

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pestisida adalah substansi kimia dan bahan lain serta jasad renik yang digunakan untuk mengendalikan berbagai hama. Penggunaan pestisida pada usaha pertanian khususnya di area persawahan hingga saat ini semakin meningkat, dan dapat memberi efek negatif pada hewan atau organisme yang terdapat pada area tersebut (Untung, 2006). Pestisida dibagi menjadi beberapa golongan diantaranya herbisida, yang merupakan salah satu faktor penyumbang dalam meningkatkan hasil pertanian.

Penggunaan herbisida sejenis secara terus-menerus dalam waktu yang lama dapat menyebabkan resistensi gulma, kerusakan struktur tanah, dan pencemaran lingkungan hidup pada area sawah. Senyawa herbisida yang berada di dalam tanah sawah irigasi akibat penyemprotan terus menerus akan tetap tertinggal di dalam tanah melalui proses absorpsi, sehingga berpotensi meracuni semua organisme yang berada pada area tersebut. Permasalahan ini muncul ketika peningkatan kualitas hasil pertanian menjadi sorotan utama bagi masyarakat (Metusala, 2006).

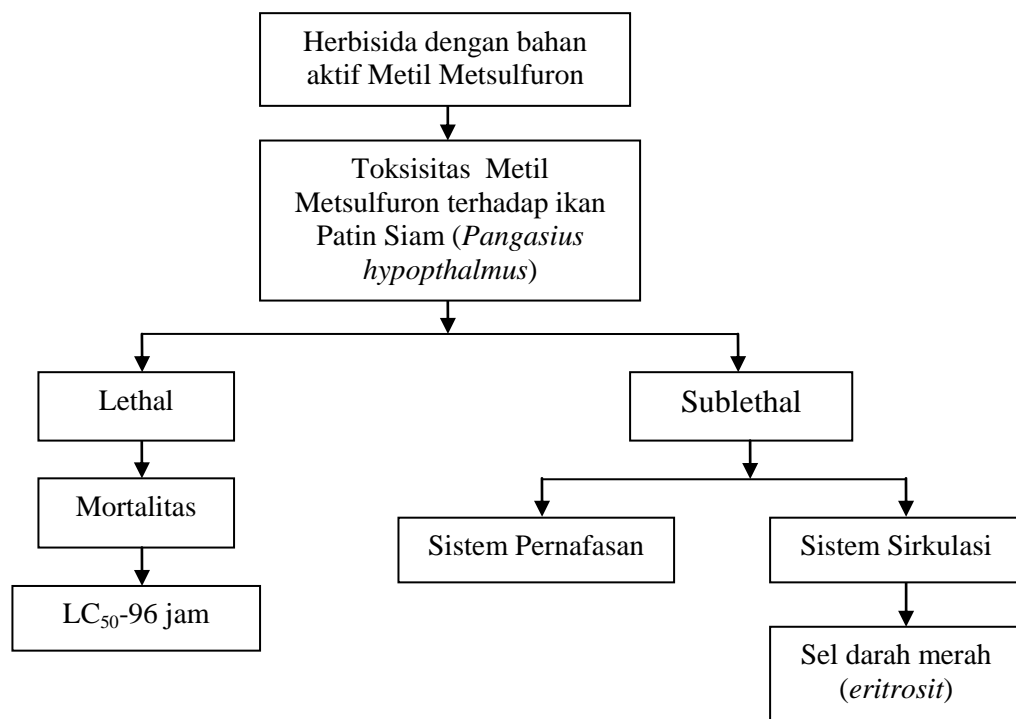
Penggunaan Herbisida berbahan aktif metil metsulfuron diduga dapat meracuni ikan yang terdapat di kolam alih fungsi dari lahan sawah irigasi. Ikan Patin Siam (*Pangasius hypophthalmus*) merupakan komoditas yang berprospek cerah, karena memiliki harga jual yang tinggi. Hal inilah yang menyebabkan ikan patin mendapat perhatian dan diminati oleh para pengusaha untuk membudidayakannya, akan tetapi karena kondisi lahan yang kurang memadai maka lahan sawah irigasi dialih fungsikan menjadi kolam. Pemeliharaan ikan patin siam pada kolam alih fungsi yang telah tercemar residu herbisida metil metsulfuron dapat menyebabkan terjadinya efek akut. Efek akut dari terserapnya residu herbisida metil metsulfuron ke dalam tubuh ikan dapat menyebabkan kematian yang ditandai dengan hilangnya pergerakan (khususnya gerak insang pada ikan) dan rusaknya sel darah merah.

