

**PROFIL HEMATOLOGI DAN MIKRONUKLEI IKAN GAMBUSIA
(*Gambusia affinis*) SEBAGAI PENDUGA PENCEMARAN PERAIRAN
SUNGAI BRANTAS WILAYAH SURABAYA DAN MOJOKERTO**

SKRIPSI

Oleh :

**Nidia PIALINA Nababan
NIM. 155080101111070**



**PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

PROFIL HEMATOLOGI DAN MIKRONUKLEI IKAN GAMBUSIA (*Gambusia affinis*) SEBAGAI PENDUGA PENCEMARAN PERAIRAN SUNGAI BRANTAS WILAYAH SURABAYA DAN MOJOKERTO

SKRIPSI

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan
Di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya**

Oleh:
Nidia PIALINA Nababan
NIM. 155080101111070



**PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

LEMBAR PENGESAHAN

SKRIPSI

PROFIL HEMATOLOGI DAN MIKRONUKLEI IKAN GAMBUSIA (*Gambusia affinis*)
SEBAGAI PENDUGA PENCEMARAN PERAIRAN SUNGAI BRANTAS WILAYAH
SURABAYA DAN MOJOKERTO

Oleh:

Nidia PIALINA Nababan
NIM. 155080101111070

Telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 24 Mei 2019
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Mengetahui,



Dr. M. Firdaus, MP
NIP. 19660919 200501 1 001

Tanggal : 19 JUN 2019

Menyetujui,

Dosen Pembimbing

Dr. Agus Maizar S.H., S.Pi, MP
NIP. 19720529 200312 1 001

Tanggal : 19 JUN 2019

LEMBAR IDENTITAS TIM PENGUJI

Judul : **PROFIL HEMATOLOGI DAN MIKRONUKLEI IKAN GAMBUSIA (*Gambusia affinis*) SEBAGAI PENDUGA PENCEMARAN PERAIRAN SUNGAI BRANTAS WILAYAH SURABAYA DAN MOJOKERTO**

Nama : Nidia Pialina Nababan
NIM : 155080101111070

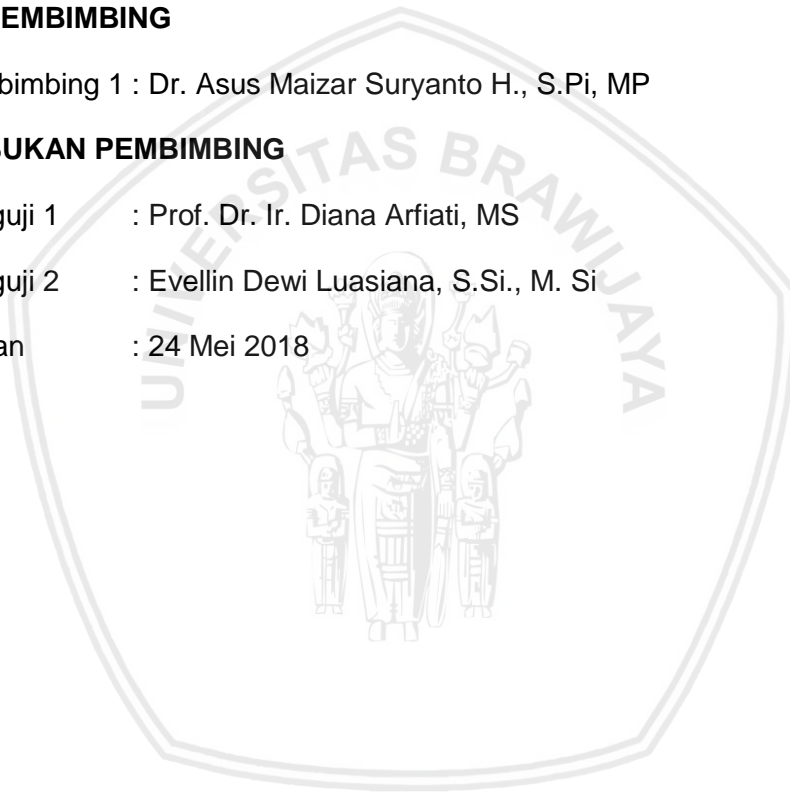
Program Studi : Manajemen Sumberdaya Perairan

PENGUJI PEMBIMBING

Dosen Pembimbing 1 : Dr. Asus Maizar Suryanto H., S.Pi, MP

PENGUJI BUKAN PEMBIMBING

Dosen Penguji 1 : Prof. Dr. Ir. Diana Arfiati, MS
Dosen Penguji 2 : Evellin Dewi Luasiana, S.Si., M. Si
Tanggal Ujian : 24 Mei 2018



PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa laporan skripsi yang saya tulis ini merupakan hasil karya saya sendiri, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa laporan skripsi ini hasil plagiasi, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut sesuai hukum yang berlaku.



Malang,
Mahasiswa

Nidia Pialina Nababan
155080101111070

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah berperan serta dalam membantu kelancaran hingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan.

Terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada :

1. Tuhan yang Maha Kuasa yang telah memberkati dan mengasihi penulis hari demi hari.
2. Keluarga Tercinta : Bapak, Mamak, Jana dan Adiel yang telah memberi motivasi, doa dan dukungan materil selama ini.
3. Bapak Dr. Asus Maizar S.H., S.Pi., MP selaku dosen pembimbing atas kesabaran, kebaikan hati dan kesediaan waktunya untuk membimbing penulis hingga terselesaikan skripsi ini.
4. Tania, Tamara, Lia, Farah, Bertha dan Papang, atas perhatian semangat dan motivasi yang tak kunjung hentinya dan liburan menyenangkan sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan skripsi ini.
5. Sahabat tersayang yaitu sahabat satu bimbingan (ASUS KIDDOS), Aang, David, Arip, Uzul, Triyas, Ajeng, dkk atas dukungan dan Motivasinya dari masih maba sampai sekarang dan tak kunjung henti.
6. Teman-teman Keluarga besar MSP 2015 atas bantuannya selama ini.
7. Semua pihak yang secara langsung maupun tidak langsung dan baik sengaja maupun tidak sengaja telah berperan dalam terselesaikannya laporan ini.

Malang, 9 Mei 2019

Nidia Pialina Nababan

RINGKASAN

Nidia Pialina Nababan. Profil Hematologi dan Mikronuklei Ikan Gambusia (*Gambusia affinis*) sebagai Penduga Pencemaran Perairan Sungai Brantas Wilayah Surabaya dan Mojokerto (dibawah bimbingan Dr. Asus Maizar S.H., S.Pi., MP)

Sungai adalah suatu alur panjang sebagai sumber penyedia air. Sungai yang sangat vital bagi masyarakat Jawa Timur yaitu Sungai Brantas. Darah ikan dapat dijadikan biomarker yang terdiri dari beberapa komponen yaitu eritrosit, leukosit dan mikronuklei (MN). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui status perairan Sungai Brantas melalui profil hematologi ikan gambusia (*Gambusia affinis*). Penelitian ini dilakukan di 3 Stasiun yang berbeda dimana 2 lokasi terletak di Kabupaten Mojokerto yaitu Sungai Bangsal (Stasiun 1, didominasi permukiman), Sungai Sadar (Stasiun 2, didominasi pertanian) dan 1 lokasi lainnya yang berada di Kota Surabaya yaitu Sungai Karang Pilang Surabaya (Stasiun 3, didominasi perindustrian). Waktu pelaksanaan penelitian yaitu pada bulan Februari – April 2019. Hasil pengamatan eritrosit pada stasiun 1 berkisar antara 658.000–896.000 sel/mm³, stasiun 2 berkisar 503.000–766.000 sel/mm³ dan stasiun 3 berkisar 430.000-803.000 sel/mm³. Jumlah eritrosit pada ketiga stasiun dikategorikan rendah. Eritrosit yang rendah karena padatnya aktivitas warga disekitar sungai yang mengakibatkan perubahan baik fisika maupun kimia perairan sehingga terjadi disfungsi organ yang berdampak pada menurunnya eritrosit. Pengamatan leukosit pada stasiun 1 berkisar 97.300-176.650 sel/mm³, stasiun 2 berkisar 66.150-179.850 sel/mm³ dan pada stasiun 3 berkisar 44.250-136.300 sel/mm³. Jumlah leukosit pada ketiga stasiun dikategorikan tinggi. Jumlah leukosit yang meningkat disebabkan oleh respon pertahanan tubuh ikan terhadap bahan toksik diperairan. Jumlah mikronuklei pada stasiun 1 berkisar antara 11-22 sel/1000, stasiun 2 berkisar antara 8-21 sel/1000, dan pada stasiun 3 berkisar antara 9-20 sel/1000. Jumlah mikronuklei pada ketiga stasiun dikategorikan tinggi. Semakin tinggi mikronuklei maka mengindikasikan bahwa ikan terkena gangguan kesehatan. Parameter kualitas air yang dianalisis antara lain parameter fisika (suhu), parameter kimia (pH, oksigen terlarut, BOD, amonia, fenol) dan logam berat (Pb, Hg dan Cd). Seluruh parameter fisika, kimia dan logam berat yang diamati sesuai dengan PP 82 tahun 2001, kecuali BOD, amonia dan fenol. Amonia sangat mempengaruhi parameter hematologi pada stasiun 1 dimana diperoleh hasil uji regresi amonia terhadap eritrosit sebesar 79,9%, leukosit sebesar 73,1% dan mikronuklei sebesar 89%. Pengaruh amonia yang sangat kuat ini disebabkan oleh banyaknya bahan organik pada stasiun 1, berbeda dengan stasiun 2. Amonia hanya mempengaruhi eritrosit dan mikronuklei sebesar 73,1% dan 76,7% sedangkan leukosit dipengaruhi oleh fenol sebesar 50,3%. Limbah pertanian pada stasiun 2 merupakan sumber bahan organik dan fenol. Hasil uji regresi pada stasiun 3, fenol sangat berpengaruh terhadap parameter seluruh parameter hematologi. Hasil regresi fenol terhadap eritrosit leukosit dan mikronuklei secara berurutan yaitu 64,4%, 78,1% dan 90,7%. Tingginya perindustrian menyebabkan meningkatnya konsentrasi fenol yang mampu merusak insang pada ikan. Stasiun yang tercemar secara berurutan yaitu stasiun 3, stasiun 1 dan stasiun 2. Perlu adanya monitoring dan disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut sebagai bahan untuk evaluasi sehingga dapat dilakukan tindakan pengelolaan dan pemanfaatan yang menjadikan Sungai Brantas lebih lestari.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan karunia yang telah diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan Laporan skripsi sebagai salah satu syarat yang harus dipenuhi mahasiswa untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan, dalam pelaksanaannya dibutuhkan laporan skripsi . Laporan skripsi ini dibuat oleh penulis untuk mendapatkan izin melakukan penelitian mengenai “Profil Hematologi dan Mikronuklei Ikan Gambusia (*Gambusia affinis*) sebagai Penduga Pencemaran Perairan Sungai Brantas Wilayah Surabaya dan Mojokerto”.

Sangat disadari bahwa dengan kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki penulis, walaupun telah dikerahkan segala kemampuan untuk lebih teliti, tetapi masih dirasakan banyak kekurangtepatan, oleh karena itu penulis mengharapkan saran yang membangun agar tulisan ini bermanfaat bagi yang membutuhkan. Terimakasih.

Malang, 9 Mei 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN	iii
LEMBAR IDENTITAS TIM PENGUJI	iv
PERNYATAAN ORISINALITAS	v
UCAPAN TERIMAKASIH	vi
RINGKASAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Kegunaan Penelitian	5
1.5 Tempat dan Waktu pelaksanaan	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Sungai Brantas	6
2.2 Klasifikasi dan Morfologi ikan Gambusia (<i>Gambusia affinis</i>)	7
2.3 Biomarker pada Ikan	8
2.4 Parameter Kualitas Air	9
2.4.1 Suhu	9
2.4.2 Derajat Keasaman (pH)	9
2.4.3 DO (<i>Dissolved Oxygen</i>)	10
2.4.4 BOD ₅ (<i>Biological Oxygen Demand</i>)	11
2.4.5 Amonia	12
2.4.6 Fenol	13
2.4.7 Timbal (Pb)	13
2.4.8 Merkuri (Hg)	14
2.4.9 Kadmium (Cd)	16
2.5 Hematologi Sel Darah Ikan	16
2.5.1 Eritrosit (Sel Darah Merah)	18
2.5.2 Leukosit (Sel Darah Putih)	19
2.5.3 Penelitian Terdahulu tentang Eritrosit dan Leukosit	20
2.6 Mikronuklei	24
2.7 Pencemaran Logam Berat di Perairan	25
2.8 Mekanisme Logam Berat diserap oleh Darah	26
3. METODOLOGI	28
3.1 Materi Penelitian	28
3.2 Alat dan Bahan	28
3.3 Metode Penelitian	28
3.3.1 Teknik Pengumpulan Data	28
3.3.2 Penetapan Stasiun Pengamatan	29
3.4 Teknik Pengambilan Ikan	30

3.5 Metode Pemeriksaan Darah	31
3.5.1 Metode Pengambilan Darah Ikan.....	31
3.5.2 Metode Pengamatan Sel Darah Ikan.....	31
3.5.3 Pengamatan Jumlah Sel Darah Merah (Eritrosit).....	32
3.5.4 Pengamatan Sel Darah Putih (Leukosit).....	32
3.5.5 Pengamatan Mikronuklei Pada Sel Darah Ikan	33
3.6 Prosedur Pengukuran Pengambilan Sampel Air	33
3.6.1 Parameter Fisika.....	34
3.6.2 Parameter Kimia	35
3.6.3 Logam Berat	38
3.7 Analisis Data	40
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	42
4.1 Keadaan Umum Lokasi Penelitian.....	42
4.1.1 Lokasi Penelitian.....	42
4.1.2 Deskripsi Stasiun Pengambilan Sampel	43
4.2 Analisis Morfologi Ikan Gambusia (<i>Gambusia affinis</i>).....	47
4.3 Parameter Kualitas Air.....	47
4.3.1 Suhu.....	48
4.3.2 Derajat Keasaman (pH).....	49
4.3.3 Oksigen Terlarut (<i>Dissolved Oxygen</i>).....	50
4.3.4 BOD (<i>Biological Oxygen Demand</i>).....	51
4.3.5 Amonia.....	53
4.3.6 Fenol	54
4.3.7 Timbal (Pb)	55
4.3.8 Merkuri (Hg).....	56
4.3.9 Kadmium (Cd)	58
4.4 Kondisi Hematologi Ikan Gambusia (<i>Gambusia affinis</i>)	59
4.4.1 Jumlah Sel Eritrosit.....	59
4.4.2 Jumlah Sel Leukosit	61
4.5 Jumlah Mikronuklei.....	64
4.6 Analisis Perbedaan Parameter Kualitas Air yang Memenuhi dan Tidak Memenuhi Baku Mutu	66
4.7 Hubungan Hematologi Ikan Gambusia (<i>Gambusia affinis</i>) terhadap Parameter Kualitas Air	68
4.7.1 Pengaruh Parameter Kualitas air terhadap Hematologi pada Stasiun 1	68
4.7.2 Pengaruh Parameter Kualitas air terhadap Hematologi pada Stasiun 2	76
4.7.3 Pengaruh Parameter Kualitas air terhadap Hematologi pada Stasiun 3	83
5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	90
5.1 Kesimpulan	90
5.2 Saran	90
DAFTAR PUSTAKA.....	91
LAMPIRAN.....	101

