

**PROFIL DARAH DAN STRUKTUR MIKROANATOMI INSANG BELUT SAWAH
(*Monopterus albus* Zuiew) SETELAH PAPARAN HERBISIDA PARAQUAT DIKLORIDA
(*BLOOD PROFILE AND MICROANATOMIC STRUCTURE OF THE GILLS OF POWDER
EEL (*Monopterus albus* Zuiew) AFTER EXPOSURE TO THE HERBICIDE PARAQUAT
DICHLORIDE*)**

Wulandari Maulaningrum¹, Diah Wulandari Rousdy¹, Ari Hepi Yanti¹

Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Tanjungpura, Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak, Indonesia
email: wulandari30088@gmail.com

Abstrak

Herbisida paraquat diklorida sulit terdegradasi secara biologis dan banyak digunakan di lahan pertanian yang merupakan habitat belut sawah. Efek toksik herbisida paraquat diklorida dalam suatu lingkungan dapat dilihat dari perubahan nilai hematologi suatu hewan, salah satunya belut sawah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui nilai hematologi dan struktur mikroanatomi insang belut sawah setelah paparan herbisida paraquat diklorida. Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Kelompok dengan 4 ulangan dan 5 perlakuan, yaitu kontrol, 1,5 ppm, 2,76 ppm, 4,14 ppm dan 5,52 ppm. Paparan herbisida paraquat diklorida dengan konsentrasi 2,76 ppm, 4,14 ppm dan 5,52 ppm menunjukkan adanya penurunan yang nyata dibandingkan kontrol pada total eritrosit, total leukosit, kadar hemoglobin, nilai hematokrit, MCV, MCH, dan jumlah limfosit. Jumlah monosit dan neutrofil juga mengalami perubahan berupa peningkatan yang nyata dibandingkan kontrol. Penurunan tertinggi pada total leukosit sebesar 45% dan pada leukosit diferensial terjadi kenaikan tertinggi pada jumlah neutrofil sebesar 176%. Paparan paraquat diklorida menyebabkan hipertrofi, hemoragi, dan fusi filamen insang belut sawah.

Kata kunci : hematologi, insang, *Monopterus albus*, dan paraquat diklorida

Abstract

The paraquat dichloride herbicide is difficult to degrade biologically, and it is widely used in agricultural land, which is the habitat of rice field eels. The toxic effect of the paraquat dichloride herbicide in an environment can be seen from changes in the hematological values of an animals, one of which is the rice field eel. The aim of this research is to determine the hematological value and microanatomical structure of rice field eel gills after exposure to paraquat dichloride herbicide. This study used a randomized block design with four replications and five treatments: control, 1,5 ppm, 2,76 ppm, 4,14 ppm and 5,52 ppm. Exposure to paraquat dichloride herbicide at concentrations of 1,5 ppm, 2,76 ppm, 4,14 ppm, and 5,52 ppm a noticeable decrease over control of total erythrocytes, total leukocytes, hemoglobin levels, hematocrit values, MCV, MCH, and lymphocyte counts. The number of monocytes and neutrophils has also undergone noticeable improvements over control. The highest decrease in total leukocytes was 45% and in differential leukocytes the highest increase was in the number of neutrophils by 176%. Exposure to paraquat dichloride herbicides causes hypertrophy, hemorrhages, and fusion of rice eel gill filaments.

Keywords: gill, hematology, *Monopterus albus*, paraquat dichloride

PENDAHULUAN

Belut sawah (*Monopterus albus* Zuiew) merupakan salah satu jenis ikan air tawar yang banyak digemari oleh masyarakat karena mudah ditemukan dan memiliki kandungan gizi yang cukup tinggi terutama kandungan proteinnya. Selain itu, belut juga termasuk komoditi yang bernilai ekonomis. Belut hidup di perairan tawar seperti sungai, danau, rawa-rawa dan sawah. Lahan pertanian sebagai habitat belut sawah tidak lepas dari penggunaan herbisida yang merupakan upaya pengendalian gulma atau tumbuhan pengganggu. Herbisida merupakan bahan kimia beracun yang apabila digunakan secara berlebihan akan berbahaya. Herbisida dengan bahan aktif paraquat diklorida merupakan herbisida yang banyak digunakan di lahan pertanian. Senyawa paraquat diklorida sulit terdegradasi secara biologis dan stabil pada suhu, tekanan dan pH normal. Hal ini dapat mengakibatkan residu herbisida paraquat terakumulasi dalam tanah, produk-produk pertanian,

pencemaran pada lingkungan pertanian dan perairan, penurunan produktivitas hasil pertanian serta keracunan pada manusia dan hewan (Arfi, 2015).

Efek toksik polutan kimia dalam suatu lingkungan dapat diuji dengan menggunakan hewan yang terpapar oleh bahan toksikan tersebut, salah satunya dengan melihat hematologinya. Nilai hematologi normal dan perubahannya sebagai respon terhadap suatu penyakit merupakan data penting untuk manajemen kesehatan hewan (Lander *et al.* 2003). Penelitian yang dilakukan oleh Hashemi *et al.* (2017) pada ikan binni (*Mesopotamichthys sharpeyi*) menunjukkan terjadi penurunan secara signifikan pada eritrosit, leukosit, konsentrasi hemoglobin, persen hematokrit dan indeks darah seperti MCV (*Means Corpuscular Volume*), MCH (*Means Corpuscular Haemoglobin*) dan MCHC (*Means Corpuscular Haemoglobin Concentration*) setelah paparan paraquat diklorida selama 96 jam. Masuknya herbisida ke dalam tubuh belut dapat melalui alat pernapasan (insang), permukaan tubuh (penetrasi kulit) dan melalui rantai makanan, sehingga efek toksikan juga dapat dilihat dari gambaran histologi insang ikan. Hal ini karena insang merupakan organ yang berhubungan langsung dengan bahan toksik di perairan (Ummah, 2015). Ladipo *et al.* (2011) menyatakan paparan paraquat diklorida terhadap ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) menyebabkan perubahan histopatologi pada organ insang berupa luka, nekrosis, pigmentasi, peradangan dan pertumbuhan sel tidak terkendali. Berdasarkan latar belakang tersebut, maka tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui profil hematologi darah dan struktur mikroanatomi insang belut sawah (*M. albus*) setelah paparan herbisida paraquat diklorida.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari hingga September 2022 dan dilakukan di Laboratorium Zoologi dan Laboratorium Biologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura, Pontianak. Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah akuarium, hemositometer, pipet Thoma, tabung Sahli, mikroskop cahaya, mikrosentrifus, mikropipiler, mikrotube, pisau bedah, cawan petri, oven, *hot plate*, mikrotom, *staining jar*, kaca objek, kaca penutup, termometer, pH meter, pipet tetes, spuit, alat tulis lengkap, batang pengaduk, erlenmeyer, kertas label, kertas saring, *tally counter*, timbangan analitik dan tisu.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah akuades, alkohol (30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 96% dan 100%), antikoagulan Titriplek III, asam asetat, *Buffer Neutral Formalin* (BNF) 10%, *canada balsam*, formaldehida, giemsa, HCl 0,1 N, Hematoxylin-Eosin (HE), Herbisida Gramoxone 276 SL (Paraquat Diklorida 276 g/l), Parnetil violet, minyak cengkeh, kalium fosfat (KH_2PO_4), natrium klorida (NaCl), natrium fosfat (Na_2HPO_4), natrium sulfat (Na_2SO_4), parafin dan xilol.

a. Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 5 perlakuan, yaitu perlakuan I (kontrol) tanpa pemberian paraquat diklorida, perlakuan II paraquat diklorida 1,5 ppm, perlakuan III paraquat diklorida 2,76 ppm, perlakuan IV paraquat diklorida 4,14 ppm dan perlakuan V paraquat diklorida 5,52 ppm. Setiap perlakuan terdiri dari 4 ulangan, masing-masing ulangan terdiri dari 3 individu belut sawah dan pengujian dilakukan selama 96 jam.

b. Sampel Belut Sawah (*M. albus*)

Sampel belut sawah (*M. albus*) diperoleh dari pencari belut di lahan pertanian sawah Pontianak dengan panjang tubuh 29,5-57,5 cm. Belut sawah kemudian diaklimasi selama 1 minggu di dalam akuarium dengan ukuran $\pm 30 \times 25,5 \times 19,5$ cm, volume air 10 liter dengan suhu normal 26 - 32°C, pH normal air tawar 5,0 – 7,0 (Yusriadi *et al.*, 2017). Selama aklimasi belut sawah diberi pakan alami berupa jangkrik. Sebelum diberi perlakuan, belut sawah dipuasakan selama 1 hari.

c. Prosedur Pembuatan Larutan Natt-Herrick's

Larutan Natt-Herrick's digunakan untuk perhitungan eritrosit dan leukosit. Bahan – bahan pembuatannya adalah natrium klorida (NaCl) 3,88 g, natrium sulfat (Na_2SO_4) 2,50 g, natrium fosfat (Na_2HPO_4) 1,74 g, kalium fosfat (KH_2PO_4) 0,25 g, formaldehida 7,50 mL dan metil violet 0,10 g

ditambahkan ke dalam akuades 1000 mL lalu diaduk. Larutan ini didiamkan semalaman dan disaring sebelum digunakan (Thrall *et al.*, 2022).

d. Pengambilan Sampel Darah

Pembiusan belut sawah (*M. albus*) menggunakan minyak cengkeh dengan volume 1 ml/L air. Sampel darah diambil sebanyak 1 mL menggunakan spuit pada bagian *intravena* diventral anus. Darah ditampung dalam mikrotube yang telah diisi antikoagulan Titriplek III dengan berat ± 1 mg. Selanjutnya mikrotube diberi label sebagai tanda.

e. Perhitungan Jumlah Eritrosit

Penghitungan jumlah total eritrosit dilakukan dengan menggunakan hemositometer. Darah diencerkan dalam pipet Thoma kemudian dihitung dalam hemositometer dan diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 10x40 lalu dihitung dengan menggunakan *tally counter*. Jumlah eritrosit dihitung dengan rumus berikut (Aditama, 2012) :

$$\text{Jumlah eritrosit (sel/}\mu\text{L)} = \frac{\text{jumlah eritrosit}}{80} \times 4000 \times 200$$

Means Corpuscular Volume (MCV) untuk mengetahui ukuran sel eritrosit pada sampel darah yang diambil saat pemeriksaan dihitung dengan rumus berikut (Greer *et al.*, 2019) :

$$\text{MCV (fL)} = \frac{\text{Hematokrit (\%)}}{\text{Eritrosit (10}^6\text{/}\mu\text{L)}} \times 10$$

f. Perhitungan Jumlah Leukosit

Leukosit diferensial dibuat dengan metode preparat apus menggunakan pewarna Giemsa. Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop cahaya dengan menghitung jenis – jenis leukosit sebanyak 100 sel. Penghitungan jumlah total leukosit dilakukan dengan hemositometer, darah diencerkan dalam pipet Thoma kemudian dihitung dalam hemositometer dan diamati di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 10x40 lalu dihitung dengan *tally counter*. Jumlah leukosit dihitung dengan rumus berikut (Rousdy & Linda, 2018) :

$$\text{Jumlah leukosit (sel/}\mu\text{L)} = \frac{\text{jumlah leukosit}}{64} \times 160 \times 200$$

g. Penentuan Kadar Hemoglobin

Penentuan kadar hemoglobin dengan menggunakan metode Sahli. Larutan HCl 0,1 N dimasukkan ke dalam tabung Sahli hingga pada skala 10, lalu ditambahkan darah yang akan diuji sebanyak 20 mL, diaduk menggunakan batang pengaduk sampai homogen. Selama pengadukan lakukan penambahan akuades sedikit demi sedikit. Setelah homogen, warna darah disamakan dengan warna larutan standar. Kadar hemoglobin (g/dL) dari sampel darah adalah angka yang ditunjukkan pada dinding tabung oleh permukaan cairan dalam tabung.

Means Corpuscular Haemoglobin Concentration (MCHC) untuk menghitung konsentrasi rata-rata hemoglobin pada setiap sel darah merah dengan rumus berikut (Greer *et al.*, 2019) :

$$\text{MCHC (g/dL)} = \frac{\text{Hemoglobin (g/dL)}}{\text{Hematokrit (\%)}} \times 100$$

Means Corpuscular Haemoglobin (MCH) untuk menghitung jumlah atau berat rata-rata hemoglobin pada setiap sel darah merah dalam tubuh, dihitung dengan rumus berikut (Greer *et al.*, 2019) :

$$\text{MCH (pg)} = \frac{\text{Hemoglobin (g/dL)}}{\text{Eritrosit (10}^6\text{/}\mu\text{L)}} \times 10$$

h. Penentuan Nilai Hematokrit

Sampel darah diambil dengan menggunakan tabung mikrokapiler hematokrit, ujung mikrokapiler disumbat dengan plastisin. Selanjutnya masukkan tabung kapiler ke dalam mikrosentrifus dan disentrifuse dengan kecepatan 10.000 rpm selama lima menit. Nilai hematokrit dibaca dengan skala ukur hematokrit dalam satuan persen, dengan rumus sebagai berikut (Suwanto *et al.*, 2016) :

$$\text{Nilai hematokrit (\%)} = \frac{\text{Volume sel darah}}{\text{Volume darah}} \times 100\%$$

i. Pembuatan Preparat Insang

Belut sawah yang telah dibius, dibedah dan diambil insang bagian kanan. Preparat histologi insang dibuat dengan metode paraffin, tahapan fiksasi menggunakan asam asetat dan *Buffer Neutral Formalin* (BNF) 10% dan tahap dehidrasi menggunakan alkohol konsentrasi bertingkat 50-100% serta penjernihan menggunakan xilol. Kemudian infiltrasi dan penanaman dalam paraffin. Blok preparat diiris menggunakan mikrotom putar dengan ketebalan 6-8 μm . Pita sayatan kemudian diwarnai dengan metode Hematoxylin-Eosin (HE). Irisan preparat ditutup menggunakan canada balsam dan gelas penutup. Preparat insang diamati di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 40, 100 dan 400 kali sesuai dengan kejelasan objek. Setiap insang dibuat preparat sayatan sebanyak 2 *object glass* per perlakuan dan setiap *object glass* terdapat lima sayatan insang.