1.2 Kerangka Penelitian

Herbisida dengan bahan aktif metil metsulfuron merupakan herbisida sistemik dan bersifat selektif untuk tanaman padi. Metil metsulfuron memiliki beberapa keunggulan, diantaranya diaplikasikan dengan konsentrasi yang rendah, spektrum pengendaliannya luas, dan memiliki efek melumpuhkan yang sangat baik. Namun karena banyak petani yang mengaplikasikan metil metsulfuron dengan konsentrasi yang tinggi untuk peningkatan kualitas hasil pertanian, maka tidak baik digunakan untuk program pengendalian hama terpadu pada lahan persawahan.

Pemaparan herbisida dilakukan dengan penyemprotan pada gulma tanaman padi, sehingga herbisida tersebut terabsorpsi dalam tanah dan menyebabkan tertinggalnya bahan toksik pada lahan persawahan yang dialihkan para petani

menjadi kolam budidaya ikan patin siam. Ikan patin siam (*Pangasius hypophthalmus*) merupakan ikan yang dapat dibudidayakan baik dalam kondisi perairan yang terkontrol maupun yang sudah tercemar oleh bahan toksik. Salah satu dampak dari bahan toksik yaitu menyebabkan gangguan organ penting pada tubuh ikan (*sublethal*) bahkan kematian pada ikan (*lethal*). Gangguan pada organ penting dalam tubuh ikan patin siam dapat berpengaruh terhadap sistem sirkulasi, pernapasan, reproduksi, pencernaan, dan saraf. Sistem sirkulasi pada darah ikan merupakan salah satu faktor terpenting yang dapat mempengaruhi metabolisme tubuh. Kerangka pemikiran yang digunakan dalam penelitian ini tertera pada Gambar 1.



Gambar 1. Kerangka Pemikiran Penelitian

1.3 Tujuan Penelitian.

Tujuan dari penelitian adalah:

1. Mengetahui pengaruh konsentrasi metil metsulfuron terhadap tingkat mortalitas ikan patin siam (*Pangasius hypophthalmus*).
2. Mengetahui pengaruh konsentrasi metil metsulfuron terhadap kerusakan sel darah merah dan persentase nilai hematokrit ikan patin siam (*Pangasius hypophthalmus*).

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan pengetahuan kepada masyarakat maupun peneliti mengenai batas maksimal konsentrasi metil metsulfuron pada perairan yang aman untuk sistem sirkulasi ikan patin siam (*Pangasius hypophthalmus*) sehingga dapat digunakan sebagai acuan dalam usaha budidaya khususnya pada kolam alih fungsi dari area sawah irigasi.

1.5 Hipotesis

Hipotesis pada penelitian adalah:

$H_0 = 0$: tidak terdapat pengaruh konsentrasi metil metsulfuron terhadap tingkat mortalitas ikan patin siam (*Pangasius hypophthalmus*).

$H_1 \neq 0$: terdapat pengaruh konsentrasi metil metsulfuron terhadap tingkat mortalitas ikan patin siam (*Pangasius hypophthalmus*).

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan Patin Siam (*Pangasius hypophthalmus*)

Ikan patin siam adalah jenis ikan yang secara taksonomi termasuk spesies *Pangasius hypophthalmus* yang hidup di perairan tropis Indo Pasifik. Bentuk tubuh agak memanjang, kepala berbentuk simetris, badan licin tidak bersisik, mulut agak lebar, mempunyai 2 pasang sungut, dan mata terletak agak ke bawah.

