Faperika UNRI*, 4(1), pp. 1-14.
- Irhamni, Pandia, S. Purba, E. & Hasan, W. 2017. Serapan Logam Berat Esensial dan Non Esensial pada Air Lindi TPA Kota Banda Aceh dalam Mewujudkan Pembangunan Berkelanjutan. *Serambi Engineering*, II(3), pp. 2528-3561.
- Jain, N., 1993. *Essential. of Veteriner Hematology*. USA: Lea and Febiger.
- Jyoti, S. & Langer, S., 2014. Effect of Manganese on haematological parameters of fish Garra gotyla gotyla. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 2(3), pp. 77-81
- Kurniawan, M.W.P. & S. 2013. Kajian Pengelolaan Air Limbah Sentra Industri Kecil Dan Menengah Batik Dalam Perspektif Good Governance Di Kabupaten Sukoharjo. Semarang, Prosiding Seminar Nasional Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan.
- Kordi, K. 2004. *Penanggulangan hama dan penyakit ikan*. Jakarta : Rineka Cipta Bina Adiaksara.
- Khairuman & Sudenda, D., 2002. *Budidaya Patin Secara Intensif*. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Lestari, S., Sudarmadji, Tandjung, S.D. & Santosa, S.J. 2017. Lethal Toxicity of Batik Waste Water Bio- Sorption Result in Tilapia. *Advanced Science Letter*, 23, pp. 2611-2613.