j. Parameter Kualitas Air

Parameter kualitas air yang diukur saat paparan meliputi suhu dengan menggunakan termometer, pH air dengan menggunakan pH meter dan DO (oksigen terlarut) menggunakan DO meter.

k. Analisis Data

Parameter yang diamati pada penelitian ini berupa nilai hematologi dan mikroanatomi insang belut sawah sebelum dan sesudah paparan. Parameter yang dianalisis yaitu nilai hematologi belut sawah meliputi jumlah eritrosit dan leukosit total, leukosit diferensial, kadar hemoglobin, nilai hematocrit, MCV, MCH dan MCHC. Parameter histologi insang dianalisis secara deskriptif seperti fusi lamela, hiperplasia dan hipertrofi. Analisis data menggunakan Anova satu arah dan dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan untuk parameter darah. Uji statistik dilakukan pada derajat kepercayaan 95% dan signifikansi α 0,05.

HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Nilai Hematologi Belut Sawah (*M. albus*)

Belut sawah (*M. albus*) yang terpapar herbisida paraquat diklorida menunjukkan perbedaan nilai hematologi sebelum dan setelah paparan. Hasil rerata total eritrosit dan MCV setelah paparan terjadi penurunan yang signifikan pada konsentrasi 5,52 ppm dibandingkan dengan kontrol (0 ppm). Rerata total leukosit terjadi penurunan yang signifikan pada konsentrasi 2,76 ppm, 4,14 ppm dan 5,52 ppm. Kadar hemoglobin juga terjadi penurunan yang signifikan pada konsentrasi 4,14 ppm dan 5,52. Kadar hematokrit terjadi penurunan yang signifikan pada konsentrasi 1,5 ppm, 2,76 ppm, 4,14 ppm dan 5,52 dibandingkan dengan kontrol (0 ppm). Parameter MCH dan MCHC tidak terjadi penurunan yang signifikan pada semua konsentrasi. Nilai hematologi terendah terdapat pada konsentrasi 5,52 ppm paraquat diklorida (Tabel 1).

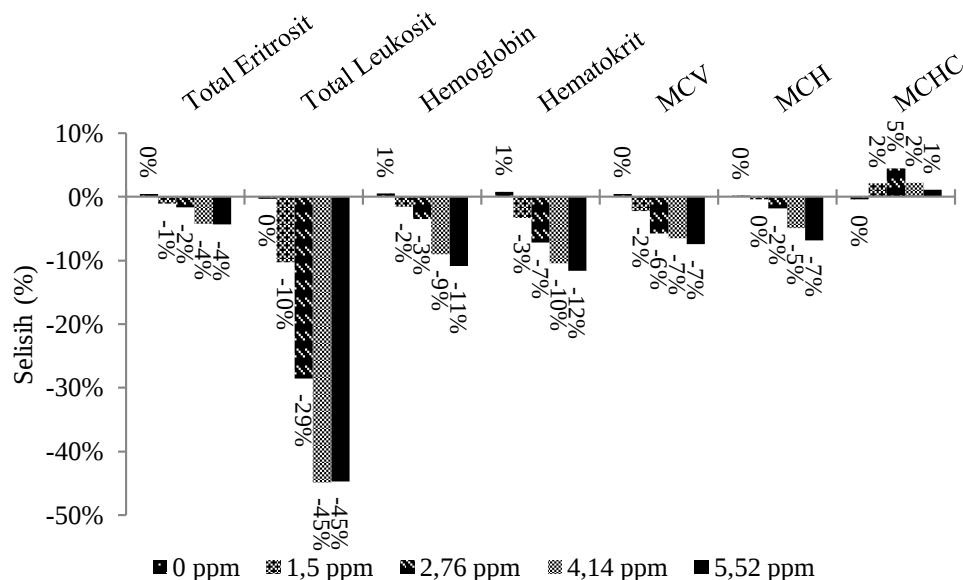
Selisih nilai hematologi belut sawah sebelum dan setelah paparan herbisida paraquat diklorida ditunjukkan pada Gambar 1. Angka negatif menunjukkan adanya penurunan nilai hematologi dan angka positif menunjukkan adanya peningkatan nilai hematologi. Penurunan tertinggi terjadi pada total leukosit dengan konsentrasi 5,52 ppm sebesar 45% dan peningkatan tertinggi pada MCHC dengan konsentrasi 2,76 ppm sebesar 5%.

Tabel 1. Hasil Pengukuran Hematologi Belut Sawah (*M. albus*) pada Paparan Herbisida Paraquat Diklorida

Hematologi		Perlakuan				
		0 ppm	1,5 ppm	2,76 ppm	4,14 ppm	5,52 ppm
Total Eritrosit ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	Sebelum	2,41 $\pm$ 0,09 ^a	2,39 $\pm$ 0,07 ^a	2,40 $\pm$ 0,10 ^a	2,37 $\pm$ 0,08 ^a	2,31 $\pm$ 0,08 ^a
	Setelah	2,42 $\pm$ 0,09 ^b	2,37 $\pm$ 0,08 ^b	2,36 $\pm$ 0,10 ^b	2,28 $\pm$ 0,11 ^{ab}	2,21 $\pm$ 0,08 ^a
Total Leukosit ($\times 10^5/\mu\text{L}$)	Sebelum	0,76 $\pm$ 0,08 ^a	0,78 $\pm$ 0,02 ^a	0,77 $\pm$ 0,05 ^a	0,78 $\pm$ 0,07 ^a	0,76 $\pm$ 0,04 ^a
	Setelah	0,76 $\pm$ 0,07 ^c	0,70 $\pm$ 0,02 ^c	0,55 $\pm$ 0,12 ^b	0,43 $\pm$ 0,05 ^a	0,42 $\pm$ 0,05 ^a
Kadar Hemoglobin (g/dL)	Sebelum	11,72 $\pm$ 0,27 ^a	11,83 $\pm$ 0,17 ^a	11,89 $\pm$ 0,22 ^a	11,98 $\pm$ 0,08 ^a	11,83 $\pm$ 0,15 ^a
	Setelah	11,78 $\pm$ 0,25 ^c	11,65 $\pm$ 0,16 ^c	11,48 $\pm$ 0,14 ^c	10,90 $\pm$ 0,32 ^b	10,55 $\pm$ 0,52 ^a
	Sebelum	51,42 $\pm$ 1,34 ^{ab}	50,75 $\pm$ 1,10 ^{ab}	52,50 $\pm$ 3,14 ^b	52,08 $\pm$ 2,54 ^{ab}	48,00 $\pm$ 0,98 ^a