Filum : Chordata
Sub Filum : Vertebrata
Kelas : Pisces
Sub Kelas : Teleostei
Ordo : Ostariophysi
Sub Ordo : Siluroidei
Famili : Schilbeidae
Genus : *Pangasius*
Spesies : *Pangasius hypophthalmus*

(Khairuman, 2002)



Gambar 2. Ikan Patin Siam (*Pangasius hypophthalmus*)

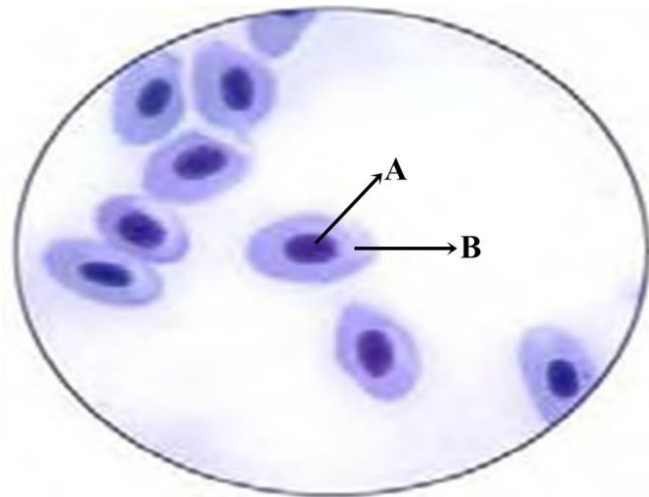
Sumber: Saanin (1984)

Patin siam (*Pangasius hypophthalmus*) merupakan ikan introduksi yang masuk ke Indonesia pada tahun 1972 dari Thailand dan sekarang banyak dibudidayakan oleh petani di Indonesia karena ukurannya yang relatif besar jika dibandingkan dengan patin lokal. Menurut Susanto dan Amri (2002), ikan patin bersifat nokturnal atau melakukan aktivitas di malam hari sebagaimana umumnya ikan *catfish* lainnya. Ikan patin termasuk ikan dasar, hal ini dapat dilihat dari bentuk mulutnya yang agak ke bawah. Ikan ini mampu bertahan hidup pada perairan yang kondisinya buruk dan akan tumbuh normal di perairan yang memenuhi persyaratan ideal sebagaimana habitat aslinya.

Ikan patin siam relatif mudah untuk dibudidayakan dan memiliki laju pertumbuhan yang lebih cepat jika dibandingkan patin lokal (Khairuman, 2002). Menurut Djariah (2001), ikan patin memerlukan sumber energi yang berasal dari makanan untuk pertumbuhan dan kelangsungan hidup. Ikan patin merupakan ikan pemakan segala (omnivora), tetapi cenderung ke arah karnivora.

2.2 Sel Darah Merah pada Ikan

Menurut Chinabut (1991), sel darah merah (eritrosit) berwarna merah kekuningan, berbentuk lonjong, kecil dan berukuran 7-36 mikron. Eritrosit yang matang berbentuk oval sampai bundar dengan inti yang kecil dan sitoplasma dalam jumlah yang besar. Eritrosit dan retikulosit dibuat di organ ginjal terutama ginjal anterior (*pronephros*) dan limpa. Inti sel akan berwarna ungu dan dikelilingi oleh plasma berwarna biru tua dengan pewarnaan Giemsa. Fungsi utama darah yaitu transportasi bahan materi yang dibutuhkan bagian tubuh, atau yang tidak diperlukan dibawa ke organ pembuangan. Darah juga mencegah masuknya bahan penyakit, memperbaiki bahan jaringan yang rusak, mengedarkan nutrisi esensial keseluruhan tubuh, dan membawa oksigen ke jaringan-jaringan tubuh.