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Gambusia affinis</i>	7
2. Eritrosit pada ikan teleostei	18
3. Leukosit pada ikan teleostei	19
4. Mikronuklei pada ikan teleostei	24
5. Ikan Gambusia (<i>Gambusia affinis</i>)	47
6. Grafik kisaran suhu pada 3 stasiun dengan 3 kali pengulangan	48
7. Grafik kisaran pH pada 3 stasiun dengan 3 kali pengulangan	49
8. Grafik kisaran DO pada 3 stasiun dengan 3 kali pengulangan	50
9. Grafik kisaran BOD pada 3 stasiun dengan 3 kali pengulangan	52
10. Grafik kisaran amonia pada 3 stasiun dengan 3 kali ulangan	53
11. Grafik kisaran fenol pada 3 stasiun dengan 3 kali pengulangan	54
12. Grafik kisaran timbal pada 3 stasiun dengan 3 kali ulangan	56
13. Grafik kisaran merkuri pada 3 stasiun dengan 3 kali ulangan	57
14. Grafik kadmium pada 3 stasiun dengan 3 kali pengulangan	58
15. Eritrosit ikan Gambusia (<i>Gambusia affinis</i>)	59
16. Grafik eritrosit pada 3 stasiun	60
17. Leukosit ikan Gambusia (<i>Gambusia affinis</i>)	62
18. Grafik leukosit pada 3 stasiun	62
19. Mikronuklei ikan Gambusia (<i>Gambusia affinis</i>)	64
20. Grafik Mikronuklei pada 3 stasiun	64
21. Hasil Regresi Kualitas Air terhadap Eritrosit di Stasiun	70
22. Hasil Regresi Kualitas Air terhadap Leukosit di Stasiun 1	72
23. Hasil Regresi Kualitas Air terhadap Mikronuklei di Stasiun 1	75
24. Hasil Regresi Kualitas Air terhadap Eritrosit di Stasiun 2	77
25. Hasil Regresi Kualitas Air terhadap Leukosit di Stasiun 2	80
26. Hasil Regresi Kualitas Air terhadap Mikronuklei di Stasiun 2	82
27. Hasil Regresi Kualitas Air terhadap Eritrosit di Stasiun 3	84
28. Hasil Regresi Kualitas Air terhadap Leukosit di Stasiun 3	87
29. Hasil Regresi Kualitas Air terhadap Leukosit di Stasiun 3	89

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Jumlah Eritrosit dan Leukosit yang diamati pada Penelitian Terdahulu	21
2. Kategori kolerasi (r)	41
3. Lokasi Pengamatan di Stasiun 1	43
4. Lokasi Pengamatan di Stasiun 2	44
5. Lokasi Pengamatan di Stasiun 3	46
6. Baku Mutu Sesuai dengan PP No. 82 Tahun 2001	66
7. Parameter yang Memenuhi (B) dan Tidak Memenuhi Baku Mutu (BM)	67
8. Hubungan parameter kualitas air dengan eritrosit di stasiun 1	68
9. Hubungan parameter tidak baku dengan leukosit di stasiun 1	71
10. Hubungan parameter tidak baku dengan mikronuklei di stasiun 1	73
11. Hubungan parameter tidak baku dengan Hematologi di Stasiun 2	76
12. Hubungan parameter kualitas air dengan leukosit di stasiun 2	78
13. Hubungan parameter kualitas air dengan mikronuklei di stasiun 2	80
14. Hubungan parameter kualitas air dengan Hematologi di Stasiun 3	83
15. Hubungan parameter kualitas air dengan Hematologi di Stasiun 3	85
16. Hubungan parameter kualitas air dengan Hematologi di Stasiun 3	87



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Peta Lokasi Penelitian.....	101
2. Alat dan Bahan Beserta Fungsinya	103
3. Dokumentasi Penelitian.....	104
4. Kualitas Perairan.....	107
5. Kualitas Perairan.....	109
6. Perhitungan Eritrosit.....	110
7. Perhitungan Leukosit	112
8. Data Hasil Regresi Eritrosit	115
9. Data Hasil Regresi Leukosit	121
10. Data Hasil Regresi Mikronuklei	126



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sungai adalah suatu alur panjang sebagai sumber penyedia air, kualitasnya tergantung aktivitas disekitar badan perairan. Menurut Peraturan Pemerintah No. 82 tahun 2001, Air merupakan sumber daya yang memiliki fungsi penting bagi kehidupan manusia dan merupakan modal dasar pembangunan seperti, membantu kelangsungan hidup semua organisme hidup termasuk manusia, produksi makanan, dan pembangunan ekonomi. Sekitar 40% dari pasokan makanan dunia berasal dari irigasi bahkan berbagai proses industri tergantung pada air (Halder dan Islam, 2015). Kemudahan aksesibilitas masyarakat luas untuk membuang limbah menyebabkan kualitas perairan menurun, karena tidak memenuhi kriteria baku mutu. Kehidupan masyarakat Jawa Timur sangat bergantung pada Sungai Brantas, seiring waktu pencemaran yang terjadi bertambah parah. Kemunduran kualitas terjadi akibat limbah domestik dan industri di pinggiran Sungai Brantas.

Pencemaran perairan akibat aktivitas manusia menjadi masalah yang sulit ditangani. Pembangunan industri setiap tahunnya semakin bertambah pesat. Tujuan pembangunan industri tentunya untuk memperbaiki kesejahteraan ekonomi kearah yang lebih baik. Pencapaian pembangunan yang terjadi tidak diseimbangi dengan kepedulian beberapa pihak terhadap lingkungan. Rasa kepentingan dan kesanggupan untuk memenuhi kebutuhan konsumen membuat banyak pihak tidak bertanggung jawab, membuang limbah sisa produksi langsung ke badan perairan tanpa menghiraukan dampak dimasa yang akan datang. Tercemarnya badan perairan diakibatkan oleh pembuangan secara langsung tanpa pengelolaan terlebih dahulu. Sheftiana *et al.*, (2017), perubahan kondisi kualitas air dikaitkan dengan penggunaan lahan, litologi, waktu curah

hujan dan aktivitas manusia yang mengakibatkan pencemaran air sungai baik fisik, kimia dan biologi. Perlu adanya solusi yang efektif dan efisien untuk mengatasi dan mengurangi pencemaran yang semakin bertambah parah.

Pendugaan status perairan bisa menggunakan organisme perairan seperti, ikan. Gaber *et al.*, (2013), ikan umumnya dianggap sebagai organisme yang paling layak untuk memantau polutan penyebab pencemaran perairan. Ikan memainkan peranan yang penting pada jaring makanan karena fungsinya sebagai pembawa energi dari trofik rendah ke tingkat yang lebih tinggi. Kontak hidup yang sangat erat terhadap perairan menjadikannya mampu untuk diteliti sebagai sampel. Biomarker menggunakan ikan digunakan untuk mengevaluasi beban pencemaran di lingkungan perairan, menerima sinyal peringatan tentang ancaman lingkungan yang ditimbulkan, merefleksikan adanya interaksi biologis dengan agen lingkungan. Ikan yang digunakan pada penelitian adalah ikan gambusia (*Gambusia affinis*). Pertimbangan peneliti memilih ikan gambusia (*Gambusia affinis*) karena spesies ini biasa ditemukan disekitar aliran Sungai Brantas.

Pengamatan yang akan diamati pada ikan adalah hematologi (darah) dan mikronuklei. Hidayat *et al.* (2014), studi Hematologi digunakan dalam mempelajari komponen darah, kelainan fungsional akibat penyakit ataupun karena keadaan lingkungan sehingga mempermudah untuk mendianogsis kesehatan ikan. Pengetahuan tentang karakteristik hematologis sangat penting digunakan sebagai indeks yang efektif dan sensitif untuk memantau perubahan fisiologis dan patologis pada ikan. Ikan yang terserang penyakit akan mengalami perubahan jumlah eritrosit (sel darah merah), jumlah leukosit (sel darah putih). Pengamatan darah eritrosit untuk menunjukkan kapasitas pengangkutan oksigen oleh darah sedangkan jumlah leukosit akan meningkat pada ikan yang

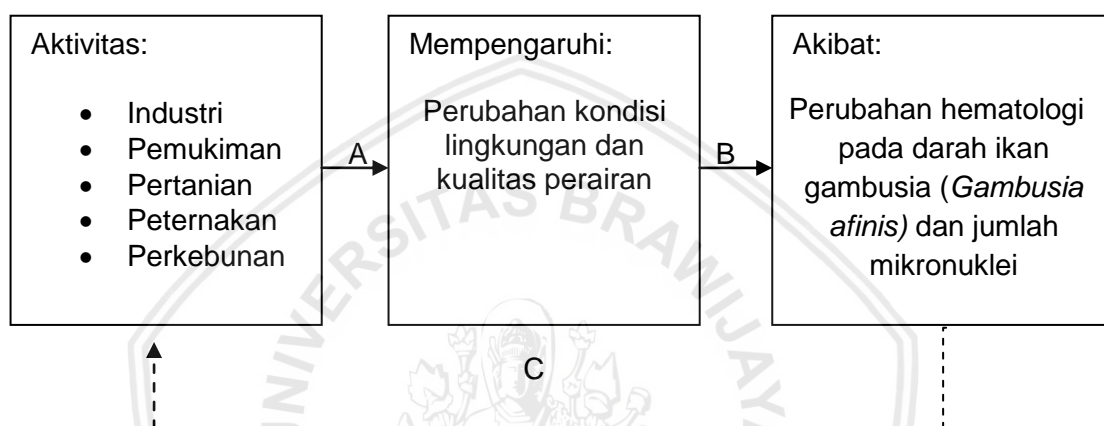
mengalami stres yang disebabkan oleh perubahan kondisi lingkungan maupun karena benda asing.

Uji mikronuklei pada eritrosit ikan dianggap sebagai prosedur yang tepat dan mudah untuk mendeteksi genotoksisitas pada organisme akuatik. Vidya dan Chitra (2018), Mikronuklei relatif kecil, yaitu antara 1/18 dan 1/3 dari inti. Mikronuklei terbentuk selama pembelahan sel, mencerminkan efek mutagenik oleh hilangnya kromosom fragmen atau seluruh kromosom yang tidak termasuk dalam anafase berikut inti utama. Jois *et al.* (2010), pola pembentukan mikronuklei dalam suatu individu sangat tergantung pada jenis paparan karsinogen yang diterimanya. Paparan karsinogen bisa terjadi secara berulang dan tidak menentu, dengan interval paparan yang berbeda pula. Frekuensi mikronuklei akan sangat bervariasi antar sampel. Kerusakan kromosom akan lebih banyak karena mikronuklei yang semakin meningkat hal ini yang menyebabkan kematian ikan. Dari uraian sebelumnya uji mikronuklei pada ikan gambusia (*Gambusia affinis*) untuk menilai tingkat parameter kesehatan perairan.

Sumber daya air harus dilindungi karena air merupakan komponen penting bagi keberlangsungan ekosistem perairan. Pencemaran air merupakan ancaman serius bagi kesejahteraan manusia dan penduduknya. Kurangnya rencana dan kebijakan pengelolaan sumber daya air, baik kualitas dan kuantitas air di sungai telah mencapai situasi yang sangat kritis sehingga tidak bisa ditangani secara instan. Pemantauan sungai merupakan salah satu solusi yang tepat diaplikasikan disekitar sungai guna mencegah dan mengendahkan pencemaran air. Cara ini akan lebih efektif jika dilakukan secara rutin.

1.2 Rumusan Masalah

Studi pendahuluan di aliran Sungai Brantas wilayah Surabaya dan Mojokerto memiliki aktivitas yang cukup tinggi sehingga mengakibatkan banyak limbah yang dibuang ke perairan. Perlu dilakukan penelitian dan pemantauan yang mendalam untuk mencegah, mengevaluasi dan mengendalikan pencemaran perairan yang ada di aliran sungai.



Gambar 1. Alir Diagram Rumusan Masalah

Dimana:

- Peningkatan kebutuhan penduduk yang semakin meningkat mengakibatkan banyaknya aktivitas yang berdampak buruk terhadap lingkungan.
- Masuknya limbah secara berlebih ke dalam perairan menyebabkan perubahan kondisi perairan yang ditandai dengan menurunnya estetika perairan, menurunnya biota perairan dan menjadi sumber penyakit.
- Pemeriksaan darah dan mikronukei ini akan memberikan informasi apakah perairan yang diamati tercemar atau tidak.

Berdasarkan uraian singkat diatas, maka dapat ditarik rumusan masalah yaitu:

- Bagaimana kualitas air di aliran Sungai Brantas wilayah Surabaya dan Mojokerto?

- b. Bagaimana kadar eritrosit dan leukosit pada ikan gambusia (*Gambusia affinis*)?
- c. Bagaimana mikronuklei yang terdapat pada ikan gambusia (*Gambusia affinis*)?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

- a. Menganalisis kualitas air di aliran Sungai Brantas wilayah Surabaya dan Mojokerto
- b. Menganalisis kadar eritrosit dan leukosit pada ikan gambusia (*Gambusia affinis*)
- c. Menganalisis mikronuklei yang terdapat pada ikan gambusia (*Gambusia affinis*)

1.4 Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada pembaca mengenai uji hematologi dan mikronuklei pada ikan gambusia (*Gambusia affinis*). Dijadikan dasar penelitian, menambah pengetahuan sehingga aliran Sungai Brantas yang menjadi lebih lestari.

1.5 Tempat dan Waktu pelaksanaan

Kegiatan penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari 2019 – April 2019 di aliran Sungai Brantas wilayah Surabaya dan Mojokerto dan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Sedangkan untuk kualitas perairan diuji di Laboratorium Hidrobiologi Divisi Lingkungan dan Bioteknologi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya dan di Unit Analisis Kimia dan Pengukuran Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya Malang.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sungai Brantas

Daerah aliran sungai merupakan kawasan tampungan air yang akan masuk ke Sungai. Aliran air sungai selalu menuju ke tempat yang lebih rendah. Salah satu daerah aliran sungai yang cukup terkenal di Indonesia yaitu Sungai Brantas. Banyak masyarakat Indonesia khususnya di daerah Jawa Timur yang menggantungkan hidup di Sungai ini. Keberadaan Sungai Brantas diakui sangat vital oleh masyarakat karena merupakan pemasok bahan baku air terbesar untuk PDAM area sekitar Jawa Timur. Dahlan *et al.* (2014) menyatakan bahwa, sebagian besar masyarakat yang tinggal disekitar aliran sungai memanfaatkan air untuk MCK (mandi, cuci dan kakus), keperluan irigasi, pembuangan akhir dari limbah pertanian, peternakan bahkan industri. Penambahan bahan organik maupun anorganik baik sengaja maupun tidak kedalam perairan akan merubah susunan kimia air, juga akan mempengaruhi sifat-sifat biologi dari perairan tersebut. Banyaknya bahan organik di dalam perairan dapat menurunkan kandungan oksigen terlarut dan kualitas air sungai. Lusiana *et al.* (2017), Badan Lingkungan Hidup Provinsi Jawa Timur menyatakan bahwa ada beberapa kawasan aliran Sungai Brantas yang tercemar berat seperti disekitar Surabaya, Sidoarjo dan Mojokerto.

Pemanfaatan daerah aliran sungai diharapkan selalu berkelanjutan, perlu dilakukan identifikasi keterkaitan antara masalah lahan, perairan dan hubungannya terhadap ekosistem, sebagai upaya mencegah dan mengurangi pencemaran perairan yang menimbulkan dampak negatif. Akkoyunlu dan Akiner (2012), status mutu air merupakan tingkat kondisi mutu air yang menunjukkan kondisi cemar atau kondisi baik pada suatu badan air berupa sungai dalam waktu tertentu dengan membandingkan dengan baku mutu air yang ditetapkan.

Di Indonesia mutu air diatur pada Peraturan Pemerintah No. 82 Tahun 2001 Pasal 1 mutu air adalah kondisi kualitas air yang diukur dan atau diuji berdasarkan parameter dan metode tertentu berdasarkan peraturan perundang undangan yang berlaku. Parameter yang sudah ditetapkan dan diamati, akan dibandingkan hasilnya dengan baku mutu air. Penilaian kualitas air mampu mengidentifikasi sumber, faktor pencemaran dan dapat juga dijadikan acuan untuk mengurangi dan mencegah pencemaran perairan sehingga menghasilkan status ekologi yang lebih baik.