Nilai Hematokrit (%)	Setelah	51,83±1,29 ^c	49,08±1,66 ^b	47,83±2,20 ^b	46,67±3,62 ^b	42,42±3,71 ^a
MCV (10 ⁻⁵ /fL)	Sebelum	21,33±0,34 ^a	21,28±0,95 ^a	21,55±1,27 ^a	21,97±1,4 ^a	20,79±0,53 ^a
	Setelah	21,42±0,57 ^b	20,80±1,12 ^{ab}	20,36±1,4 ^{ab}	20,54±2,08 ^{ab}	19,24±0,34 ^a
MCH (10 ⁻⁵ /pg)	Sebelum	4,86±0,21 ^a	4,96±0,14 ^a	4,98±0,26 ^a	5,06±0,16 ^a	5,13±0,24 ^a
	Setelah	4,87±0,22 ^a	4,93±0,11 ^a	4,89±0,23 ^a	4,80±0,32 ^a	4,78±0,20 ^a
MCHC (g/dL)	Sebelum	22,81±0,68 ^a	23,38±0,78 ^a	23,07±0,4 ^a	23,11±1,21 ^a	24,69±0,71 ^a
	Setelah	22,74±0,42 ^a	23,87±1,18 ^a	24,11±1,39 ^a	23,62±2,40 ^a	24,98±0,53 ^a

Keterangan: Nilai yang diikuti oleh huruf superscript yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata pada taraf $\alpha=0,05$.



Gambar 1. Persentase Selisih Nilai Hematologi Belut Sawah (*M. albus*)

b. Nilai Leukosit Diferensial Belut Sawah (*M. albus*)

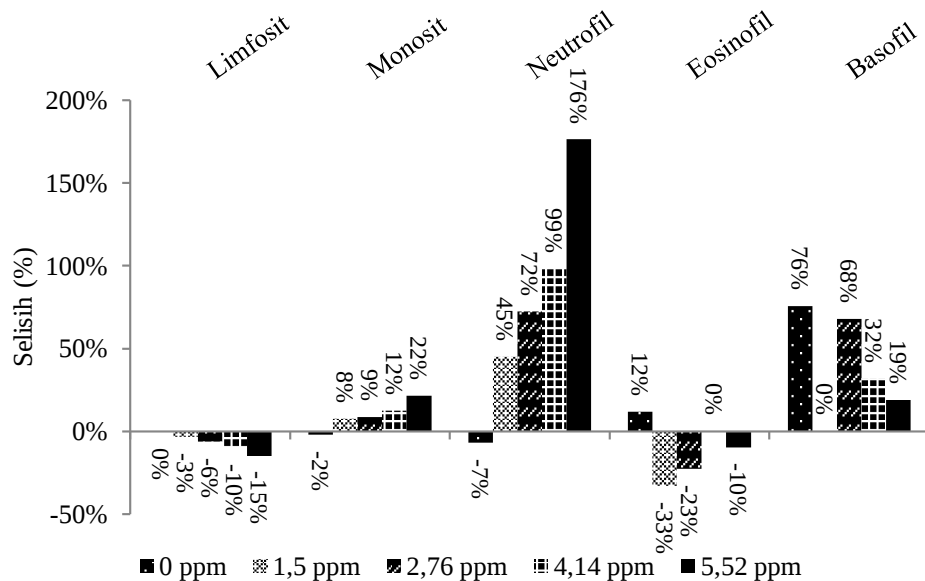
Paparan herbisida paraquat diklorida pada belut sawah (*M. albus*) juga memengaruhi jumlah leukosit diferensial. Jumlah limfosit dan neutrofil mengalami peningkatan secara signifikan setelah paparan paraquat diklorida dengan konsentrasi 2,76 ppm, 4,14 ppm dan 5,52 ppm dibandingkan dengan kontrol (0 ppm) (Tabel 2). Selisih nilai leukosit diferensial belut sawah sebelum dan setelah paparan herbisida paraquat diklorida ditunjukkan pada Gambar 2. Grafik negatif menunjukkan adanya penurunan dan grafik positif menunjukkan adanya peningkatan. Paparan herbisida paraquat diklorida menyebabkan penurunan pada limfosit dan eosinofil serta peningkatan pada monosit, neutrofil, dan basofil. Penurunan tertinggi terjadi pada eosinofil dengan konsentrasi 1,5 ppm sebesar 33% dan peningkatan tertinggi pada neutrofil dengan konsentrasi 5,52 ppm sebesar 176%.

Tabel 2. Hasil Pengukuran Leukosit Diferensial Belut Sawah (*M. albus*) pada Paparan Herbisida Paraquat Diklorida

Jenis Leukosit (%)		Perlakuan				
		0 ppm	1,5 ppm	2,76 ppm	4,14 ppm	5,52 ppm
Limfosit	Sebelum	79,08±2,7 ^a	79,42±1,32 ^a	77,58±2,99 ^a	77,92±2,48 ^a	78,00±1,7 ^a
	Setelah	78,83±2,59 ^c	76,83±1,73 ^c	72,67±3,50 ^b	70,00±2,74 ^{ab}	66,50±0,88 ^a
Monosit	Sebelum	17,00±0,72 ^a	15,58±2,54 ^a	16,58±3,2 ^a	14,67±1,74 ^a	16,17±2,7 ^a
	Setelah	16,67±1,90 ^a	16,75±2,32 ^a	18,00±4,45 ^a	16,50±2,04 ^a	19,92±2,47 ^a
Neutrofil	Sebelum	3,67±0,9 ^a	3,5±3,29 ^a	4,83±1,55 ^a	6,08±1,26 ^a	4,58±1,34 ^a
	Setelah	3,42±0,50 ^c	5,08±2,99 ^c	8,33±1,86 ^b	12,08±0,88 ^a	12,83±1,40 ^a
Eosinofil	Sebelum	0,67±0,54 ^a	1,00±0,27 ^a	0,75±0,69 ^a	1,08±0,57 ^a	0,83±0,58 ^a
	Setelah	0,75±0,42 ^a	0,67±0,27 ^a	0,58±0,32 ^a	1,08±0,32 ^a	0,75±0,32 ^a
Basofil	Sebelum	0,33±0,27 ^a	0,67±0,27 ^a	0,25±0,32 ^a	0,25±0,32 ^a	0,42±0,42 ^a