Gambar 3. Sel Darah Merah (Anonim, 2008)
Keterangan : Inti Sel (A) dan Sitoplasma (B)

2.3 Pestisida

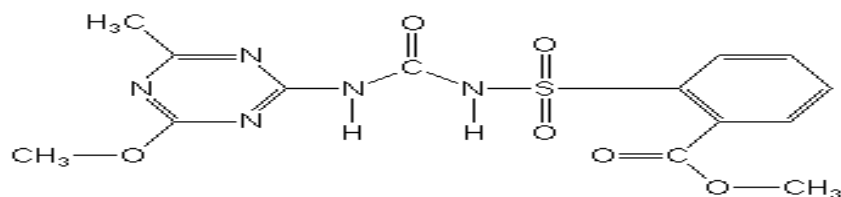
Penggunaan pestisida sangat ditentukan oleh aplikasi yang tepat untuk menjamin pestisida tersebut mencapai jasad sasaran yang dimaksud, selain juga oleh faktor jenis dosis, dan saat aplikasi yang tepat. Dengan kata lain tidak ada pestisida yang dapat berfungsi dengan baik kecuali jika diaplikasikan dengan tepat. Aplikasi pestisida yang tepat dapat didefinisikan sebagai aplikasi pestisida yang semaksimal mungkin terhadap sasaran yang ditentukan pada saat yang tepat, dengan liputan hasil semprotan yang merata dari jumlah pestisida yang telah ditentukan sesuai dengan anjuran dosis (Wudianto, 1994).

Proses masuknya pestisida dalam lingkungan melalui permukaan tanah maupun bawah permukaan tanah dengan waktu paruh 40 hingga 120 hari. Senyawa pestisida masuk ke dalam tanah melalui pola biotransformasi dan bioakumulasi oleh tanaman, proses reabsorpsi oleh akar serta masuk langsung pestisida melalui infiltrasi aliran tanah. Gejala ini akan mempengaruhi kandungan bahan pada sistem air tanah hingga proses pencucian zat pada tahap penguraian baik secara biologis maupun kimiawi di dalam tanah. Proses pencucian bahan-bahan kimia tersebut akan mempengaruhi kualitas air tanah baik setempat maupun secara region dengan berkelanjutan. Penurunan kualitas air tanah serta kemungkinan terjangkitnya penyakit akibat pencemaran air merupakan implikasi langsung dari masuknya pestisida ke dalam lingkungan aliran permukaan seperti sungai, danau dan waduk yang tercemar pestisida akan mengalami proses dekomposisi bahan pencemar. Pada tingkat tertentu, bahan pencemar tersebut mampu terakumulasi hingga dekomposit (Frank, 1995).

2.3.1 Herbisida Metil Metsulfuron

Penggunaan herbisida yang tepat dalam persiapan lahan dapat memberikan manfaat bagi para petani, antara lain dapat mengendalikan gulma yang tumbuh seawal mungkin. Beberapa herbisida mampu mengendalikan gulma sejak pertumbuhan awal. Namun dilain pihak penggunaan herbisida juga dapat menimbulkan perubahan dalam komposisi jenis gulma dan timbulnya jenis-jenis baru yang tadinya tidak ada menjadi ada serta timbul gulma-gulma yang toleran terhadap beberapa jenis herbisida (Sastroutomo, 1990).

Herbisida dengan bahan aktif metil metsulfuron merupakan herbisida sistemik dan bersifat selektif untuk tanaman padi. Herbisida ini dapat digunakan untuk mengendalikan gulma pra tumbuh dan awal purna tumbuh. Berikut struktur kimia metil metsulfuron dengan rumus molekul $C_{14}H_{15}N_5O_6S$ (Anonim, 2001).



Gambar 4. Struktur Kimia Metil Metsulfuron (Anonim, 2001)

2.4 Pengaruh Pestisida terhadap Ikan

Clarke (1975) menyatakan pestisida yang masuk dalam tubuh organisme akan mengalami proses-proses yang sama dengan benda-benda asing. Proses-proses tersebut yaitu absorpsi, distribusi, dan akumulasi. Pestisida masuk dalam tubuh ikan dapat melalui saluran pencernaan, saluran pernafasan dan kulit. Pada saluran pencernaan, pestisida yang ada dalam usus akan mengalami proses absorpsi dan distribusi, dengan adanya proses ini mengakibatkan kerusakan pada jaringan ikan.