2.2 Klasifikasi dan Morfologi ikan Gambusia (*Gambusia affinis*)

Klasifikasi ikan gambusia (*Gambusia affinis*) menurut Farley and Younce (1997), adalah sebagai berikut:

Kingdom : *Animalia*
Phylum : *Chordata*
Class : *Actinopterygii*
Subclass : *Neopterygii*
Order : *Cyprinodontiformes*
Family : *Poeciliidae*
Genus : *Gambusia*
Species : *Gambusia affinis*



Gambar 1. *Gambusia affinis*.
(Jhonson, 2008)

Ikan gambusia (*Gambusia affinis*) bukan ikan asli dari Indonesia melainkan berasal dari Armenia, Texas dan Meksiko. Kemampuan ikan gambusia (*Gambusia affinis*) beradaptasi dan kebiasaan hidupnya yang memakan apa saja (omnivora) menjadikannya sering ditemukan di perairan Indonesia. Ciri morfologi yang dimilikinya yaitu, memiliki tubuh yang kecil, perut yang buncit. Warna tubuhnya putih keperakan disertai sedikit warna coklat. Seluruh permukaan tubuh ditutupi sisik namun tidak memiliki garis lateral. Menurut

Langerhans *et al.* (2012), spesies ini memiliki ukuran Maksimal dimana jantan sebesar 4 cm TL (*Total Length*) sedangkan betina mencapai 7 cm TL (*Total Length*). Interval waktu hidupnya mencapai angka 3 tahun. Ikan gambusia (*Gambusia affinis*) merupakan ikan jenis ovovivipar, saat betina bertelur maka telurnya tidak diletakkan di perairan melainkan telur itu dibuahi serta dilindungi hingga lahir. Saat dewasa ikan gambusia (*Gambusia affinis*) menjadi sangat agresif bahkan sering ditemukan merobek, mencabik dan melukai spesies lainnya bahkan ikan ambusia (*Gambusia affinis*) sering memangsa telur dari spesies ikan lain yang berada didekatnya.

2.3 Biomarker pada Ikan

Biomarker adalah salah satu alat untuk meninjau lingkungan karena mampu memantau polutan yang mencemari lingkungan. Respon-respon yang diukur pada bahan uji, berkisar dari pengukuran enzim dan metabolisme xenobiotik pada indek organ dan kondisi keseluruhan. Tiga jenis biomarker diklasifikasikan berdasarkan respons yaitu biomarker penanda keterpaparan, efek, dan kerentanan (Parente dan Hauser-Davis, 2013). Ikan dianggap sebagai biomarker terbaik untuk memantau pencemaran air. Kajian tentang biomarker pada ikan, digunakan sebagai biomonitoring pencemaran tingkat dini, dan diharapkan dapat mampu menjadi sumber informasi yang bermanfaat bagi ilmu pengetahuan dan penelitian selanjutnya. Monitoring lingkungan perairan dengan biomarker merupakan sebuah metode yang memanfaatkan analisis kimia. Tingginya angka pencemaran akan terus menumpuk dan meracuni ikan (Aqilah *et al.*, 2017). Darah ikan dapat dijadikan sampel untuk pengujian biomarker guna memprediksi dosis atau konsentrasi yang diterima oleh individu, yang selanjutnya akan dikaitkan dengan perubahan yang timbul dalam suatu kondisi penurunan kesehatan ikan.

2.4 Parameter Kualitas Air

2.4.1 Suhu

Suhu merupakan suatu parameter acuan untuk mengetahui kualitas suatu perairan. Suhu di perairan tropis berkisar antara 25°C hingga 35 °C. Mainassy (2017) menyatakan, bervariasinya nilai suhu yang terjadi di perairan ini mengindikasikan bahwa nilai suhu di perairan dipengaruhi oleh faktor eksternal antara lain cuaca, angin dan arus. Keberadaan organisme perairan seperti ikan sangat dipengaruhi oleh suhu. Apabila suhu terlalu tinggi maka akan menimbulkan kondisi stress dan meningkatkan laju metabolisme pada ikan.

Menurut Hamuna *et al.* (2018), Suhu merupakan salah satu faktor eksternal yang berperan mengendalikan kondisi ekosistem perairan. Peningkatan suhu menyebabkan peningkatan dekomposisi bahan organik oleh mikroba. Kenaikan suhu dapat menyebabkan stratifikasi. Menurut Habiakare *et al.* (2015), Stratifikasi ini berasal dari peningkatan suhu yang mampu mengaktifkan dekomposisi bahan organik dan sejumlah bahan anorganik seperti (nitrogen dan fosfor). Hasil dekomposisi akan terakumulasi dalam sedimen dan akan membantu pertumbuhan fitoplankton. Akibatnya, oksigen terlarut akan menipis dan akan terjadi perubahan drastis dalam biota akuatik. Menurut Sitorus (2011), menyebutkan bahwa peningkatan suhu perairan cenderung menaikkan akumulasi dan toksisitas logam berat. Hal ini terjadi akibat meningkatnya laju metabolisme dari organisme air.

2.4.2 Derajat Keasaman (pH)

Azmi *et al.* (2016), menyatakan bahwa kadar pH dapat menentukan air dikategorikan baik, buruk, atau sedang. Kadar pH yang lebih rendah dari 7 dianggap asam dan kadar pH yang lebih tinggi dari 7 dianggap basa. Batas toleransi organisme akuatik adalah di antara pH 5-9, maka jika ada polutan yang

mengganggu sistem *buffer* perairan tersebut akan dapat menimbulkan gangguan yang serius bagi organisme akuatik. Beberapa jenis ikan mengeluarkan lendir sebagai salah satu bentuk pertahanan terhadap toksik.

Nilai pH sangat mempengaruhi proses biologi perairan dan toksisitas suatu senyawa kimia. Toksisitas logam memperlihatkan peningkatan pada pH rendah. Menurut Said *et al.* (2014), menyatakan bahwa perairan yang mengandung logam berat akan bersifat asam dari pada perairan yang bebas logam berat. Sehingga perubahan derajat keasaman ke arah asam pada perairan mengakibatkan semakin besar kelarutan pada logam berat.

2.4.3 Oksigen Terlarut (*Dissolved Oxygen*)

DO dibutuhkan oleh semua jasad hidup untuk pernapasan, proses metabolisme atau pertukaran zat yang kemudian menghasilkan energi untuk pertumbuhan dan pembiakan. Kandungan DO minimum adalah 2 ppm dalam keadaan normal dan tidak tercemar oleh senyawa beracun (toksik). Kecepatan difusi oksigen dari udara, tergantung dari beberapa faktor, seperti kekeruhan air, suhu, salinitas, pergerakan massa air dan udara seperti arus, gelombang dan pasang surut. Besarnya konsentrasi DO di perairan dipengaruhi oleh banyak faktor antara lain cuaca, kepadatan fitoplankton, siang dan malam serta dinamika organisme yang ada didalamnya (Siagian dan Simamarta, 2015).

Oksigen berperan sebagai pengoksidasi dan pereduksi bahan kimia beracun menjadi senyawa lain yang lebih sederhana dan tidak beracun. peranan oksigen adalah untuk mengoksidasi bahan organik dan anorganik dengan hasil akhirnya adalah nutrisi yang pada akhirnya dapat memberikan kesuburan perairan. Kondisi anaerobik, oksigen yang dihasilkan akan mereduksi senyawa-senyawa kimia menjadi lebih sederhana dalam bentuk nutrisi dan gas. Karena proses oksidasi dan reduksi inilah maka peranan oksigen terlarut sangat penting

untuk membantu mengurangi beban pencemaran pada perairan secara alami maupun secara perlakuan aerobik yang ditujukan untuk memurnikan air buangan industri dan rumah tangga (Salmin, 2005). Saat kekurangan oksigen maka organisme perairan kesulitan bernafas dan akan merangsang organisme untuk mengikat sel darah merah, hematokrit dan hemoglobin untuk meningkatkan mekanisme transisi oksigen di dalam tubuh.

2.4.4 Bahan Organik (*Biological Oxygen Demand*)

Menurut Amri (2007), Bahan organik mampu mendeskripsikan kebutuhan organisme akan oksigen untuk memecah bahan-bahan organik. Bila kandungan oksigen terlarut tidak memadai maka dapat menurunkan kemampuan organisme dalam memecah bahan organik tersebut. Konsentrasi BOD yang tinggi di suatu perairan mengakibatkan konsentrasi DO menurun yang artinya perairan tersebut kekurangan oksigen dan dapat menjadi indikasi adanya pencemaran bahan organik. Menurut Astuti dan Pratiwi (2016), nilai BOD dipengaruhi oleh suhu, pH, waktu inkubasi, kondisi osmotik, serta ketersediaan oksigen.

BOD₅ dapat mencerminkan tingkat pencemaran suatu badan air oleh buangan organik, semakin tinggi nilai BOD₅ berarti semakin besar tingkat pencemaran. Menurut Soewandita dan Sudiana (2010), batas maksimum BOD untuk kelas I adalah 2 mg/L dan batas maksimum BOD untuk kelas IV adalah 12 mg/L. Pemeriksaan BOD₅ diperlukan untuk menentukan beban pencemaran akibat air buangan penduduk atau industri, serta untuk mendesain sistem-sistem pengolahan biologis yang tepat untuk air yang tercemar tersebut. Parameter BOD, secara umum banyak dipakai untuk menentukan tingkat pencemaran air buangan. Pemecahan bahan organik diartikan bahwa bahan organik ini digunakan oleh organisme sebagai bahan makanan dan energinya diperoleh dari proses oksidasi.

2.4.5 Amonia

Amonia merupakan zat yang digunakan oleh organisme perairan dengan jumlah yang sangat sedikit. Kadar amonia yang tinggi akan menyebabkan perairan tersebut tercemar. Amonia berasal dari kandungan nitrogen yang bersumber dari limbah rumah tangga, industri, sisa pakan/feses dan bahan organik lainnya. Dalam Peraturan Pemerintah No. 82 Tahun 2001 tentang Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air, baku mutu amonia untuk sungai kelas satu adalah sebesar 0,5 mg $\text{NH}_3\text{-N}$ /liter (Hibban *et al.*, 2016). Amonia di dalam air ada dalam bentuk molekul (non disosiasi/unionisasi) ada dalam bentuk NH_3 dan ada dalam bentuk ion amonia (disosiasi) dalam bentuk NH_4^+ . Kedua bentuk amonia tersebut sangat bergantung pada kondisi pH dan suhu air. Dinding sel tidak dapat ditembus oleh ion ammonium (NH_4^+), akan tetapi amonia (NH_3) akan mudah didifusi melewati jaringan jika konsentrasinya tinggi dan berpotensi menjadi racun bagi tubuh ikan.

Amonia dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain nilai pH, saat nilai pH menurun maka terjadi terjadinya penambahan molekul amonia. Tingkat racun dari amonia selain karena faktor pH, dipengaruhi juga oleh kandungan oksigen di dalam air. Air dengan nilai pH rendah maka yang dominan adalah ammonium (NH_4^+), sebaliknya bila nilai pH tinggi yang dominan adalah amonia (NH_3). Amonia adalah bentuk yang paling beracun dari amonia. Amonia pada perairan apabila tidak teroksidasi oleh bakteri secara terus menerus dan dalam jangka waktu yang lama akan bersifat racun. Untuk mengatasi kadar amonia yang terlalu tinggi dapat penambahan biofiltrasi yang gunanya untuk mengikat amonia di dalam perairan tersebut. Selain itu untuk mengurangi kadar amonia juga dapat melakukan resirkulasi pada perairan. Resirkulasi perairan bermanfaat dalam

menjaga kualitas perairan dengan menggunakan kembali air yang digunakan (Norjanna *et al.*, 2015).

2.4.6 Fenol

Senyawa fenol terdiri dari rantai *benzene aromatic* dengan satu atau lebih kelompok hidroksil. Fenol dapat terdegradasi secara alami oleh cahaya matahari (fotodegradasi). Proses ini berlangsung secara lambat sehingga mengakibatkan akumulasinya lebih cepat daripada proses degradasinya. Secara umum sumber pencemaran fenol di badan air berasal dari batubara, kilang minyak dan air limbah yang berasal dari industri resin, plastik, fiber, lem, besi, baja, aluminium, karet serta effluen industri bahan bakar sintetik. Secara alami fenol berasal dari kotoran binatang ataupun manusia dan dekomposisi bahan organik (Hudori dan Yulianto, 2011).

Senyawa fenol dapat dikatakan aman bagi lingkungan jika konsentrasinya berkisar antara 0,5-1,0 mg/L sesuai dengan KEP No. 51/MENLH/10/1995. Sedangkan baku mutu yang sesuai dengan ketentuan PP 82 tahun 2001, Sungai Kelas III, besarnya konsentrasi fenol maksimum yang diperbolehkan adalah 0,001 mg/L. Hadirnya fenol yang melebihi batas ambang ke dalam ekosistem perairan dapat menjadi stresor kimia bagi organisme akuatik (Sari *et al.*, 2014). Senyawa fenol berbahaya bagi biota air karena memiliki sifat korosif, apabila ikan terpapar bahan pencemar fenol maka akan terjadi kematian pada biota tersebut. Fenol merupakan senyawa yang mengandung bahan toksik yang dapat mempengaruhi sintasan benih ikan bahkan dapat menyebabkan kematian (Oktaviani *et al.*, 2016).

2.4.7 Timbal (Pb)

Pb merupakan senyawa kimia dengan nomor atom 82 dan masuk pada golongan IV-A pada periodik. Pb yang masuk keperairan berasal dari industri

yang melakukan proses perwarnaan, pengecoran, pemurnian guna meningkatkan kualitas produk. Industri yang menghasilkan limbah Pb biasanya industri kimia, industri perminyakan, industri logam, cat dan berbagai industri lainnya. Kadar timbal lebih tinggi dari 0,8 ppm mengakibatkan anemia karena sudah terjadi keracunan dalam tubuh (Fauzan *et al.*, 2017). Bahan pencemar masuk kedalam tubuh organisme dapat melalui rantai makanan dan penyerapan ion pada insang sehingga terjadi akumulasi bahan pencemar pada tubuh organisme.

Menurut Said *et al.* (2014), logam berat seperti Pb memiliki sifat sangat reaktif terhadap ligan sulfur dan nitrogen. Ikatan ligan sulfur dan nitrogen sangat penting bagi fungsi metaloenzim dan metabolisme terhadap sel. Menurut Yuaipi dan Aunurohim (2013), Saat masuk kedalam tubuh maka Pb diikat oleh gugus *metallotionin* (*sulfhidril* -SH) dan amina (nitrogen -NH) lalu akan terakumulasi. Pb akan masuk kedalam sel dan didistribusikan keseluruh tubuh oleh darah. Sirkulasi darah menyebabkan Pb terakumulasi didalam pembuluh darah dan jaringan ikat saat Pb bertambah banyak maka kadar toksisitas semakin tinggi. Akibatnya kemampuan darah untuk menyebarkan nutrient dan oksigen akan melemah. Kemampuan mengikat oksigen dalam darah tergantung pada jumlah hemoglobin yang terdapat pada eritrosit. Dampak yang ditimbulkan adalah kematian *juvenile*, stress pada ikan, kerusakan organ, perubahan profil hematologi pada ikan.