Setelah $0,58 \pm 0,32^a$ $0,67 \pm 0,27^a$ $0,42 \pm 0,32^a$ $0,33 \pm 0,27^a$ $0,33 \pm 0,27^a$

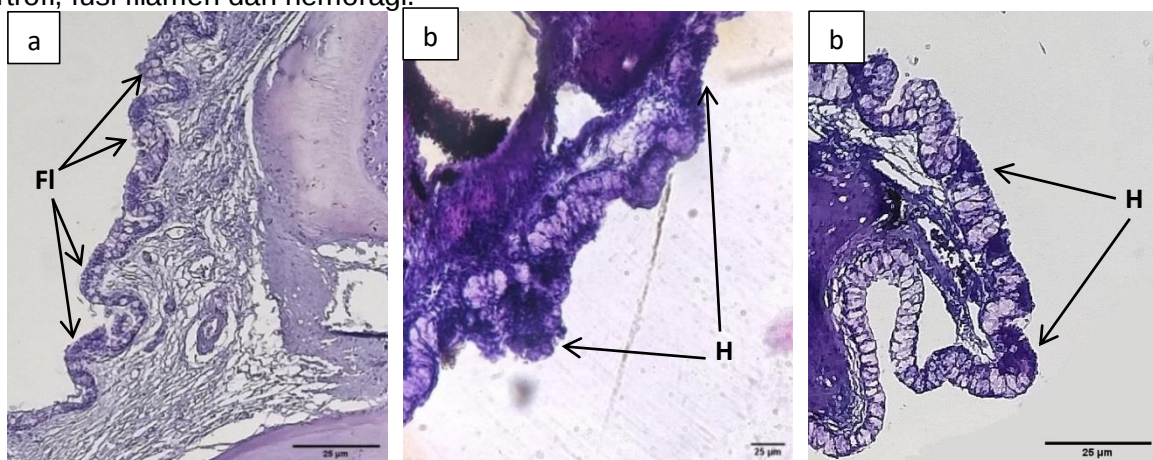
Keterangan: Nilai yang diikuti oleh huruf *superscript* yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata pada taraf $\alpha=0,05$.

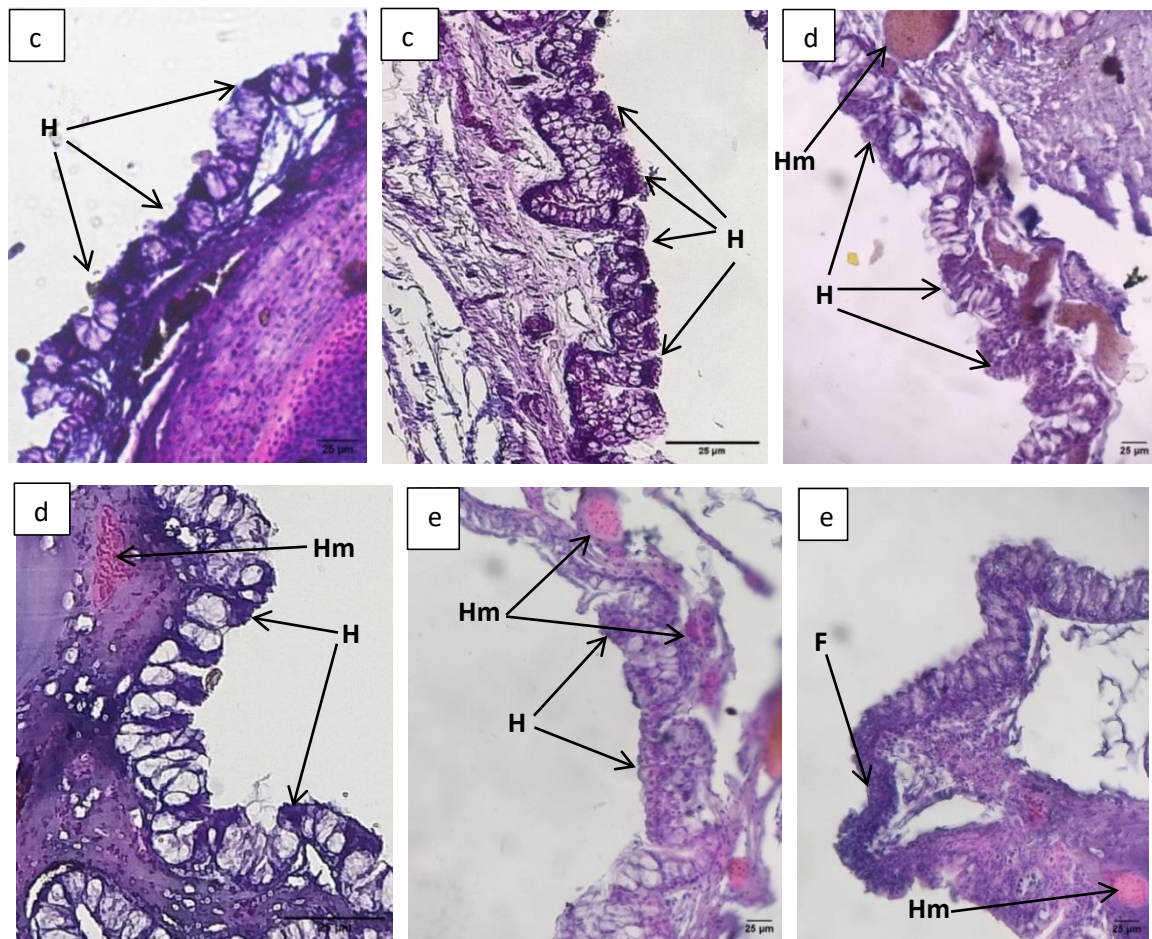


Gambar 2. Persentase Selisih Nilai Leukosit Diferensial Belut Sawah (*M. albus*)

c. Struktur Mikroanatomi Insang Belut Sawah (*M. albus*)

Insang belut sawah tidak terlalu menonjol dan memiliki filamen tumpul seperti tunas kecil yang hanya ada pada pasangan kedua insang serta tidak memiliki lamela insang. Hasil pengamatan mikroanatomi insang belut sawah setelah paparan herbisida paraquat diklorida ditemukan mengalami kerusakan yang ditandai adanya perubahan struktur. Kerusakan insang pada konsentrasi 1,5 ppm dan 2,76 ppm berupa hipertrofi, pada konsentrasi 4,14 ppm kerusakan insang berupa hipertrofi dan hemoragi, sedangkan kerusakan insang pada konsentrasi 5,52 ppm berupa hipertrofi, fusi filamen dan hemoragi.