Proses distribusi terjadi dimana pestisida yang ada di usus dibawa oleh peredaran darah vena portal hepatis menuju ke hepar. Di hepar akan terjadi detoksifikasi dan akumulasi racun. Pada saluran pernafasan pestisida dapat menyebabkan kerusakan pada bagian insang dan organ-organ yang berhubungan dengan insang. Alasbaster dan Lloyd (1980) menyatakan kerusakan insang dapat berupa penebalan lamella, degradasi sel atau bahkan kerusakan dan kematian jaringan insang. Hal tersebut menyebabkan fungsi insang menjadi tidak wajar dan mengganggu proses respirasi, akibatnya mengganggu pernafasan dan akhirnya menyebabkan kematian.

Santoso (1998) mengatakan bahwa, bahan toksik bila terakumulasi dalam tubuh ikan akan masuk ke dalam sistem peredaran darah. Kandungan bahan toksik yang tinggi berpengaruh letal bagi ikan, namun pada kadar yang masih berada dalam kisaran toleransi akan berpengaruh subletal, berupa gangguan terhadap fisiologis darah ikan sehingga mempengaruhi kelangsungan hidup dan perkembangannya. Keadaan fisiologis darah ikan sangat bervariasi, bergantung pada stadia hidup, kebiasaan hidup dan kondisi lingkungan (Lagler, 1997).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dan pembuatan preparat ulas darah serta perhitungan hematokrit sel darah merah dilakukan pada bulan Juli 2012 di Laboratorium Perikanan Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

3.2 Hewan Uji

Ikan yang digunakan pada penelitian ini adalah benih ikan patin siam (*Pangasius hypophthalmus*) sehat dan berkualitas baik, dengan rerata berat tubuh $2,16 \pm 0,24$ gram. Jumlah ikan uji yang digunakan pada masing-masing wadah adalah 10 ekor dengan tiga kali pengulangan.

3.3 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian berupa: Akuarium kaca 18 buah, saringan ikan, mikropipet, timbangan, kertas label, baki, ember, masker, sarung tangan, alat tulis, alat ukur kualitas air (termometer, kertas pH, DO meter), lemari pendingin, gelas objek, spuit, mikroskop, tabung kapiler, lilin malam, sentrifus, tabung eppendorf, gelas ukur, dan vortex.

3.4 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri atas: pakan benih ikan patin, herbisida ally 20 WDG, aquades, larutan EDTA, metanol, dan larutan giemsa 5%.

3.5 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL).

Setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Perlakuan pada uji penentuan selang konsentrasi dengan menggunakan 3 perlakuan dan 1 kontrol, yaitu sebagai berikut:

Perlakuan K : konsentrasi metil metsulfuron 0 ppm (kontrol)

Perlakuan A : konsentrasi metil metsulfuron 1 ppm

Perlakuan B : konsentrasi metil metsulfuron 10 ppm

Perlakuan C : konsentrasi metil metsulfuron 100 ppm

Pada uji definitif dengan menggunakan 5 perlakuan dan 1 kontrol, adalah sebagai berikut:

Perlakuan K : konsentrasi metil metsulfuron 0 ppm (kontrol)

Perlakuan A : konsentrasi metil metsulfuron 2,5 ppm

Perlakuan B : konsentrasi metil metsulfuron 6,25 ppm

Perlakuan C : konsentrasi metil metsulfuron 15,6 ppm

Perlakuan D : konsentrasi metil metsulfuron 39 ppm

Perlakuan E : konsentrasi metil metsulfuron 97,5 ppm

3.6 Persiapan Penelitian

3.6.1 Wadah Uji

Wadah yang digunakan dalam pengujian berupa akuarium kaca berukuran 40x40x50 cm³ sebagai wadah untuk uji penentuan selang konsentrasi dan uji definitif. Akuarium kaca merupakan material yang tidak mengurangi konsentrasi melalui penyerapan atau penambahan bahan ke dalam media karena reaksi kimia sehingga tidak berpengaruh pada metil metsulfuron. Sebelum penelitian dilakukan, wadah pegujian dibersihkan terlebih dahulu dengan air. Media yang digunakan juga harus memiliki kualitas air yang sesuai dengan kebutuhan ikan patin.