2.4.8 Merkuri (Hg)

Menurut Mirdar *et al.* (2013), merkuri (Hg) merupakan logam berat yang berbentuk cairan pada suhu kamar. Merkuri (Hg) memiliki nomor atom 80, berat atom 200,59 dan massa jenis 13,6 gr/ml. Ciri-ciri yang dimiliki yaitu berwarna putih keperakan, memiliki volatilitas yang tinggi, termasuk dalam logam berat

paling beracun. Menurut Pemerintah RI berdasarkan KLH (2004) menyatakan kadar merkuri (Hg) di perairan maksimal 0,001 mg/L. Merkuri dibagi menjadi 2 yaitu merkuri anorganik dan organik. Merkuri anorganik merupakan merkuri yang apabila mengalami oksidasi akan kembali menjadi unsure Hg sedangkan merkuri organik merupakan merkuri yang bersifat molekul yang berikatan dengan karbon. Menurut Alfian (2006), merkuri anorganik terdiri dari unsur merkuri (Hg) dan garam mekurous (Hg_2Cl_2) dan garam merkurik (HgCl_2) sedangkan merkuri organik yaitu senyawa alkil merkuri (CH_3HgCl), aril merkuri ($\text{C}_6\text{H}_5\text{HgCl}$), dan alkoksialkil merkuri ($\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{HgCl}$). Ikatan merkuri karbon merupakan ikatan yang stabil karena aktivitas merkuri yang rendah terhadap oksigen namun ada juga yang berbahaya seperti (CH_3Hg).

Menurut Purnawan *et al.* (2013), merkuri (Hg) diperairan berdasarkan sumbernya terbagi menjadi dua yaitu berasal dari alam dan kegiatan manusia. Merkuri (Hg) yang berasal dari alam seperti pelapukan batuan, gempa dan gunung berapi, sedangkan yang berasal dari kegiatan manusia seperti limbah rumah tangga dan industri. Limbah industri yang sering menghasilkan merkuri (Hg) industri bahan peledak, bahan pengawet, pestisida, pabrik cat, kertas, pelampisan cermin dan industri lainnya. Edward (2017), merkuri (Hg) masuk dalam tubuh ikan melalui penyerapan pada permukaan kulit, melalui insang dan rantai makanan sedangkan pengeluarannya melalui permukaan tubuh, insang dan urine. Dampak yang ditimbulkan organ tubuh akan mengalami kerusakan jaringan dan kemudian mati. Selain itu, ikan tidak menghasilkan keturunan walaupun menghasilkan keturunan akan mengalami cacat fisik, misalnya pergerakannya tidak normal.

2.4.9 Kadmium (Cd)

Kadmium (Cd) dalam sistem periodik merupakan logam berat golongan II-B yang mempunyai nomor atom 48 dengan berat atom 112,4 dengan massa jenis sebesar $8,65 \text{ g/cm}^3$. Kadmium merupakan hasil pengolahan dari Seng (Zn). Ciri-ciri kadmium (Cd) berwarna putih perak, lunak, mengkilap, tahan terhadap korosi tidak larut dalam basa, mudah beraksi serta menghasilkan oksida bila dipanaskan. Happy *et al.* (2012), kadar kadmium (Cd) disuatu perairan maksimal 0,01 ppm dan minimal 0,003 ppm. Menurut Pemerintah RI berdasarkan KLH (2004) menyatakan kadar kadmium (Cd) di perairan maksimal 0,001 mg/L. Kadmium merupakan logam berat non esensial yang bersifat toksik. Peningkatan logam berat kadmium (Cd) secara terus menerus akan terakumulasi pada sedimen dan air sehingga mengakibatkan biota perairan terkontaminasi (Damaianto dan Masduqi, 2014).

Menurut Indirawati (2017), kadmium dalam air pada sungai berasal dari pencemaran oleh limbah domestik dan industri. Industri yang dapat menghasilkan limbah kadmium (Cd) adalah industri tekstil, baterai, cat, industri plastik dan lain-lain. Kadmium (Cd) merupakan logam yang bila masuk kedalam tubuh akan mengendap dan berakumulasi dalam waktu tertentu. Setiawan (2013), logam berat kadmium (Cd) yang memiliki toksisitas yang tinggi akan merusak pembuluh darah sehingga ikan akan kekurangan oksigen, anemia, dan pertumbuhannya semakin melambat.

2.5 Hematologi Sel Darah Ikan

Hematologi adalah ilmu yang mempelajari komponen sel darah serta kelainan fungsional dari sel darah. Informasi yang didapatkan dari pengamatan hematologi yaitu jumlah, jenis, struktur dan morfologi sel darah yang nantinya dijadikan acuan diagnosa kesehatan ikan. Fazio *et al.* (2013), profil hematologis

merupakan indikator yang mampu menjelaskan disfungsi fisiologis pada ikan karena adanya perubahan beberapa parameter seperti fisika dan kimia akibat pencemaran lingkungan perairan. Tujuannya adalah untuk mengevaluasi hubungan antara kesehatan ikan dan lingkungan. Ikan hidup sangat erat hubungannya dengan lingkungan. Bukhari *et al.*, (2012), ikan sangat ideal untuk diamati karena rentan terhadap perubahan karakteristik fisikokimia lingkungan perairan.

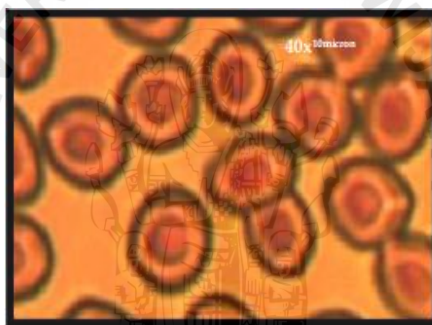
Maftuch *et al.* (2012) menyatakan bahwa darah terdiri dari dua kelompok besar yaitu sel dan plasma. Adapun sel darah terdiri dari sel darah merah (eritrosit) dan leukosit (leukosit). Berdasarkan warnanya sel darah dibagi menjadi sel darah merah dan sel darah putih. Darah mengandung sel-sel yang dirancang untuk mencegah infeksi, menghentikan pendarahan dan mengangkut hormon. Sel darah mempunyai peranan sangat penting dalam system kekebalan, terutama leukosit atau sel darah putih. Leukosit terdiri dari beberapa jenis berdasarkan bentuknya dan mempunyai beberapa fungsi dalam melawan benda asing yang berhasil masuk kedalam tubuh. Susunan sel-sel darah pada ikan sangat bervariasi tergantung jenis spesiesnya. Hidayat *et al.*, (2014), darah merupakan salah satu parameter yang dapat digunakan untuk melihat kelainan yang terjadi pada ikan, baik yang terjadi karena penyakit ataupun karena keadaan lingkungan.

Royan *et al.*, (2014), stres merupakan respon bertahan pada ikan terhadap penyebab stres (*stressor*). Berbagai sumber stres baik berupa faktor lingkungan (suhu, salinitas, pH, cahaya, pemeliharaan) maupun faktor biotik seperti infeksi mikroorganisme akan mempunyai dampak negatif terhadap perubahan fisiologis tubuh hewan. Perubahan tersebut meliputi, gangguan pertumbuhan, produktivitas dan semua aktivitas yang merupakan akibat dari mekanisme

homeostasis dalam tubuh yang terganggu. Ikan yang terserang penyakit akan mengalami perubahan jumlah sel darah merah dan jumlah sel darah putih.

2.5.1 Eritrosit (Sel Darah Merah)

Eritrosit merupakan sel yang paling banyak jumlahnya. Eritrosit memiliki inti yang terletak sentra dengan sitoplasma dan akan terlihat jernih kebiruan dengan pewarnaan giemsa. Sukenda *et al.* (2008) melaporkan bahwa eritrosit yang matang berbentuk oval sampai bundar dengan inti yang kecil dan sitoplasma dalam jumlah yang besar. Ikan yang memiliki diameter eritrosit yang kecil, laju metabolismenya lebih tinggi dibandingkan dengan ikan yang diameternya lebih besar. Adapun gambar eritrosit seperti gambar dibawah ini:



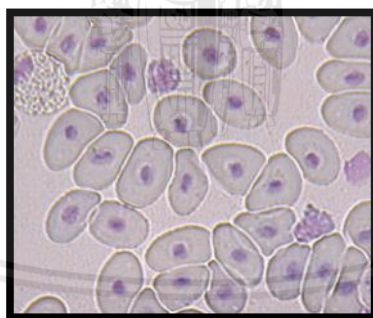
Gambar 2. Eritrosit pada ikan teleostei (Acharya dan Mohanty, 2019)

Sel darah merah mengandung hemoglobin yang memungkinkan sel darah merah membawa oksigen ke seluruh jaringan tubuh. Jumlah eritrosit pada ikan *Teleostei* berkisar antara $(1,05-3,0) \times 10^6$ sel/mm³ (Robert, 2012). Eritrosit diproduksi di dalam organ ginjal bagian depan dan organ limpa. Sari *et al.* (2017), rendahnya jumlah eritrosit merupakan indikator terjadinya anemia, sedangkan tingginya jumlah eritrosit mengindikasikan bahwa ikan dalam keadaan stress. Selain itu menurut Rahma *et al.* (2015), rendahnya eritrosit akan menyebabkan ikan tidak mampu mengambil oksigen dalam jumlah banyak walaupun ketersediaan oksigen di perairan mencukupi. Akibatnya ikan akan mengalami *anoxia*.

Faktor yang mempengaruhi nilai eritrosit ikan antara lain umur, jenis kelamin, lingkungan, nutrisi, nafsu makan dan kondisi kekurangan oksigen. Yanto *et al.* (2015), Jumlah eritrosit dipengaruhi oleh suhu air. Suhu yang tinggi akan menyebabkan penurunan jumlah eritrosit. Ikan yang terkena penyakit atau pencemaran makan nafsu makannya menurun, sehingga nilai hematokrit darahnya menjadi tidak normal dan diikuti dengan jumlah eritrosit yang juga rendah. Rendahnya jumlah eritrosit merupakan indikator terjadinya anemia, sedangkan tingginya jumlah eritrosit mengindikasikan bahwa ikan dalam keadaan stress.

2.5.2 Leukosit (Sel Darah Putih)

Leukosit merupakan salah satu komponen sel darah yang berfungsi sebagai pertahanan non spesifik yang akan melokalisasi dan mengeliminasi pathogen. Leukosit berperan penting dalam sistem kekebalan tubuh. Adapun gambar leukosit seperti gambar dibawah ini:



Gambar 3. Leukosit pada ikan teleostei (Gordeev *et al.*, 2017)

Jumlah total leukosit pada ikan air tawar normal yaitu 20.000-150.000 sel/mm³ (Susandi, *et al.*, 2017). Menurut Mahasri *et al.* (2011), leukosit membantu membersihkan tubuh dari benda asing, termasuk invasi patogen melalui sistem tanggap kebal. Ikan yang sakit akan menghasilkan banyak leukosit untuk memfagosit bakteri dan mensintesis antibodi. Menurut Campbell dan Ellis (2013), leukosit dibedakan menjadi dua macam berdasarkan ada dan

tidaknya butir-butir (granul) di dalam sel, yaitu granulosit dan agranulosit. Granulosit terdiri atas neutrofil, eosinofil dan basofil sedangkan agranulosit terdiri dari monosit dan limfosit.

Leukosit total dalam darah menunjukkan kondisi kesehatan ikan. Ikan yang mengalami stres yang disebabkan oleh perubahan kondisi lingkungan maupun karena benda asing memperlihatkan respons kenaikan jumlah sel leukosit. Lestari *et al.* (2017), menyatakan jumlah leukosit yang tinggi diduga karena stress pada ikan akibat kualitas air yang buruk dan tercemar. Peningkatan jumlah leukosit disebut leukositosis yang merupakan bentuk dari respon imunitas tubuh dalam melawan mikroorganisme. Jumlah leukosit dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu spesies ikan, umur, nutrisi dan stress Menurut Sari *et al.* (2016), kerusakan dan kematian jaringan memicu peningkatan produksi leukosit yang ikut berperan dalam mencerna bahan asing penyebab kerusakan dan menghancurkan sel-sel yang rusak. Leukosit akan masuk ke sel yang rusak dan membuat keadaan lebih parah lagi.

2.5.3 Penelitian Terdahulu tentang Eritrosit dan Leukosit

Pemeriksaan darah digunakan sebagai indikator penanda tingkat keparahan suatu penyakit. Studi hematologis merupakan kriteria penting untuk mendiagnosa kesehatan ikan. Penelitian terdahulu ini menjadi salah satu acuan penulis dalam melakukan penelitian sehingga penulis dapat memperkaya teori yang digunakan dalam mengkaji penelitian yang dilakukan. Dari penelitian terdahulu, penulis mengangkat beberapa penelitian sebagai referensi dalam memperkaya bahan kajian pada penelitian penulis. Adapun uji terdahulu yang dijadikan acuan pada pengamatan parameter hematologi seperti yang terdapat pada tabel 1:

Tabel 1. Jumlah Eritrosit dan Leukosit yang diamati pada Penelitian Terdahulu

Penulis	Judul	Hasil Penelitian
Maheswaran <i>et al.</i> , 2008.	Haematological studies of fresh water fish, <i>Clarias batrachus</i> (L.) exposed to mercuric chloride	Organisme: <i>C. batrachus</i> Bahan Pencemar: HgCl Erirosit: $1,77 \times 10^6$ sel/mm ³ (normal) dan $1,23 \times 10^6$ sel/mm ³ (tercemar) Leukosit: $6,4 \times 10^3$ sel/mm ³ (normal) dan $14,8 \times 10^3$ sel/mm ³ (tercemar)
Jayaprakash <i>et al.</i> , 2013.	Changes in the hematology of the freshwater fish, <i>Channa punctatus</i> (Bloch) exposed to the toxicity of deltamethrin	Organisme: <i>Channa punctatus</i> Bahan Pencemar: <i>deltrameltrin</i> Erirosit: $3,139 \times 10^6 - 3,165 \times 10^6$ sel/mm ³ (Belum terpapar) dan $1,873 \times 10^6 - 2,833 \times 10^6$ sel/mm ³ (setelah terpapar) Leukosit: $18,084 \times 10^3 - 18,808 \times 10^3$ sel/mm ³ (Belum terpapar) dan $14,793 \times 10^3 - 20,564 \times 10^3$ sel/mm ³ (setelah terpapar)
Parrino <i>et al.</i> , 2018.	Comparative study of haematology of two teleost fish (<i>Mugil cephalus</i> and <i>Carassius auratus</i>) from different environments and feeding habits	Organisme: <i>Mugil cephalus</i> and <i>Carassius auratus</i> Bahan Pencemar: amonia Erirosit: $2,08 \times 10^6$ sel/mm ³ (<i>Mugil cephalus</i>) dan $0,5 \times 10^6$ sel/mm ³ (<i>Carassius auratus</i>) Leukosit: $30,08 \times 10^3$ sel/mm ³ (setelah terpapar) (<i>Mugil cephalus</i>) dan $66,35 \times 10^3$ sel/mm ³ (<i>Carassius auratus</i>)
Schutt <i>et al.</i> , 1997.	Haematology of swordtail, <i>Xiphophorus helleri</i> . I: blood parameters and light microscopy of blood cells	Organisme: <i>Xiphophorus helleri</i> . Pembahasan: Haematological parameters of adult Erirosit: $4.5 \pm 1.32 \times 10^6$ sel/mm ³ (tercemar) Leukosit: $15.2 \pm 7.35 \times 10^3$ sel/mm ³ (tercemar)
Martins <i>et al.</i> , 2008	Haematological changes in <i>Nile tilapia</i>	Organisme: <i>Nile tilapia</i> Bahan Pencemar: <i>Enterococcus</i>