Gambar 3. Mikroanatomi Insang Belut Sawah (*M. albus*) yang Terpapar Paraquat Diklorida pada Berbagai Perlakuan (a. 0 ppm, b. 1,5 ppm, c. 2,76 ppm, d. 4,14 ppm, e. 5,52 ppm). Kerusakan yang Terjadi Berupa (F) Fusi Filamen, (H) Hipetrofi dan (Hm) Hemoragi; Filamen Insang (FI) (Pewarnaan HE, Perbesaran 400X)

d. Hasil Pengukuran Parameter Kualitas air

Parameter lingkungan yang diukur berupa suhu air, pH air dan DO (oksigen terlarut). Hasil pengukuran suhu air terendah pada 25,9 °C dan tertinggi pada 28,8 °C. Nilai pH terendah adalah 6 dan tertinggi adalah 7. Nilai DO terendah pada 4,7 ppm dan tertinggi pada 6,6 ppm. Parameter kualitas air ini masih dalam rentang baku mutu (Tabel 3).

Tabel 3. Hasil Pengukuran Parameter Kualitas Air

Parameter	P1	P2	P3	P4	P5	Baku mutu
Suhu (°C)	26,3-28,8	26,2-28,8	25,9-28	26-28	25,9-28	25-32
pH	6-7	6-7	6-7	6-7	6-7	6-7
DO (ppm)	4,7-6,4	4,9-6,5	4,7-6,6	4,7-6,5	5,2-6,5	>3

Sumber baku mutu (Siregar *et al.*, 2021)

Pembahasan

Hasil penelitian ini menunjukkan rata-rata nilai total eritrosit setelah paparan paraquat diklorida mengalami penurunan yang berbeda nyata dengan kontrol (Tabel 1). Penurunan total eritrosit ini disebabkan oleh peningkatan produksi radikal bebas berupa *Reactive Oxygen Species* (ROS) oleh paraquat yang menyebabkan peroksidasi lipid penyusun membran sel eritrosit. Peroksidasi lipid merupakan patofisiologi pertama dari intoksikasi paraquat diklorida. ROS dalam kondisi normal memiliki peran penting dalam persinyalan sel dan hemostasis serta fungsi pembuluh darah. Produksi

ROS yang berlebih akan menyebabkan stress oksidatif yang dapat mengganggu suplai oksigen dan mempercepat penuaan eritrosit (Gwozdinski *et al.*, 2021). Peroksidasi membran eritrosit menyebabkan hemolisis sehingga terjadi penurunan kadar hemoglobin dan hematokrit (Tamam *et al.*, 2012). Hal ini sesuai dengan penelitian Edo (2022), bahwa paparan paraquat diklorida menyebabkan penurunan total eritrosit dan hemoglobin pada tikus jantan dewasa. Penurunan kadar hemoglobin pada kelompok perlakuan juga dapat disebabkan adanya kerusakan pada insang akibat penyerapan toksikan secara terus menerus. Kerusakan insang akan menghambat proses respirasi sehingga oksigen dalam darah berkurang. Menurut Clark *et al.* (1988), paraquat menyebabkan perubahan struktur pada hemoglobin. Interaksi ROS dengan oksihemoglobin dapat membentuk methemoglobin sehingga hemoglobin tidak mampu mengangkut oksigen karena adanya besi (Fe^{3+}). Hal ini menyebabkan tubuh kekurangan oksigen atau yang disebut dengan hipoksia.

MCV mengalami penurunan yang signifikan pada konsentrasi 5,52 ppm dibandingkan dengan kelompok kontrol (Tabel 1). MCV merupakan ukuran atau volume rata-rata eritrosit. MCH juga mengalami penurunan pada semua perlakuan, tetapi tidak signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol (Tabel 1). MCH adalah rata-rata hemoglobin dalam satu eritrosit. Indeks eritrosit ini merupakan salah satu tanda terjadinya anemia. Menurut Edo (2022), pengurangan jumlah nilai indeks eritrosit (MCV, MCH dan MCHC) dapat dikaitkan dengan pengaruh toksik paraquat diklorida pada sistem hemopoietik. Nilai MCHC tidak mengalami penurunan yang signifikan pada semua perlakuan. MCHC merupakan kadar hemoglobin di dalam total eritrosit. Peningkatan MCHC menunjukkan bahwa kadar hemoglobin dalam eritrosit meningkat. Penelitian toksikopatologi paraquat herbisida per-oral pada tikus betina oleh Lalruatfela *et al.* (2014), menyatakan bahwa hasil rata-rata MCV, MCH dan MCHC setelah paparan 28 hari tidak mengalami penurunan yang signifikan disebabkan karena waktu paparan yang tidak terlalu lama.

Perubahan profil hematologi belut sawah setelah paparan herbisida paraquat diklorida dengan konsentrasi yang berbeda pada penelitian ini menunjukkan bahwa efek toksik paraquat memengaruhi sistem hemopoiesis. Paraquat yang ada didalam darah akan diekskresikan melalui ginjal. Paraquat ini juga meningkatkan ROS dan menyebabkan peroksidasi lipid pada mitokondria didalam ginjal sehingga terjadi disfungsi mitokondria yang mengakibatkan terjadinya kerusakan ginjal. Selain disfungsi mitokondria, ginjal juga dapat rusak akibat dari konsentrasi toksikan yang berlebih. Rusaknya ginjal dapat mengganggu proses hemopoiesis karena pada ikan proses ini terjadi di kepala ginjal. Lalruatfela *et al.* (2014), melaporkan adanya perubahan yang signifikan pada total eritrosit, hemoglobin dan hematokrit setelah paparan paraquat dan dibandingkan dengan kelompok kontrol pada tikus betina. Hasil ini menunjukkan kemungkinan paraquat untuk menginduksi anemia dan memengaruhi sistem hemopoiesis. Bhardwaj & Saxena (2014) menyatakan bahwa pemberian paraquat berulang pada waktu tertentu (7, 14 dan 21 hari) menyebabkan penurunan yang signifikan pada jumlah eritrosit darah serta kadar hemoglobin darah tikus. Hasil ini menunjukkan bahwa paraquat menginduksi anemia sementara pada tikus.

Sama halnya dengan total eritrosit, total leukosit pada belut sawah setelah paparan paraquat diklorida juga mengalami penurunan yang signifikan dibandingkan dengan kontrol (Tabel 1). Analisis total leukosit merupakan salah satu indeks yang paling penting dalam mendeteksi adanya keracunan paraquat (Tang *et al.*, 2018). Penurunan total leukosit dapat terjadi karena efek toksik paraquat diklorida memengaruhi proses leukopoiesis. Menurut Hashemi *et al.* (2017), perubahan kadar leukosit setelah paparan herbisida dapat disebabkan adanya gangguan dalam proses hematopoiesis dan melemahnya kekebalan pada ikan.