3.6.2 Media Uji

Media uji yang digunakan adalah formulasi metil metsulfuron, yaitu Ally 20 WDG dengan konsentrasi tertentu di dalam air sebanyak 30 liter. Larutan stok 1000 ppm disiapkan terlebih dahulu dengan melarutkan 5 gram Ally 20 WDG dalam satu liter akuades. Larutan stok 1000 ppm kemudian diencerkan sesuai dengan konsentrasi perlakuan yang dibutuhkan.

3.7 Pelaksanaan Penelitian

3.7.1 Uji Penentuan Selang Konsentrasi

Pada uji penentuan selang konsentrasi terlebih dahulu dilakukan pembuatan stok 1000 ppm karena herbisida Ally 20 WDG yang digunakan mengandung bahan aktif metil metsulfuron 20 % maka dengan perhitungan:

1 gram bahan = X% kandungan

$$1 \text{ gram kandungan} = \frac{1 \text{ gram bahan}}{X\% \text{ kandungan}}$$

$$= \frac{1 \text{ gram}}{20\%}$$

$$= \frac{1 \text{ gram}}{0,2}$$

$$= 5 \text{ gram}$$

Jadi 5 gram bahan herbisida dilarutkan di dalam 1 liter akuades/air

Keterangan:

X% : persentase bahan aktif.

Uji penentuan selang konsentrasi ini bertujuan untuk memperkirakan dosis metil metsulfuron yang menyebabkan mortalitas 100% serta mengetahui ambang atas dan ambang bawah penggunaannya. Lama perlakuan 2 hari (48 jam) dengan menggunakan konsentrasi 0; 1; 10; 100 ppm. Jumlah ikan uji pada setiap wadah adalah 10 ekor dalam 30 liter media uji. Pada uji penentuan selang konsentrasi menggunakan uji statis yaitu tanpa pergantian media uji. Selama uji berlangsung dilakukan pengamatan dan pencatatan mortalitas. Pada setiap pengujian dilakukan pencatatan data fisika dan kimia media uji, yaitu pada awal pengujian (0 jam), selama pengujian (24 jam) dan pada akhir pengujian (48 jam).

Berdasarkan pada hasil uji penentuan selang konsentrasi tersebut dapat ditentukan konsentrasi herbisida dengan bahan aktif metil metsulfuron untuk digunakan pada uji definitif dengan rumus di bawah ini, Rumus untuk menentukan deret konsentrasi perlakuan adalah sebagai berikut:

$$\text{Log } \frac{N}{n} = k \left(\log \frac{a}{n} \right)$$

Keterangan :

N : konsentrasi ambang atas

n : konsentrasi ambang bawah

a : konsentrasi terkecil dalam deret konsentrasi

k : jumlah konsentrasi yang diujikan (a,b,c,d,e)

Perhitungan konsentrasi :

$$\frac{a}{n} = \frac{b}{a} = \frac{c}{b} = \frac{d}{c} = \frac{e}{d} = \frac{N}{e}$$

(Finney, 1971)

3.7.2 Uji Definitif (Toksitas Akut)

Tujuan dilakukannya uji definitif adalah untuk menentukan konsentrasi bahan uji yang menghasilkan efek merugikan terhadap suatu organisme uji dalam selang waktu pemaparan yang pendek dibawah kondisi terkontrol. Langkah awal yang dilakukan pada uji definitif adalah membagi ikan uji pada wadah sebanyak 10 ekor ikan pada setiap perlakuan. Ikan uji tersebut diberi perlakuan berupa pemaparan metil metsulfuron dengan 6 konsentrasi berbeda yaitu 0; 2,5; 6,25; 15,6; 39; 97,5 ppm (Lampiran 1). Pada perlakuan metode ulas darah dan perhitungan hematokrit dilakukan pada ikan dengan konsentrasi 0 ppm (K); 15,6 ppm (C); dan 39 ppm (D).

Selama uji definitif berlangsung dilakukan pengamatan dan pencatatan kematian ikan uji. Jumlah ikan uji pada setiap wadah adalah 10 ekor dan 30 liter media uji. Sistem pemaparan yang digunakan yaitu sistem uji statis (tanpa pergantian media). Pada setiap pengujian dilakukan pencatatan data fisika dan kimia media

uji, yaitu pada selang waktu 0, 48, 72, dan 96 jam. Pencatatan data mortalitas dilakukan pada selang waktu 2, 4, 8, 16, 24, 48, 72 dan 96 jam.