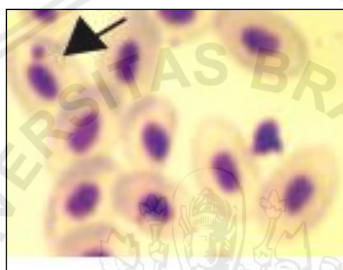
Penulis	Judul	Hasil Penelitian
	experimentally infected with <i>Enterococcus sp.</i>	<i>sp.</i> Erirosit: $0.5 \pm 0.74 \times 10^6$ sel/mm ³ (tercemar) Leukosit: $2.5 \pm 7.8 \times 10^3$ sel/mm ³ (tercemar)
Norousta et al., 2013.	Comparative characterization of blood cells and hematological parameters between the mature and immature <i>Caspian Vimba, Vimba vimba persa</i> (<i>Teleostei, Cyprinidae</i>)	Organisme: <i>Vimba vimba persa</i> (<i>Teleostei, Cyprinidae</i>) Pembahasan: <i>hematological parameters between the mature and immature</i> Erirosit: $1.69 \pm 0.21 \times 10^6$ sel/mm ³ Leukosit: $6.02 \pm 0.96 \times 10^3$ sel/mm ³
Royan et al., 2014	Pengaruh Salinitas Yang Berbeda Terhadap Profil Darah Ikan Nila (<i>Oreochromis Niloticus</i>)	Organisme: <i>Oreochromis Niloticus</i> Pembahasan: Salinitas Erirosit: $1,05 \times 10^6 - 3,0 \times 10^6$ sel/mm ³ (normal) Leukosit: 20.000 -150.000 sel/mm ³ (normal)
Zulkarnain et al., 2017.	Pengaruh Penambahan Vitamin C Pada Pakan Sebagai Imunostimulan Terhadap Performa Darah, Kelulushidupan, dan Pertumbuhan (<i>Puntius javanicus</i>)	Organisme: <i>Puntius javanicus</i> Pembahasan: Pengaruh Vitamin Erirosit: $1,05 \times 10^6 - 3,0 \times 10^6$ sel/mm ³ (normal) Leukosit: $20 \times 10^3 - 150 \times 10^3$ sel/mm ³ (normal)
Yanto et al., 2015	Studi Hematologi untuk Diagnosa Penyakit Ikan Secara Dini di Sentra Produksi Budidaya Ikan Air Tawar Sungai Kapuas Kota Pontianak	Organisme: <i>Clarias gariepinus</i> Pembahasan: Penyakit Ikan Budidaya Erirosit: $3,18 \times 10^6$ sel/mm ³ (normal) Leukosit: $20 - 150 \times 10^3$ sel/mm ³ (normal)
Fauzan et al., 2017	Pengaruh Tingkat Paparan Timbal (Pb)	Organisme: <i>Oreochromis niloticus</i> Bahan Pencemar: timbal

Penulis	Judul	Hasil Penelitian
	Terhadap Profil Darah Ikan Nila (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Erirosit: 20.000 – 3.000.000 sel/mm ³ (normal) Leukosit: 20.000 – 150.000 sel/mm ³
Yuni <i>et al.</i> , 2010	Studi Hematologi Ikan Semah (<i>Tor douronensis</i>), Jelawat (<i>Leptobarbus hoeveni</i>), Tengadak (<i>Barbonymus schwanenfeldi</i>), Biawan (<i>Helostoma temmincki</i>), dan Botia (<i>Chromobotia macracanthus</i>)	Organisme: <i>Tor douronensis</i> , <i>Leptobarbus hoeveni</i> , <i>Barbonymus schwanenfeldi</i> , <i>Helostoma temmincki</i> , <i>Chromobotia macracanthus</i> Pembahasan: Hematologi Erirosit: 3,18 x 10 ⁵ sel/mm ³ (normal) Leukosit: 32.000-146.000 sel/mm ³ (normal)
Riski <i>et al.</i> , 2014	Darah Ikan Nila (<i>Oreochromis niloticus</i>) dengan Penambahan Dosis Prebiotik yang Berbeda dalam Pakan	Organisme: <i>Oreochromis niloticus</i> Bahan Pencemar: Dosis Probiotik Erirosit: 20.000 – 3.000.000 sel/mm ³ (normal) Leukosit: 20.000 – 150.000 sel/mm ³
Purwanti <i>et al.</i> , 2014	Profil Darah Ikan Lele Dumbo (<i>Clarias gariepinus</i>) Yang Diberi Pakan dengan Kombinasi Pakan Buatan dan Cacing Tanah (<i>Lumbricus rubellus</i>)	Organisme: <i>Clarias gariepinus</i> Bahan Pencemar: Pengaruh pakan Erirosit: 1,05x10 ⁶ –3,0x10 ⁶ sel/mm ³ (normal) Leukosit: 20.000 – 150.000 sel/mm ³ (normal)

Penelitian terdahulu yang didapat menjadi acuan dan pembandingan terhadap parameter hematologi yang didapat pada saat pengamatan secara langsung. Dibutuhkan analisis untuk mengetahui apakah yang mempengaruhi persamaan dan perbedaan yang terjadi.

2.6 Mikronuklei

Mikronuklei memiliki ukuran yang sangat kecil, yaitu antara 1/18 dan 1/3 dari inti. Mikronuklei terutama berasal pada akhir mitosis telofase sebagai akibat dari cacat gelendong selama proses segregasi dalam anafase. Akibatnya, terjadi kerusakan untai ganda DNA terjadi yang mengarah pada pembentukan kromosom asentrik atau fragmen kromatid, atau seluruh kromosom yang gagal untuk dimasukkan ke dalam inti anak (Fenech *et al.*, 2011). Adapun gambar mikronuklei seperti gambar dibawah ini:



Gambar 4. Mikronuklei pada ikan teleostei (Anbumani dan Mohankumar, 2011)

Mikronuklei yang mengandung fragmen kromosom atau kromatid ditutup oleh membran nuklir yang menunjukkan morfologi yang mirip dengan nuklei setelah pewarnaan nuklir konvensional. Uji Mikronuklei membantu mendeteksi kerusakan kromosom, yaitu klastogenisitas, yang diinduksi oleh spesies oksigen reaktif, serta efek aneuploidogenik yang dapat disebabkan oleh gangguan fisik (Pfuhrer *et al.*, 2013). Pola pembentukan mikronukleus dalam suatu individu sangat tergantung pada jenis paparan karsinogen yang diterimanya. Paparan karsinogen bisa terjadi secara berulang ataupun tidak menentu. Selain itu juga dapat diberdakan oleh lamanya paparan yang terjadi.

2.7 Pencemaran Logam Berat di Perairan

Sungai sering dijadikan tempat pembuangan terakhir oleh masyarakat Indonesia. Dibuktikan dengan berbagai sumber pencemaran perairan pesisir berasal dari limbah industri, limbah cair pemukiman (*sewage*), limbah cair perkotaan (*urban stormwater*), pelayaran (*shipping*), pertanian, perikanan budidaya. yang pada akhirnya membuang limbah hasilnya langsung ke badan perairan. Air limbah domestik yang dibuang keperairan memiliki kontribusi yang cukup besar untuk mengakibatkan pencemaran yaitu 60-80% langsung dibuang keperairan (Susanthi *et al.*, 2018). Peningkatan jumlah limbah yang tertimbun diperairan mengakibatkan penurunan kualitas perairan. Penurunan kualitas air akan menurunkan daya guna, hasil guna, produktivitas, daya dukung dan daya tampung dari sumberdaya perairan yang pada akhirnya menurunkan kekayaan sumberdaya alam. Menurut Gholizadeh *et al.* (2016) setiap perubahan dalam ekosistem rentan akibat kegiatan antropogenik yang dapat membahayakan habitat ikan dan organisme air lainnya yang mengakibatkan pencemaran perairan.

Umumnya sebuah industri akan menggunakan bahan kimia seperti fenol untuk meningkatkan kualitas produknya. Senyawa fenol banyak ditemukan diperairan, senyawa ini dapat didegradasi oleh mikroorganisme pengurai fenol, namun hal itu sulit terjadi karena jumlah dan kemampuan mikroorganisme sangat terbatas untuk mengurangi sifat toksiknya. Banyak penelitian menyatakan bahwa limbah industri menghasilkan kadar logam berat yang cukup tinggi disuatu perairan Logam berat pada umumnya memiliki densitas lebih dari 5 gr/cm^3 dan nomor atom lebih besar dari 21 pada table periodik. Urutan konsentrasi logam berat dalam air dari yang terbesar ke terkecil adalah $\text{Pb} > \text{Cu} > \text{Cd}$ Logam berat pada umumnya memiliki sifat toksik dan berbahaya bagi

organisme hidup, walaupun terdapat dalam konsentrasi yang rendah. Kerusakan ekosistem perairan dari aspek ekologis akibat pencemaran logam berat dapat ditentukan oleh faktor kadar dan kesinambungan zat pencemar yang masuk dalam perairan, sifat toksisitas dan bioakumulasi. Logam berat pada konsentrasi yang tinggi dapat menyebabkan kematian bagi biota perairan, sedangkan pada konsentrasi yang rendah dapat menyebabkan terjadinya akumulasi dalam tubuh biota tersebut (Monsefrad *et al.* 2012). Logam berat dapat terakumulasi di dalam tubuh suatu organisme dan tetap tinggal dalam jangka waktu lama sebagai racun. Tingkat pencemaran perairan dapat diketahui dengan melakukan analisis kandungan logam berat yang terakumulasi di dalam biota perairan. (Prastyo *et al.*, 2017), kandungan logam berat yang tinggi dan melebihi batas normal yang telah ditentukan dapat dijadikan sebagai data analisis pencemaran suatu lingkungan, terutama bila dibandingkan dengan baku mutu kualitas perairan.

2.8 Mekanisme Logam Berat diserap oleh Darah

Ikan merupakan salah satu biota perairan yang sering dipakai sebagai bioindikator logam berat di perairan. Ikan yang hidup pada habitat yang terbatas seperti sungai, lebih mudah terkontaminasi logam berat bila dibandingkan dengan ikan yang hidup di perairan terbuka. Akumulasi logam berat yang terjadi pada ikan disebabkan adanya kontak antara ikan dengan medium perairan yang mengandung senyawa toksik. Proses bioakumulasi logam berat pada ikan bisa terjadi secara fisis maupun biologis (biokimia). Proses fisis berupa menempelnya senyawa logam berat pada bagian tubuh, luar tubuh, insang dan lubang-lubang membran lainnya yang berasal dari air maupun dari senyawa yang menempel pada partikel. Proses biologis terjadi melalui proses rantai makanan dan tidak

menutup kemungkinan terabsorbsinya logam berat yang sebelumnya hanya menempel.

Proses akumulasi logam berat dalam jaringan ikan terjadi setelah adsorpsi logam berat dari air atau melalui pakan yang terkontaminasi. Timbal masuk ke ikan melalui insang, karena insang sangat peka terhadap pengaruh toksisitas logam. Logam berat adalah unsur-unsur kimia dengan densitas lebih besar dari 5 g/cm^3 , mempunyai afinitas yang tinggi terhadap S dan biasanya bernomor atom 22 sampai 92, dari periode 4 sampai 7. Logam berat masih termasuk golongan logam-logam dengan kriteria yang sama dengan logam lainnya namun perbedaannya terletak dari pengaruh terhadap masuknya logam ke tubuh ikan. Contoh, unsur logam besi (Fe) masuk dalam tubuh, meski dalam jumlah agak berlebihan biasanya tidak menimbulkan pengaruh yang buruk terhadap tubuh karena unsur besi (Fe) dibutuhkan dalam darah untuk mengikat oksigen. Sedangkan unsur logam berat baik itu logam berat beracun yang dipentingkan seperti tembaga (Cu), bila masuk ke dalam tubuh dalam jumlah berlebihan akan menimbulkan pengaruh-pengaruh buruk terhadap fungsi fisiologis tubuh. Sebagian logam berat seperti timbal (Pb), kadmium (Cd), dan merkuri (Hg) merupakan zat pencemar yang sangat berbahaya. Afinitasnya yang tinggi terhadap S menyebabkan logam ini menyerang ikatan S dalam enzim, sehingga enzim yang bersangkutan menjadi tidak aktif. Gugus karboksilat ($-\text{COOH}$) dan amina ($-\text{NH}_2$) juga bereaksi dengan logam berat. Kadmium, timbal, dan tembaga terikat pada sel-sel membran yang menghambat proses transformasi melalui dinding sel. Logam berat juga mengendapkan senyawa fosfat biologis atau mengkatalis penguraiannya (Elyazar, 2007). Logam berat dalam aliran darah sebagian besar diserap dalam bentuk ikatan dengan eritrosit akibatnya, enzim oksidase dan menghambat sistem metabolisme sel.

3. METODOLOGI

3.1 Materi Penelitian

Materi dalam penelitian ini adalah mengamati hematologi dan mikronuklei pada ikan gambusia (*Gambusia affinis*) yang ditemukan di Sub Brantas wilayah Surabaya dan Mojokerto, Provinsi Jawa Timur. Parameter kualitas air yang diukur antara lain suhu ($^{\circ}\text{C}$), pH, Oksigen terlarut (mg/L), BOD (mg/L), Fenol (mg/L) dan Logam berat (Pb (mg/L), Hg (mg/L), Cd (mg/L)).

3.2 Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan pada penelitian adalah prosedur hematologi, mikronuklei dan pengukuran kualitas air (suhu ($^{\circ}\text{C}$), pH, Oksigen terlarut (mg/L), BOD (mg/L), Fenol (mg/L) dan Logam berat (Pb (mg/L), Hg (mg/L), Cd (mg/L)) dapat dilihat pada lampiran 2.

3.3 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah metode deskriptif dengan teknik survei. Pada metode ini pengambilan data dilakukan tidak hanya terbatas pada pengumpulan data dan penyusunan data, tetapi meliputi analisis dan pembahasan tentang data. Menurut Gumilang (2016), tujuan metode deskriptif yaitu untuk memaparkan, melukiskan, menguraikan keadaan fenomena yang sudah dan sedang berlangsung serta menjelaskan secara sistematis, nyata, akurat mengenai fakta keadaan lapangan

3.3.1 Teknik Pengumpulan Data

a. Data Primer

Data primer merupakan data yang diperoleh dengan survei lapangan secara langsung sehingga hasil pengumpulan data original. Data yang diperoleh

langsung dari subyek penelitian dengan menggunakan alat pengukuran atau alat pengambilan data langsung pada subjek. Wawancara yang dilakukan merupakan wawancara informal. Wawancara ini bersifat fleksibel dan pewawancara dengan bebas menanyakan berbagai pertanyaan kepada narasumber dalam urutan manapun yang diinginkan (Rachmawati, 2007). Dokumentasi merupakan metode mengumpulkan data melalui mempelajari, mencatat, foto, yang berasal dari peninggalan tertulis seperti arsip, termasuk juga buku tentang teori, pendapat, dalil dan hukum yang relevan sebagai sumber data (Misna, 2015). Praktik Skripsi ini dokumentasi dilakukan dengan cara mengambil dengan menggunakan alat bantu kamera. Selain itu, mencatat data dari lokasi lapang.

b. Data Sekunder

Data sekunder merupakan data yang telah dikumpulkan untuk menyelesaikan masalah yang dihadapi. Data ini dapat ditemukan dengan cepat dibandingkan data primer (Sugiyono, 2009). Sumber data sekunder dari skripsi berasal dari literatur, jurnal, buku, skripsi serta situs di internet yang berkenaan dengan penelitian yang dilakukan.

3.3.2 Penetapan Stasiun Pengamatan

Penetapan stasiun pengamatan dengan melihat lokasi agar memudahkan mekanisme pengambilan sampel. Lokasi pengambilan sampel dibagi menjadi 3 stasiun 1, Sungai Bangsal Mojokerto, stasiun 2, Sungai Sadar Mojokerto dan stasiun 3, Sungai Karang Pilang Surabaya seperti yang dilampirkan pada Lampiran 1. Penentuan stasiun didasarkan pada potensi terjadinya limbah baik permukiman, pertanian maupun industri, mudahnya akses menuju lokasi pengambilan sampel, dan merupakan kawasan habitat dari organisme yang

akan diteliti. Berdasarkan pertimbangan tersebut dan hasil pengamatan di lapang, stasiun yang ditentukan yakni:

Stasiun I : Pemukiman warga

Stasiun II : Dekat dengan pertanian dan persawahan

Stasiun III: Dekat dengan pembuangan limbah pabrik

Perbedaan tempat hidup diduga mempengaruhi masuknya logam berat di perairan dan pengaruh yang terjadi pada sampel ikan akan berbeda pula. Perbedaan ini diharapkan menghasilkan informasi yang beragam mengenai pencemaran logam berat baik Pb, Hg dan Cd yang terjadi di perairan.