Leukosit terdiri dari beberapa jenis, yaitu limfosit, monosit, neutrofil, eosinofil dan basofil. Semua jenis leukosit ini memiliki peran dan fungsi yang berbeda dalam sistem kekebalan tubuh. Jumlah leukosit diferensial menunjukkan respon leukosit dalam mencegah adanya penyakit dan peradangan (Purnomo *et al.*, 2015). Jumlah limfosit pada belut sawah mengalami penurunan yang signifikan dibandingkan dengan kontrol (Tabel 2). Hal ini karena limfosit berperan dalam merespon adanya antigen dan stress dengan meningkatkan sirkulasi antibodi dalam sistem imun. Jumlah limfosit dipengaruhi oleh cekaman lingkungan dan stress (Purnomo *et al.*, 2015). Hal ini sesuai dengan penelitian Hashemi *et al.* (2017), bahwa limfosit ikan binni (*Mesopotamichthys sharpeyi*) mengalami penurunan setelah paparan herbisida paraquat diklorida dalam waktu tertentu.

Jumlah monosit dan neutrofil mengalami peningkatan setelah paparan paraquat diklorida dibanding dengan kontrol (Gambar 2 dan Tabel 2). Peningkatan jumlah monosit dan neutrofil dapat disebabkan karena adanya kerusakan pada insang belut sawah berupa hipertrofi dan fusi filamen. Hal ini karena monosit merupakan prekursor sistem fagosit mononuklear sehingga mampu memfagositosis patogen dan merespon peradangan. Neutrofil memiliki peranan yang penting apabila ada kerusakan jaringan yang berkaitan dengan penyakit noninfeksi (Giyartika & Keman, 2020).

Jumlah eosinofil dan basofil mengalami penurunan dan peningkatan tetapi tidak berbeda nyata dibanding kontrol setelah paparan paraquat diklorida. Hal ini dapat dikaitkan dengan fungsi dari dua jenis leukosit ini. Eosinofil berperan dalam proses reaksi alergi dan infeksi parasit (Giyartika & Keman, 2020), sedangkan basofil berperan dalam respon kekebalan tubuh berupa reaksi alergi (Lokapirnasari & Yulianto, 2014).

Berdasarkan pengamatan yang dilakukan pada penelitian ini, insang belut sawah berbeda dengan insang ikan pada umumnya. Belut sawah memiliki filamen tumpul dan tidak memiliki lamela insang. Hal ini dapat dikaitkan dengan habitat belut sawah yang berada pada perairan berlumpur dan belut juga termasuk kelompok ikan *air breathing*, yaitu ikan yang mampu mengambil oksigen langsung dari udara. Menurut Mech *et al.* (2015), insang *Monopterus albus* tidak terlalu menonjol, lengkungan cabang kedua memiliki beberapa bilah kecil seperti filamen. Pangkal filamen insang menyatu dengan lengkung cabang. Struktur filamen berbentuk seperti tunas kecil yang dilapisi oleh sel endotel (Gambar 3). Permukaan filamen ditutupi oleh sel epitel berlapis yang diantaranya terdapat area bantalan mikrovili berbentuk segitiga yang mewakili bagian apikal dari sel klorida.

Stress oksidatif akibat akumulasi paraquat diklorida menyebabkan produksi mukus secara berlebihan sebagai perlindungan alami agar toksikan tidak lagi masuk. Kemudian akan terjadi penumpukan mukus sehingga insang akan mengalami pembengkakan dan kerusakan. Selain karena mukus yang berlebih, insang juga dapat rusak akibat dari sifat korosif paraquat diklorida. Kerusakan pada insang merupakan gejala sekunder dari intoksikasi paraquat diklorida. Paparan herbisida paraquat diklorida dengan konsentrasi yang berbeda pada belut sawah menyebabkan kerusakan pada struktur mikroanatomi insang berupa fusi filament, hipertrofi dan hemoragi (Gambar 3). Hemoragi ditandai dengan adanya spot berwarna merah pada jaringan akibat dari inflamasi pada insang. Inflamasi ini akan menyebabkan pelebaran endotel untuk meningkatkan volume darah. Volume darah yang berlebih akan mengakibatkan pembuluh darah rusak atau pecah sehingga darah akan berada diluar pembuluh darah. Hemoragi ini dapat menyebabkan terganggunya suplai darah. Hasil penelitian sebelumnya oleh Lalruatfela *et al.* (2014), menemukan adanya hemoragi dan kongesti pada hati tikus betina setelah paparan paraquat diklorida. Insang mengalami hipertrofi dengan adanya penebalan dan ditandai dengan penambahan volume sel epitel. Fusi filamen insang dapat terjadi akibat hipertrofi sel secara terus menerus sehingga menyebabkan perlekatan antar filamen. Fusi filamen ini dapat mengurangi efisiensi difusi gas. Badroo & Khanday (2020), menyatakan paparan paraquat diklorida pada konsentrasi akut menyebabkan perubahan histologi pada insang ikan gabus (*Channa punctatus*) berupa vakuola, nekrosis, hipertrofi, edema dan infiltrasi limfosit. Insang kontak langsung dengan air yang mengandung toksikan dan secara berkelanjutan akan menyebabkan destruksi morfologi epitelium insang. Kerusakan epitelium insang ini merupakan respon adaptif untuk mencegah lebih banyak masuknya toksikan (Sudrajat *et al.*, 2020).

Parameter lingkungan yang diukur pada penelitian ini berupa suhu, pH dan oksigen terlarut (DO). Suhu terendah selama penelitian adalah 25°C dan yang tertinggi 28,8°C. Menurut Kordi (2014), kisaran suhu air yang baik untuk hidup belut sawah adalah 22°C-32°C. Parameter pH air yang terukur selama penelitian adalah 6-7. Kordi (2014), menyatakan bahwa belut sawah hidup pada perairan dengan pH 6-7. Oksigen terlarut selama penelitian terendah 4,7 ppm dan tertinggi 6,6 ppm. Nilai oksigen terlarut ini masih tergolong baik untuk perikanan karena lebih dari 3 ppm (Siregar *et al.*, 2021). Berdasarkan baku mutu ini, parameter kualitas air selama penelitian sudah sesuai dan optimal untuk kehidupan belut sawah.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan, dapat disimpulkan bahwa paparan herbisida paraquat diklorida dengan konsentrasi 2,76 ppm, 4,14 ppm, dan 5,52 ppm berpengaruh terhadap profil hematologi darah belut sawah (*M. albus*) berupa penurunan yang nyata dibandingkan kontrol pada total eritrosit, total leukosit, kadar hemoglobin, nilai hematokrit, MCV, MCH, dan jumlah limfosit. Jumlah monosit dan neutrofil juga mengalami perubahan berupa peningkatan yang nyata dibandingkan kontrol. Penurunan tertinggi pada total leukosit dengan konsentrasi 4,14 ppm dan 5,52 ppm paraquat diklorida sebesar 45%. Struktur mikroanatomi insang belut sawah (*M. albus*) setelah paparan paraquat diklorida mengalami kerusakan berupa hipertrofi, fusi filamen insang dan hemoragi.