Hubungan nilai logaritma konsentrasi uji dengan persentasi mortalitas (dalam probit), merupakan fungsi linier : $Y = a + bX$. Nilai LC_{50-96} jam diperoleh unlog m. Nilai m merupakan nilai X pada saat kematian sebesar 50% sehingga fungsi liniernya adalah $5 = a + bX$. Untuk menentukan nilai a maupun b digunakan persamaan sebagai berikut:

$$b = \frac{\sum XY - \frac{1}{n}(\sum X)(\sum Y)}{\sum X^2 - \frac{1}{n}(\sum X)^2}$$

$$a = 1/n (\sum Y - b\sum X)$$

$$m = \frac{5 - a}{b}$$

$$LC_{50-96} \text{ jam} = \text{unlog } m$$

Keterangan:

Y = nilai probit mortalitas hewan uji

X = logaritma konsentrasi uji

a = konstanta

b = slope

m = nilai X pada Y = 5 (nilai probit 50% mortalitas hewan uji)

(Finney, 1971)

3.8 Pembuatan Preparat Ulas Darah

3.8.1 Persiapan ulas darah

Pada persiapan ulas darah dilakukan dengan pengambilan darah menggunakan jarum suntik steril pada bagian *vena caudalis* dekat ekor di antara sisik ikan uji. Jarum suntik tersebut sebelumnya telah dibasahi dengan larutan EDTA yang berfungsi sebagai antikoagulan.

3.8.2 Pembuatan Preparat Ulas Darah

Pembuatan preparat ulas darah dilakukan dengan menempatkan satu tetes darah pada satu gelas objek, dan gelas objek kedua diletakkan dengan sudut 45° terhadap gelas objek pertama. Kemudian gelas objek kedua digeser hingga menyentuh darah dan darah menyebar merata di antara dua gelas objek tersebut. Selanjutnya gelas objek kedua digeser ke arah berlawanan, sehingga terbentuk lapisan darah yang tipis pada gelas objek pertama. Preparat tersebut kemudian dibiarkan kering udara selama 15 menit dan selanjutnya direndam dalam metanol selama 5 menit.

3.8.3 Pewarnaan dan Pengamatan Preparat Ulas Darah

Preparat dikeringkan untuk kemudian dilakukan pewarnaan dengan cara direndam dalam Giemsa 5% selama 15 menit. Proses pewarnaan dapat memudahkan dalam pengamatan komponen jaringan. Pengamatan dilakukan dengan cara mengamati sel darah merah yang rusak pada preparat ulas darah menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Data yang diperoleh dari hasil pengamatan dibawah

mikroskop dilihat perubahannya dan membandingkan antara kelompok kontrol dengan perlakuan serta dicatat dan difoto (Yudha, 1999).

3.9 Metode Mikro Hematokrit

Hematokrit adalah persentase volume sel darah merah (eritrosit) dalam darah. Metode pengukuran hematokrit dilakukan dengan cara mengisi tabung kapiler dengan darah yang telah diberi EDTA dan dimampatkan dengan lilin malam pada salah satu ujung tabung. Tabung kapiler tersebut kemudian disentrifus dengan kapasitas putar 3000 rpm selama 10 menit. Pada metode mikro hematokrit tingginya kolom eritrosit dinyatakan dalam persen dari volume darah pada tabung kapiler tersebut.

3.10 Metode Analisis Data

Data mortalitas yang diperoleh dari uji definitif terlebih dahulu dilakukan uji normalitas dan homogenitas untuk mengetahui sebaran data. Selanjutnya data dianalisis dengan uji ANOVA (*Analysis of Variance*) dan jika hasil menunjukkan adanya pengaruh yang berbeda, maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan (Steel and Torrie, 2001).

Analisis secara deskriptif dilakukan pada preparat ulas darah dan hematokrit ikan patin siam (*Pangasius hypophthalmus*), dengan membandingkan preparat ulas darah dan hematokrit ikan patin siam kontrol dengan yang diberi perlakuan konsentrasi metil metsulfuron.