3.4 Teknik Pengambilan Ikan

Pengambilan ikan dilakukan dengan menggunakan Sesar dan Jaring. Sampel ikan gambusia (*Gambusia affinis*) diambil di Sungai Brantas wilayah (Surabaya dan Mojokerto), Jawa Timur. Pengambilan ikan dilakukan pada tiap-tiap stasiun yang sudah ditentukan (3 Stasiun) dan dilakukan pengukuran kualitas air (Suhu, pH, DO, BOD, Fenol dan Logam Berat Pb, Hg dan Cd). Masing-masing sub stasiun diambil 5 ekor ikan gambusia (*Gambusia affinis*), jadi jumlah keseluruhan ikan pada ketiga stasiun sebanyak 15 ekor ikan gambusia (*Gambusia affinis*). Dilakukan 1 bulan sekali sebanyak 3 kali ulangan. Waktu pengamatan selama 3 bulan. Pada satu kali pengamatan dibutuhkan 45 ekor ikan gambusia (*Gambusia affinis*) jadi, total ikan gambusia (*Gambusia affinis*) yang digunakan sebagai sampel sebanyak 135 ekor.

Pengambilan sampel darah ikan dilakukan menggunakan spuit yang selanjutnya akan dibuat preparat dan diamati jumlah eritrosit, leukosit dan mikronuklei Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Sedangkan untuk kualitas perairan diuji di Laboratorium Hidrobiologi divisi lingkungan dan bioteknologi Fakultas Perikanan

dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya dan Unit Analisis Kimia dan Pengukuran Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya Malang.

3.5 Metode Pemeriksaan Darah

3.5.1 Metode Pengambilan Darah Ikan

Menurut Yanto *et al.*(2015), pengambilan darah pada ikan dilakukan sebagai berikut:

- a) Mengeringkan tubuh ikan gambusia (*Gambusia affinis*) menggunakan tisu.
- b) Mengambil darah dari bagian *linea lateralis* dekat insang menggunakan jarum suntik dan diberikan antikoagulan untuk mencegah penggumpalan darah.
- c) Menyimpan darah yang sudah diambil ke dalam tabung *apendorf* dan siap untuk diamati parameter hematologinya.

3.5.2 Metode Pengamatan Sel Darah Ikan

Menurut Santoso *et al.* (2013), setelah darah ikan diambil, selanjutnya dilakukan pengamatan sel darah ikan dengan pembuatan preparat apus, yakni:

- a) Meneteskan satu tetes darah ikan gambusia (*Gambusia affinis*) pada *object glass*.
- b) Meletakkan *cover glass* dengan posisi 45° di atas *object glass*, lalu digeser ke belakang hingga menyentuh darah dan darah menyebar.
- c) Menggeser *cover glass* ke arah yang berlawanan sehingga membentuk suatu lapisan darah yang tipis.
- d) Membiarkan preparat ulas darah sampai kering.
- e) Merendam preparat di dalam *methanol* selama ± 5 menit dan dikeringkan.
- f) Memberikan larutan *giemsa* sebanyak 1 tetes dan dibiarkan selama ± 30 menit, kemudian dicuci dan dikeringkan.

g) Mengamati preparat di bawah mikroskop.

3.5.3 Pengamatan Jumlah Sel Darah Merah (Eritrosit)

Pengamatan jumlah sel darah merah ikan dilakukan berdasarkan metode Blaxhall dan Daisley (1973), yaitu mengambil darah menggunakan pipet eritrosit hingga batas 0,5. Kemudian, darah dicampur dengan larutan hayem sampai batasnya 101 yang tertera pada pipet eritrosit. Homogenkan isi pipet dengan cara membuat gerakan angka 8 agar tercampur, buang tiga tetes pertama, dan masukkan ke dalam kamar hitung *haemocytometer*, serta ditutup dengan *cover glass* dan dilakukan perhitungan di bawah mikroskop. Amati di bawah mikroskop dengan perbesaran 10 x 40. Semua eritrosit yang dihitung terdapat dalam 5 kotak kecil. Perhitungan jumlah eritrosit dimulai dari kotak kiri atas, kanan atas, kanan bawah, kiri bawah, dan kotak bagian tengah. Rumus perhitungan jumlah eritrosit adalah:

$$\text{Eritrosit} = n \times \frac{1}{5 \times 0,004} \times 200 \text{ sel/mm}^3$$

Keterangan:

n : jumlah eritrosit di kotak yang diambil

5 : bidang pandang yang diambil

200 : faktor pengenceran

0,004 : konstanta

3.5.4 Pengamatan Sel Darah Putih (Leukosit)

Pengamatan leukosit dilakukan berdasarkan metode Blaxhall dan Daisley (1973), yaitu darah diambil menggunakan pipet leukosit hingga garis menunjukkan 0,5. selanjutnya, ditambahkan larutan turk hingga mencapai 11. Setelah itu, larutan yang ada di dalam alat hisap dihomogenkan dengan membentuk angka 8 dan buang tiga tetes pertama. Kemudian, darah ditetaskan

pada kamar hitung *haemocytometer* dan ditutup dengan *cover glass*. Amati di bawah mikroskop dengan perbesaran 10 x 40. Semua leukosit yang dihitung terdapat dalam 4 kotak besar. Leukosit dihitung dari sudut kiri atas, kanan atas, kanan bawah, dan kiri bawah. Rumus perhitungan jumlah leukosit adalah:

$$\text{Leukosit} = n \times \frac{1}{4 \times 0,1} \times 20 \text{ sel/mm}^3$$

Keterangan:

- n : jumlah leukosit di kotak yang diambil
 4 : bidang pandang yang diambil
 20 : faktor pengenceran
 0,1 : konstanta

3.5.5 Pengamatan Mikronuklei Pada Sel Darah Ikan

Menurut Kousar dan Javed (2015), pengamatan mikronuklei pada sel darah ikan dilakukan dengan cara pertama-tama mengambil darah dari *linea lateralis* dengan menggunakan jarum suntik yang telah dilengkapi dengan antikoagulan agar darah tidak menggumpal. Darah yang telah diambil segera dibuat preparat apus darah di atas *object glass*, dan dikeringkan pada suhu ruang. Setelah itu, apusan darah difiksasi dengan *methanol* selama ± 10 menit dan dilanjutkan dengan pewarnaan menggunakan *giemsa* 10% selama 1 jam. Tiap sampel darah dibuat 2 preparat apus untuk pengamatan 1000 eritrosit, perhitungan 500 eritrosit untuk tiap preparat dan diamati ada tidaknya mikronuklei. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 10 x 40.

3.6 Prosedur Pengukuran Pengambilan Sampel Air

Pengambilan sampel air sesuai dengan SNI (1990), yaitu menyiapkan wadah berupa botol dibilas sebanyak tiga kali, selanjutnya mengambil sampel air

dengan dimasukkan ke botol secara horizontal dan volume sampel yang diambil dari setiap titik harus sama. Jumlah sampel logam berat Cd, Pb dan Hg yang dibutuhkan adalah 500 ml. Sampel air dimasukkan ke dalam botol serta menambahkan larutan Asam Nitrat HNO_3 sebagai pengawet. Sampel Amonia, BOD, Fenol dimasukkan ke dalam botol berukuran 150 ml. Botol sampel disimpan di dalam coolbox. Pengukuran parameter fisika dan kimia dilakukan dengan 2 cara yaitu secara langsung dan analisis laboratorium. Pengamatan dan pengukuran langsung dilakukan terhadap parameter suhu, pH dan DO. Parameter BOD, Amonia, Fenol, Logam Berat Pb, Hg dan Cd dilakukan analisis di Unit Analisis dan Pengukuran Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya Malang.

3.6.1 Parameter Fisika

Adapun Parameter Fisika yang diukur selama penelitian yaitu:

a. Suhu

Pengukuran suhu menggunakan alat parameter DO meter dengan merek Leutron seri PDO-520. Setiap stasiun, dilakukan pengukuran suhu 4 kali pengulangan dengan 3 titik per – substasiun agar nilai suhu dapat mewakili kondisi sungai tersebut. Adapun langkah-langkah menggunakan alat DO meter, yaitu:

1. Menekan tombol “POWER” pada alat, kemudian tekan tombol “HOLD” dan tekan tombol “REC”. Hal tersebut berfungsi untuk mengkalibrasi alat sebelum digunakan.
2. Menunggu hingga layar pada alat menunjukkan angka 0, kemudian nilai kembali berjalan.
3. Mencilupkan DO meter ke perairan dan tunggu sekitar 2 – 3 menit hingga angkanya konstan.

4. Menekan tombol "HOLD" yang berfungsi untuk menghentikan nilai yang terbaca pada alat dan kemudian baca nilai suhu yang tertera pada alat tersebut dengan satuan °C.

3.6.2 Parameter Kimia

Adapun parameter kimia yang diukur selama penelitian, yaitu:

a. pH

Menurut (SNI) No.06-6989.11-2004, pengukuran pH perairan menggunakan alat bernama pH meter merk Hanna seri HI98107. Sebelum menggunakan pH meter, harus dikalibrasi terlebih dahulu menggunakan larutan penyangga. Adapun langkah – langkah dalam pengukuran menggunakan pH meter, yaitu:

1. Membilas elektroda pH meter dengan akuades, selanjutnya dikeringkan dengan tisu.
2. Mencilupkan elektroda ke dalam sampel sampai pH meter menunjukkan pembacaan yang stabil.
3. Mencatat hasil pembacaan skala atau angka pada tampilan pH meter.

b. Oksigen terlarut (*Dissolved Oxygen*)

Menurut Rovita *et al.* (2012), pengukuran oksigen terlarut menggunakan alat oksigen terlarut meter dengan merk Leutron seri PDO-520 dengan cara memasukkan sensor ke dalam perairan kemudia ditunggu sampai skalanya stabil. Adapun langkah – langkah penggunaan DO meter, yaitu:

1. Menekan tombol "POWER" untuk mengaktifkan alat, kemudian ditekan tombol "HOLD" dan ditekan tombol "REC" yang berfungsi untuk mengkalibrasi alat
2. Menunggu hingga alat menunjukkan angka 0 dan kemudian nilai kembali berjalan lagi. Kemudian ditekan "HOLD" hingga menunjukkan mg/L dan

dicelupkan DO meter ke perairan dan ditunggu sekitar 2 – 3 menit hingga angkanya konstan.

3. Menekan "HOLD" dan kemudian dibaca nilai oksigen terlarut yang tertera pada alat dengan satuan mg/L.

c. Bahan Organik (*Biological Oxygen Demand*)

Pengukuran BOD (*Biological Oxygen Demand*) yaitu mengambil sampel air menggunakan botol yang kemudian air tersebut diukur di laboratorium. Pada setiap stasiun, pengambil sampel air BOD (*Biological Oxygen Demand*) langkah-langkah pengukuran BOD (*Biological Oxygen Demand*):

1. Mengambil sampel air 70 ml, masukkan ke dalam gelas ukur 1000 ml
2. Menambahkan aquades sampai volume 700 ml untuk menunjukkan bahwa sampel mengalami pengenceran 10 kali
3. Masukkan sampel kedalam dua buah botol BOD sampai penuh
4. Menambahkan 1 ml larutan $MnSO_4$ mengikat oksigen bebas dan 1 ml larutan alkali iodide azida untuk membuat endapan cokelat. Kocok botol tersebut sampai homogen lalu diamkan selama 10 menit
5. Menambahkan lagi larutan 1 ml H_2SO_4 untuk mempercepat reaksi dan pengkondisian asam lalu kocok sampai larut, pindahkan larutan ke dalam Erlenmeyer 500 ml lalu kocok lagi
6. Melakukan titrasi dengan larutan $Na_2S_2O_3$ 0,025 N untuk menetralkan I_2 dan O sampai larutan berwarna kuning pucat kemudian menambahkan indikator amilum 1 ml sehingga larutan menjadi biru dan pengkondisian basa.
7. Melanjutkan titrasi sampai warna biru tepat hilang, catat volume awal (DO awal)
8. Memasukkan botol BOD kedua ke incubator dan biarkan selama 5 hari
9. Melakukan cara kerja dari tahap 3 – 6 untuk mendapatkan nilai DO akhir

10. Melakukan blangko dengan menukar larutan dengan akuades seperti cara kerja pada tahap 4 – 6
11. Melakukan perhitungan BOD dengan rumus:

$$BOD = [(DO \text{ awal} - DO \text{ akhir}) - BL \text{ BOD}] \times P$$

d. Amonia

Pengukuran amonia yaitu mengambil sampel air yang kemudian air tersebut diukur di Laboratorium. Adapun langkah – langkah pengukuran amonia berdasarkan metode yang digunakan di Unit Analisis dan Pengukuran Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya Malang:

1. Mengambil sampel air 25 ml dan masukkan ke dalam labu ukur 50 ml
2. Membuat larutan K.Na Tartrat yang berfungsi untuk mengendapkan Cl dalam larutan supaya tidak mengganggu terbentuknya kompleks berwarna kuning kemerahan dibuat dengan cara mencampur larutan Tartrat 500g ($C_4H_4O_6KNa_4H_2O$) dalam 1 liter aquades yang dipanaskan, sesudah dingin menambahkan 50 CC pereaksi Nessler yang berfungsi untuk membantu terjadinya pengomplekan berwarna kuning kemerahan, biarkan selama 2 hari dan sesudah itu disaring lalu siap untuk dipakai
3. Membuat larutan Nessler dengan cara mencampur 5 gram KI dalam air dan $HgCl_2$ dalam air (1:20) sampai terjadi endapan merah yang tak hilang, saring dengan glass wool + 15 g NaOH dalam 30 CC aquades lalu ditambahkan aquades sampai 100 CC, biarkan mengendap secara dekanti
4. Menambahkan 2 ml larutan K.Na tartrat + 2 ml larutan Nessler
5. Menambahkan aquades sampai pada batas kocok sampai homogen
6. Mengukur amonia dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 420 μm , catat absorbannya

e. Fenol

Pengukuran fenol yaitu mengambil sampel air yang kemudian air tersebut diukur di Laboratorium. Adapun langkah – langkah pengukuran amonia berdasarkan metode yang digunakan di Unit Analisis dan Pengukuran Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya Malang, yaitu:

1. Membuat pereaksi A terlebih dahulu dengan mencampurkan 150 ml Asam sulfanilat 7,6 % dalam NaOH 8 % + 30 ml H₂SO₄ 1:3 + 150 ml NaNO₂ 4,8 % sedikit demi sedikit sambil diaduk. Dinginkan di dalam kulkas pada suhu 1-10°C selama 30 menit
2. Mencampurkan 10 ml sampel air dengan 1 ml pereaksi A dan 0,5 ml pereaksi NaOH 8 %
3. Membiarkan larutan tersebut selama 30 – 40 menit sampai terbentuk warna merah
4. Membaca dengan spektrofotometer U-Vis pada panjang gelombang 360 μm dan catat absorbannya. U-Vis merupakan spektrofotometer yang membantu mendeteksi spectrum dengan panjang gelombang tertentu di daerah UV dan di daerah tampak.