DAFTAR PUSTAKA

- Aditama, NK. (2012). *Pengaruh Pemberian Polisakarida Krestin dari Ekstrak Coriolus versicolor terhadap Jumlah Eritrosit dan Kadar Hemoglobin pada Mencit yang Terpapar Timbal*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Arfi, F. (2015). Degradasi Senyawa Paraquat dalam Pestisida Gramoxone Secara Sonolisis dengan Penambahan ZnO. *Lantanida Journal*. 3(1):71-81.
- Badroo IA, Khanday AH. (2020). Toxicological Impacts of Herbicide Paraquat Dichloride on Histological Profile (Gills, Liver, and Kidney) Of Freshwater Fish *Channa punctatus* (Bloch). *Environmental Science and Pollution Research*. 27(31):39054–39067.
- Bhardwaj N, Saxena RK. (2014). Elimination of Young Erythrocytes from Blood Circulation and Altered Erythropoietic Patterns during Paraquat Induced Anemic Phase in Mice. *PLoS ONE*. 9(6):1-11.DOI: 10.1371/journal.pone.0099364
- Chang, R. (2005). *Kimia Dasar: Konsep Konsep Inti Jilid 2*. Jakarta: Erlangga.
- Clark MW, Gildersleeve RP, Thaxton JP, Parkhurst CR, Mcree DI. (1988). Hematological Effects of Ethyl Methanesulfonate, Paraquat and Phenylhydrazine in Japanese Quail. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 89C(1):15-30.
- Edo, GI. (2022). Effects of Paraquat Dichloride on Adult Male Wistar Rat. an Approach in the Toxicity of Body Weights and Hematological Tissues. *Journal of Analytical Pharmaceutical Research*. 11(1):1-7.DOI: 10.15406/japlr.2022.11.00394.
- Giyartika F, Keman S. (2020). Perbedaan Peningkatan Leukosit pada Radiografer di Rumah Sakit Islam Jemursari Surabaya. *Jurnal Kesehatan Lingkungan*. 12(2):97-106.DOI: 10.20473/jkl.v12i2.2020.97-106.
- Greer JP, Arber DA, Glader BE, List AF, Means RT, Rodgers GM, et al. (2019). *Wintrobe's Clinical Hematology: Fourteenth Edition*. Philadelphia: Wolters Kluwer Health Pharma Solutions (Europe) Ltd.
- Gwozdzinski K, Pieniazek A, Gwozdzinski L. (2021). Reactive Oxygen Species and Their Involvement in Red Blood Cell Damage in Chronic Kidney Disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 1-19.
- Hashemi RA, Jaddi Y, Sadeghi MA, Ghiamati S, Motazedi M. (2017). Study of Toxicology Effects of Herbicide Paraquat on Hematological Parameters of *Mesopotamichthys sharpeyi*. *Open Journal of Marine Science*. 7:258-270.DOI: [10.4236/ojms.2017.72018](https://doi.org/10.4236/ojms.2017.72018).
- Kordi, MH. (2014). *Budi Daya Belut di Media Air Secara Organik*. Yogyakarta: Penerbit Lily Publisher.
- Ladipo MK, Doherty FV, Oyebadejo S. (2011). Acute Toxicity, Behavioural Changes and Histopathological Effect of Paraquat Dichloride on Tissues of Catfish (*Clarias gariepinus*). *International Journal of Biology*. 3(2):67-74.

- Lalruatfela PL, Saminathan M, Ingole RS, Dhama K, Joshi MV. (2014). Toxicopathology of Paraquat Herbicide in Female Wistar Rats. *Asian Jurnal of Animal and Veterinary Advances*. 9(9):523-542.DOI: 10.3923/ajava.2014.523.542.
- Lander M, Harvey J, Gulland F. (2003). Hematology and Serum Chemistry Comparisons Between Free-Ranging and Rehabilitated Harbor Seal (*Phoca vitulina* Richardsi) Pups. *Journal of Wildlife Diseases*. 39(3):600-609.
- Lokapirnasari WP, Yulianto AB. (2014). Gambaran Sel Eosinofil, Monosit, dan Basofil Setelah Pemberian Spirulina pada Ayam yang Diinfeksi Virus Flu Burung. *Jurnal Veteriner*. 15(4):499-505.
- Mech B, Borah J, Rai A. (2015). Structure and Cells in the Gills of the Three Air-Breathing Fishes *Clarias batrachus*, *Heteropneustes fossilis* and *Monopterus albus*. A Light Microscopical Investigation. *Indian Journal of Applied Research*. 5(8):674-677.
- Purnomo D, Sugiharto, Isroli. (2015). Total Leukosit dan Diferensial Leukosit Darah Ayam Broiler Akibat Penggunaan Tepung Onggok Fermentasi *Rhizopus oryzae* pada Ransum. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*. 25(3):59-68.
- Rousdy DW, Linda R. (2018). Hematologi Perbandingan Hewan Vertebrata: Lele (*Clarias batrachus*), Katak (*Rana* sp.), Kadal (*Eutropis multifasciata*), Merpati (*Columba livia*) dan Mencit (*Mus musculus*). *Bioma*. 7(1):1-13.
- Siregar AR, Pamukas NA, Putra I. (2021). Pengaruh Padat Tebar Belut Sawah (*Monopterus albus*) yang Dipelihara dalam Media Lumpur terhadap Pertumbuhan dan Kelulushidupan. *Jurnal Akuakultur Sebatin*. 2(1):44-49.
- Sudrajat, Astuti D, Mustakim M. (2020). Analisis Histopatologis Insang dan Kandungan Logam Berat Pb, Cd dan Fe pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Dibudidayakan di Kolam Bekas Tambang Kota Samarinda. *Dinamika Lingkungan Indonesia*. 7(1):36-42.
- Suwarto S, Nainggolan L, Sinto R, Effendi B, Ibrahim E, Suryamin M. *et al.* (2016). Dengue Score: a Proposed Diagnostic Predictor for Pleural Effusion and/or Ascites in Adults with Dengue Infection. *BMC Infectious Diseases*. 16(322):1-7.
- Tamam M, Hadisaputro S, Sutaryo, Setianingsih I, Djokomoeljanto, Soemantri A. (2012). Hubungan antara Stres Oksidatif dengan Kadar Hemoglobin pada Penderita Thalassemia /Hbe. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 27(1):38-42.
- Tang Y, Hu L, Hong G, Zhong D, Song J, Zhao G, *et al.* (2018). Diagnostic Value of Complete Blood Count in Paraquat and Organophosphorus Poisoning Patients. *Toxicology and Industrial Health*. XX(X):1-9.DOI: 10.1177/0748233718770896
- Thrall MA, Weiser G, Allison RW, Campbell TW. (2022). *Veterinary Hematology, Clinical Chemistry, and Cytology 3rd Edition*. Wiley Blackwell.
- Ummah, RI. (2015). *Pengaruh Kadmium terhadap Struktur Histologi Insang Ikan Lele (Clarias batrachus)* [skripsi]. Surabaya: Universitas Airlangga.