3.6.3 Logam Berat

a. Pb (Timbal)

Penentuan Pb terlarut di perairan diukur menggunakan metode yang digunakan oleh Laboratorium Kimia Dasar Fakultas MIPA Universitas Brawijaya. Adapun langkah-langkah pengukuran Pb, yaitu:

1. Mengambil air sampel dengan pipet volume 25 ml kemudian masukkan ke Beaker Glass 50 ml
2. Menambahkan 5 ml aquaregia, dipanaskan di atas kompor listrik sampai sampai volumenya berkurang menjadi 15 ml lalu didinginkan

3. Larutan ini berfungsi untuk mendestruksi atau memutus ikatan antara senyawa organik dengan logam yang akan dianalisis. Agar unsur – unsur tidak saling mengganggu dan diharapkan hanya tinggal logam – logamnya saja.
4. Menyaring sampel yang sudah didinginkan ke labu ukur 25 ml, menambahkan akuades sampai tanda batas, dikocok sampai homogen
5. Menganalisis sampel dengan menggunakan mesin AAS pada panjang gelombang tertentu
6. Mengukur logam berat Pb menggunakan AAS yang menyala menggunakan gelombang 223,3 nm

b. Cd (Kadmium)

Penentuan Cd terlarut di perairan diukur menggunakan metode yang digunakan oleh Unit Analisis dan Pengukuran Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya Malang. Adapun langkah-langkah pengukuran Cd, yaitu:

1. Mengambil air sampel dengan pipet volume 25 ml kemudian masukkan ke Beaker Glass 50 ml
2. Menambahkan 5 ml aquaregia, dipanaskan di atas kompor listrik sampai volumenya berkurang menjadi 15 ml lalu didinginkan
3. Larutan ini berfungsi untuk mendestruksi atau memutus ikatan antara senyawa organik dengan logam yang akan dianalisis. Agar unsur – unsur tidak saling mengganggu dan diharapkan hanya tinggal logam – logamnya saja.
4. Menyaring sampel yang sudah didinginkan ke labu ukur 25 ml, menambahkan akuades sampai tanda batas, dikocok sampai homogen
5. Menganalisis sampel dengan menggunakan mesin AAS pada panjang gelombang tertentu

6. Mengukur logam berat Cd menggunakan AAS yang menyala menggunakan gelombang 228,8 nm

c. Hg (Merkuri)

Penentuan Hg terlarut di perairan diukur menggunakan metode yang digunakan oleh Unit Analisis dan Pengukuran Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya Malang. Adapun langkah-langkah pengukuran Hg, yaitu:

1. Mengambil air sampel dengan pipet volume 25 ml kemudian masukkan ke *Beaker Glass* 50 ml
2. Menambahkan 5 ml aquaregia, dipanaskan di atas kompor listrik sampai volumenya berkurang menjadi 15 ml lalu didinginkan
3. Larutan ini berfungsi untuk mendestruksi atau memutus ikatan antara senyawa organik dengan logam yang akan dianalisis. Agar unsur – unsur tidak saling mengganggu dan diharapkan hanya tinggal logam – logamnya saja.
4. Menyaring sampel yang sudah didinginkan ke labu ukur 25 ml, menambahkan akuades sampai tanda batas, dikocok sampai homogen
5. Menganalisis sampel dengan menggunakan mesin AAS pada panjang gelombang tertentu
6. Mengukur logam berat Hg menggunakan AAS yang menyala menggunakan gelombang 253,7 nm

3.7 Analisis Data

Hematologi ikan gambusia (*Gambusia affinis*) dari aliran Sungai Brantas Wilayah Surabaya dan Mojokerto pada tiap stasiun dibandingkan sehingga dapat diketahui perbedaannya. Hubungan keeratan antara parameter darah ikan gambusia dan parameter kualitas air dapat dilakukan dengan analisis regresi linear sederhana menggunakan aplikasi SPSS 23.00 Variabel X

(*independent*) dapat dikatakan berpengaruh terhadap variabel Y (*dependent*). Variabel X yang digunakan yaitu eritrosit, leukosit dan atau mikronuklei dan variabel Y yang digunakan adalah parameter kualitas air yang tidak baku. Parameter yang tidak baku dikaitkan dengan parameter hematologi guna mengetahui parameter kualitas air yang paling berpengaruh terhadap perubahan eritrosit, leukosit dan mikronuklei. Analisis yang digunakan untuk mengetahui hubungan antar parameter yaitu menggunakan regresi linear sederhana. Analisis yang digunakan untuk mengetahui hubungan antar parameter yaitu menggunakan regresi linear sederhana. Menurut Sugiyono (2009), mengkategorikan tingkat hubungan keeratan nilai kolerasi (r) sebagai berikut:

Tabel 2. Kategori kolerasi (r)

Kolerasi (r)	Kategori
0-0,19	Sangat rendah
0,2-0,39	Rendah
0,4-0,59	Sedang
0,6-0,79	Kuat
0,8-1	Sangat Kuat

Nilai signifikan $< 0,05$ maka terdapat hubungan kolerasi antar dua variabel sedangkan nilai signifikan $> 0,05$ tidak ada hubungan antara dua variabel yang diuji. Hasil regresi ini akan dijadikan acuan untuk mengetahui hubungan antara parameter yang tidak baku terhadap parameter hematologi baik eritrosit, leukosit maupun mikronuklei pada ikan gambusia (*Gambusia affinis*) di Perairan.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Keadaan Umum Lokasi Penelitian

4.1.1 Lokasi Penelitian

Sungai Brantas merupakan sungai utama yang mengalir di Jawa Timur. Sungai Brantas memiliki sumbangsih yang cukup besar untuk pendapatan daerah dan telah ditetapkan sebagai salah satu sungai strategis nasional. Asal mula mata airnya berada di Pegunungan Arjuna Anjasmara yang memiliki ketinggian 1.574 mdpl. Luas daerah aliran Sungai Brantas mencapai 11.800 km² atau ¼ luas Provinsi Jawa Timur. Aliran airnya melewati 14 daerah di Jawa Timur diantaranya Mojokerto dan Surabaya. Wilayah yang diamati dimulai dari aliran sungai di Kecamatan Bangsal, Mojokerto, Sungai Sadar, Mojokerto dan Kecamatan Karang Pilang, Surabaya. Daerah tampung air pada aliran Sub Brantas wilayah Surabaya dan Mojokerto menjadi komponen yang vital bagi masyarakat setempat.

Kabupaten Mojokerto secara geografis terletak diantara 112°20'13" sampai dengan 112°40'47" BT dan diantara 7°18'35" sampai dengan 7°47'30" LS. Luas wilayah Kabupaten Mojokerto seluruhnya mencapai 969.360 km² terdiri dari 18 kecamatan, 5 kelurahan dan 299 Desa (sekitar 13,66% dimanfaatkan sebagai area pemukiman). Pemanfaatan lahan di Mojokerto dominan digunakan untuk pertanian, sekitar 371.010 km² atau sekitar 38,27% dari luas wilayah Kabupaten Mojokerto dimanfaatkan sebagai lahan pertanian dan sisanya digunakan untuk industri, pertambangan, peternakan dan lain sebagainya.

Surabaya merupakan daratan rendah yang sangat strategis. Letaknya secara geografis berada pada 7°9' - 7°21' LS dan 112°36' - 112°57' BT yang menghubungkan regional timur dan tengah Indonesia. Luas wilayah mencapai 52.087 yang terdiri dari 5 wilayah kota, 31 kecamatan dan 163 kelurahan.



Dominan penggunaan lahan di kota Surabaya ini digunakan untuk kawasan industri, pemukiman, pelabuhan, pariwisata, pertanian dan lain sebagainya.

4.1.2 Deskripsi Stasiun Pengambilan Sampel

Stasiun 1. Sungai Bangsal Mojokerto

Stasiun 1 pada penelitian ini terletak di aliran Sungai Brantas yang bernama Sungai Bangsal yang terletak di Desa Bangsal, Kecamatan Bangsal, Kabupaten Mojokerto. Berdasarkan data BPS 1102001.3516090, luas lahan untuk pemukiman di kecamatan ini seluas 23.327 km² yang terdiri dari 17 desa. Pengambilan sampel air di aliran sungai ini dilakukan pada 3 titik yaitu:

Tabel 3. Lokasi Pengamatan di Stasiun 1

Stasiun Pengamatan	Tata guna lahan
 <p>Stasiun 1 A</p>	<p>Titik koordinat : -7°30.274'LS / 112°29.182'BT</p> <p>Perairan berada disekitar pemukiman warga yang mata pencahariannya didominasi oleh pemilik industri kerupuk rambak (kulit sapi), saat pengambilan sampel beberapa warga mencuci kulit sapi, mencuci alat-alat produksi dan membuang limbah minyak yang tidak terpakai ke perairan.</p>
 <p>Stasiun 1 B</p>	<p>Titik koordinat : -7°30.231'LS / 112°29.184'BT</p> <p>Perairan berada disekitar pemukiman warga. Aktivitas yang terjadi saat pengambilan sampel seperti mandi, mencuci, buang air besar dan buang air kecil dan membuang sampah bahkan pada beberapa kali pengambilan sampel, sering terlihat orang memancing.</p>

Lanjutan Tabel 3



Stasiun 1 C

Titik koordinat : $-7^{\circ}30.231'LS / 112^{\circ}29.184'BT$


Perairan berada disekitar pemukiman warga yang beberapa diantara warga memiliki kolam budidaya bersama didepan rumah mereka. Hasil panen digunakan untuk pembangunan desa. Tidak jarang saat saluran air dibuka maka air dari kolam budidaya dialirkan langsung ke sungai.

Akses menuju stasiun ini cukup mudah yaitu dengan cara turun menggunakan tangga yang terdapat di pinggir sungai. Berdasarkan data dari Dinas PU Pengairan 2013 luas Sungai sekitar 7.737 Ha dengan panjang Sungai mencapai 12 km. Aliran sungai ini dimanfaatkan oleh penduduk sekitar untuk kehidupan sehari-hari. Aktivitas tersebut menyebabkan banyaknya sampah dan sisa – sisa sabun cuci yang menggenang di aliran sungai. Warna air sungai di stasiun ini berwarna coklat. .

Stasiun 2. Sungai Sadar Mojokerto

Stasiun 2 pada penelitian ini terletak di aliran sungai Brantas yaitu Sungai Sadar. Lokasi penelitian ini berada di Kecamatan Mojoanyar, Kabupaten Mojokerto. Menurut BPS 1102001.3510091, luas lahan pertanian dan persawahan di Kecamatan Mojoanyar mencapai 1.491 Ha. Pengambilan sampel dilakukan pada 3 titik dengan titik koordinat, yaitu:

Tabel 4. Lokasi Pengamatan di Stasiun 2

Stasiun Pengamatan	Tata guna lahan
	Titik koordinat : $-7^{\circ}28.450'LS / 112^{\circ}28.492'BT$ Lokasi penelitian dominan dengan lahan pertanian dan persawahan. Saat pengamatan dilakukan ada penggalian sungai menggunakan alat berat yang bertujuan untuk perbesaran luas sungai.

Stasiun 2 A

Lanjutan Tabel 4

Stasiun 2 B

Titik koordinat : $-7^{\circ}28.447'LS / 112^{\circ}29.004'BT$

Lokasi penelitian dominan dengan lahan pertanian dan persawahan. Para petani sekitar memanfaatkan aliran sungai ini untuk mengairi lahan pertanian dan persawahan.



Stasiun 2 C

Titik koordinat : $-7^{\circ}28.427'LS / 112^{\circ}29.048'BT$




Lokasi penelitian didominasi dengan lahan pertanian. Sungai ini membelah dua desa lalu dihubungkan dengan jembatan yang menuju kearah jalan raya. Banyak sampah plastik hasil buangan warga yang menutupi permukaan perairan. Saat pengamatan dilakukan ada beberapa supir mobil berat yang membuang sampah dan mencuci ban.

Akses menuju stasiun ini cukup mudah karena sungai terletak di pinggir jalan dan untuk mencapai sungai tersebut turun menggunakan tangga yang berada di samping jembatan. Lokasi penelitian dominan dengan lahan pertanian dan persawahan di Kecamatan Mojoanyar mencapai 1.491 Ha. Warga sekitar memanfaatkan aliran sungai ini untuk mengairi lahan pertanian dan persawahan. Banyak sampah plastik hasil buangan warga yang menutupi permukaan perairan. Air sungai sadar Kecamatan Mojoanyar, Kabupaten Mojokerto. berwarna coklat.

Stasiun 3. Sungai Karang Pilang Surabaya

Stasiun 3 pada penelitian ini terletak di Aliran Brantas yang bernama Sungai Karang Pilang. Lokasi penelitian ini berada di Kecamatan Karang Pilang, Kota Surabaya. Pengambilan sampel dilakukan ditiga titik dengan titik koordinat:

Tabel 5. Lokasi Pengamatan di Stasiun 3

Stasiun Pengamatan	Tata guna lahan
 <p>Stasiun 3 A</p>	<p>Titik koordinat : $-7^{\circ}19.894'LS / 112^{\circ}42.447'BT$</p> <p>Lokasi penelitian didominasi oleh industri dan rumah warga. Diantaranya ada industri karet, home furniture, rangka atap baja dan cetakan kue yang terbuat dari aluminium.</p>
 <p>Stasiun 3 B</p>	<p>Titik koordinat : $-7^{\circ}19.503'LS / 112^{\circ}42.597'BT$</p> <p>Lokasi penelitian didominasi oleh industri dan rumah warga. Diantaranya ada industri obat-obatan, jajanan permen, cat dan ada beberapa warga yang sedang mengecat bus milik pelanggannya.</p>
 <p>Stasiun 3 C</p>	<p>Titik koordinat : $-7^{\circ}19.3666'LS / 112^{\circ}42.593'BT$</p> <p>Lokasi penelitian didominasi oleh industri dan rumah warga. Diantaranya ada industri obat-obatan, susu dan terdapat juga warung di dekat sungai yang terlihat menjadi salah satu sumber pencemar.</p>

Akses menuju stasiun ini cukup strategis karena sungai terletak di tengah - tengah kota dan untuk mencapai sungai tersebut menggunakan tangga yang berada di dekat sungai. Lahan disekitar sungai dijadikan sebagai kawasan pemukiman serta kawasan industri. Penduduk sekitar menggunakan aliran sungai tersebut untuk mandi, buang air besar, buang air kecil. Limbah yang terdapat di sungai berasal dari industri dan limbah domestik. Air sungai berwarna coklat pekat dan baunya tidak sedap. Banyak sampah plastic yang ditemukan disekitar perairan yang diamati.

4.2 Analisis Morfologi Ikan Gambusia (*Gambusia affinis*)

Ikan gambusia (*Gambusia affinis*) yang tertangkap di wilayah yang diamati mulai dari aliran Sungai Bangsal, Mojokerto, Sungai Sadar, Mojokerto dan Sungai Karang Pilang, Surabaya. Ikan gambusia (*Gambusia affinis*) memiliki ciri morfologi seperti gambar berikut:



Gambar 5. Ikan Gambusia (*Gambusia affinis*)

Ikan gambusia (*Gambusia affinis*) merupakan ikan perenang cepat dengan sisik yang kecil, berwarna tubuh abu-abu perak, licin pada kulitnya. Berat ikan antara 8,8-11,3 gram dengan panjang tubuh berkisar antara 5,6-8,5 cm. Ikan disetiap lokasi memiliki keadaan yang berbeda ada yang terlihat sehat dan ada pula sakit. Kategori ikan yang sakit pada insangnya berwarna merah muda bahkan tidak berwarna namun yang sehat berwarna merah segar. Tidak jarang ditemukan adanya bekas sobek dan cabikan pada tubuh ikan gambusia (*Gambusia affinis*).

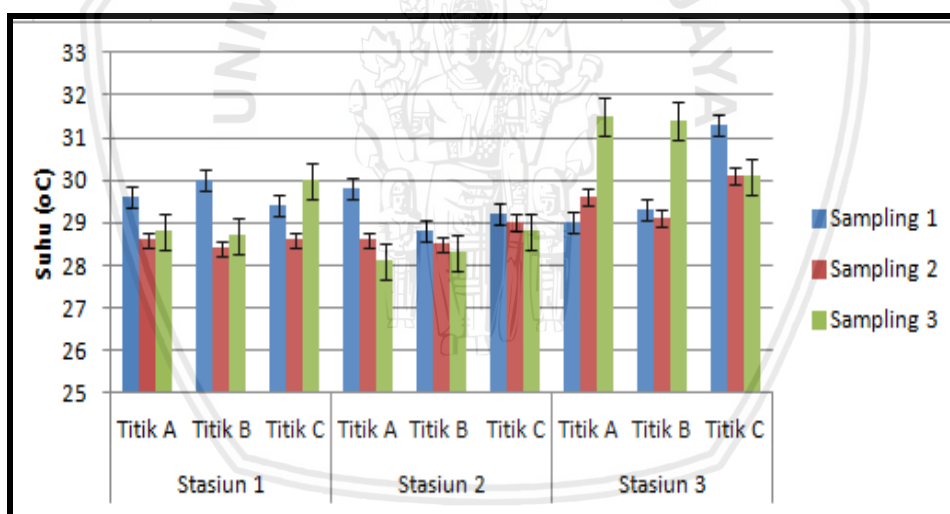
4.3 Parameter Kualitas Air

Parameter kualitas air yang diuji yaitu parameter fisika dan kimia. Parameter fisika yang diukur dalam penelitian ini yakni suhu ($^{\circ}\text{C}$), sedangkan parameter kimia yang diukur yakni pH, DO (mg/L), BOD (mg/L), amonia (mg/L) dan fenol (mg/L). Logam berat yang diukur yakni Pb (mg/L), Hg (mg/L) dan Cd (mg/L).

Data hasil pengukuran kualitas air di Sungai Bangsal, Sungai Sadar dan Sungai Karang Pilang.

4.3.1 Suhu

Nilai suhu yang didapatkan pada masing-masing stasiun selama tiga kali ulangan, yakni stasiun 1 berkisar antara 28.4 – 30 °C, stasiun 2 berkisar antara 28.1 – 29.8 °C, dan stasiun 3 berkisar antara 29 – 31,5 °C. Nilai suhu tidak berbeda jauh, pada masing-masing stasiun, hasil termasuk angka yang baik untuk kehidupan ikan. Menurut PP no. 82 tahun 2001 tentang Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air, menyatakan bahwa kisaran suhu tersebut pada setiap stasiunnya masih memenuhi standar Baku Mutu Kelas III. Adapun kisaran suhu dapat dilihat pada grafik berikut:



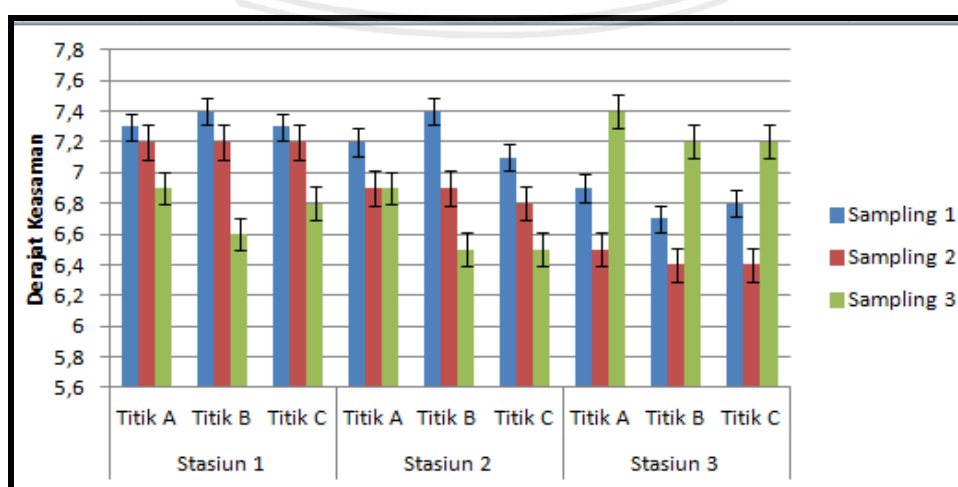
Gambar 6. Grafik kisaran suhu pada 3 stasiun dengan 3 kali pengulangan

Stasiun 3 memiliki suhu yang tinggi dibandingkan stasiun lainnya yaitu sebesar 31.5 °C, sedangkan stasiun 2 memiliki kisaran suhu yang lebih rendah sebesar 28.1 °C. Perbedaan nilai kisaran suhu pada stasiun 3 yang lebih tinggi dibanding stasiun lainnya dipengaruhi oleh temperatur udara sekitar yang sama tingginya. Patty (2013) menyatakan sebaran suhu disuatu perairan dipengaruhi oleh banyak faktor antara lain radiasi sinar matahari, letak geografis perairan,

sirkulasi arus, kedalaman laut, angin dan musim. Kisaran suhu optimal bagi ikan di perairan tropis berkisar 28 - 32 °C (Erika *et al.*, 2018). Suhu menentukan daya kompetisi satu jenis ikan, resistensi terhadap parasit, predator dan penyakit yang terdapat di sekitarnya. Lestari dan Dewantoro (2018), menyatakan enzim-enzim akan bekerja lebih efektif pada suhu optimum sehingga metabolisme ikan lebih baik. Sabrhina *et al.*, (2018) suhu yang rendah mengakibatkan ikan tidak nafsu makan, memacu terjadi stress pada ikan sehingga mengalami anemia. Ikan mampu beradaptasi dengan perbedaan suhu dan memiliki daya toleransi yang besar terhadap perubahan suhu.

4.3.2 Derajat Keasaman (pH)

Nilai pH yang didapatkan pada masing-masing stasiun selama tiga kali ulangan, yakni stasiun 1 berkisar antara 6.6 – 7.4, stasiun 2 berkisar antara 6.5 - 7.4, dan stasiun 3 berkisar antara 6.4 - 7.4. Nilai pH berbeda jauh, pada masing-masing stasiun termasuk angka yang baik untuk kehidupan ikan. Menurut PP no. 82 tahun 2001 tentang Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air, menyatakan bahwa kisaran pH pada setiap stasiunnya masih memenuhi standar Baku Mutu Kelas III, yaitu pH dengan kisaran 6 - 9. Adapun kisaran pH dapat dilihat pada grafik berikut:

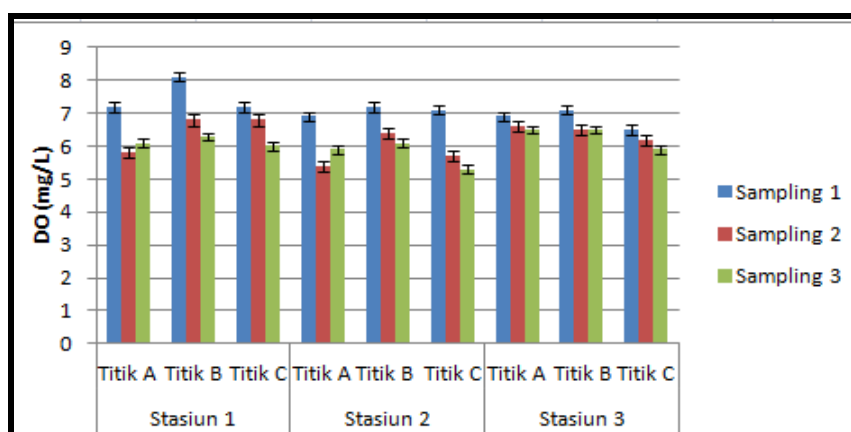


Gambar 7. Grafik kisaran pH pada 3 stasiun dengan 3 kali pengulangan

Stasiun 1 dan 2 yang diamati memiliki nilai pH yang tidak berbeda jauh sekitar 7.4 sedangkan stasiun 3 memiliki kisaran pH yang lebih rendah yaitu sebesar 6.4. Hasil nilai pH yang diamati merupakan kisaran normal, Pencemaran akan mempengaruhi pH perairan. Ikan bertahan hidup dan tumbuh terbaik di perairan dengan pH antara 6-9 (Tokah *et al.*, 2017). Fluktuasi nilai pH dipengaruhi oleh adanya buangan limbah organik dan anorganik ke sungai (Dewa *et al.*, 2016). Semakin tinggi nilai pH semakin tinggi pula nilai alkalinitas. Maniagasi *et al.*, (2013), rendahnya pH suatu perairan disebabkan karena kandungan asam sulfat meningkat. Tingginya pH suatu perairan dapat disebabkan oleh tingginya kapur yang masuk ke perairan tersebut.

4.3.3 Oksigen Terlarut (*Dissolved Oxygen/ DO*)

Nilai oksigen terlarut yang didapatkan pada masing-masing stasiun selama tiga kali ulangan, yakni stasiun 1 berkisar antara 5.8 – 8.1 mg/L, stasiun 2 berkisar antara 5.3-7.2 mg/L, dan stasiun 3 berkisar antara 5.9-7.1 mg/L. Nilai oksigen terlarut pada masing-masing stasiun termasuk angka yang baik untuk kehidupan ikan. Menurut PP no. 82 tahun 2001 tentang Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air, menyatakan bahwa nilai oksigen terlarut yang memenuhi standar Baku Mutu Kelas III, yaitu minimal 3 mg/L. Adapun kisaran oksigen terlarut dapat dilihat pada grafik berikut:

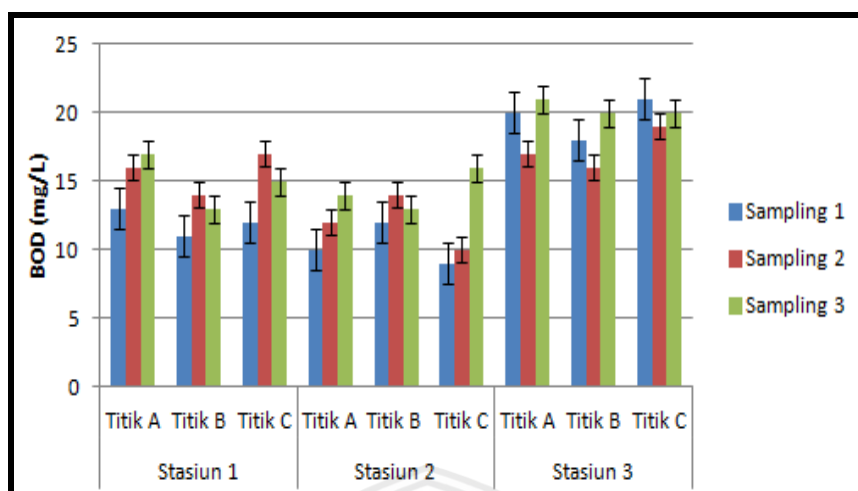


Gambar 8. Grafik kisaran DO pada 3 stasiun dengan 3 kali pengulangan

Stasiun 1 memiliki DO yang tinggi dibandingkan stasiun lainnya yaitu sebesar 8.1 mg/L, sedangkan stasiun 2 memiliki kisaran DO yang lebih rendah sebesar 5.3 mg/L. Menurut Androva dan Harjanto (2017), kandungan oksigen terlarut (DO) minimum adalah 2 ppm dalam keadaan normal dan tidak tercemar oleh senyawa beracun (toksik). Kondisi DO yang rendah ini sebagai akibat dari banyaknya bahan organik baik dari limbah domestik yang berasal dari pemukiman dan limbah industri yang berasal dari buangan industri (Sugianti dan Astuti, 2018). DO sangat diperlukan untuk kelangsungan hidup organisme di perairan, oksigen diperlukan dalam proses dekomposisi senyawa – senyawa organik menjadi senyawa anorganik. Sumber utama oksigen terutama berasal dari difusi oksigen yang terdapat di atmosfer (Pujiastuti *et al.*, 2013). Menurut Kordi dan Tacung (2007), kekurangan oksigen dapat membahayakan hewan air karena bisa menyebabkan stress, mudah tertular penyakit, menghambat pertumbuhan bahkan dapat menyebabkan kematian sehingga dapat menurunkan produktifitasnya.

4.3.4 Bahan Organik (*Biological Oxygen Demand*)

Nilai BOD yang didapat selama penelitian pada masing-masing stasiun selama tiga kali ulangan, yakni stasiun 1 berkisar antara 11-17 mg/L, stasiun 2 berkisar antara 9-16 mg/L, dan stasiun 3 berkisar antara 16-21 mg/L. Nilai yang didapat pada ketiga stasiun sudah melebihi baku mutu. Menurut PP no. 82 tahun 2001 tentang Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air, menyatakan bahwa nilai BOD yang memenuhi standar Baku Mutu Kelas III, yaitu 6 mg/L. Adapun kisaran BOD dapat dilihat pada grafik berikut:

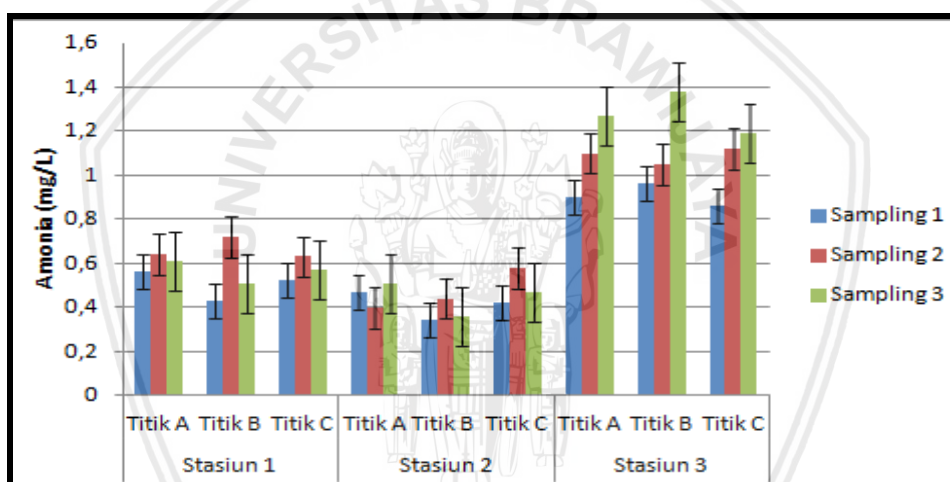


Gambar 9. Grafik kisaran BOD pada 3 stasiun dengan 3 kali pengulangan

Stasiun 3 memiliki BOD yang tinggi dibandingkan stasiun lainnya yaitu sebesar 21 mg/L, sedangkan stasiun 2 memiliki kisaran BOD yang lebih rendah sebesar 9 mg/L. BOD merupakan suatu karakteristik yang menunjukkan jumlah oksigen terlarut yang diperlukan oleh mikroorganisme untuk mengurai atau mendekomposisi bahan organik dalam kondisi aerobik. BOD dapat dijadikan tolak ukur pencemar dari limbah yang berada dalam suatu perairan. Makin besar konsentrasi BOD suatu perairan, menunjukkan konsentrasi bahan organik di dalam air juga tinggi (Yudo, 2010). Konsentrasi BOD yang tingkat pencemarannya dikategorikan sedang. Tingkat pencemaran rendah jika nilai BOD 0 – 10 mg/L, sedangkan tingkat pencemaran sedang jika nilai BOD 10 – 20 mg/L (Salmin, 2005). Tingginya kandungan BOD dipengaruhi oleh tata guna lahan disekitar perairan. Suparjo (2009) berpendapat, bahwa bahan organik secara alamiah berasal dari perairan itu sendiri melalui proses -proses penguraian pelapukan ataupun dekomposisi buangan limbah baik limbah daratan seperti domestik, industri, pertanian dan limbah peternakan ataupun sisa pakan yang dengan adanya bakteri terurai menjadi zat hara.

4.3.5 Amonia

Nilai amonia yang didapat selama penelitian pada masing-masing stasiun selama tiga kali ulangan, yakni stasiun 1 berkisar antara 0.43-0.72 mg/L, stasiun 2 berkisar antara 0.34-0.58 mg/L, dan stasiun 3 berkisar antara 0.86-1.38 mg/L. Nilai yang didapat pada ketiga stasiun sudah melebihi baku mutu. Menurut PP no. 82 tahun 2001 tentang Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air, menyatakan bahwa nilai amonia yang memenuhi standar Baku Mutu Kelas III, yaitu tidak lebih dari 0,02 mg/L. Adapun kisaran amonia dapat dilihat pada grafik berikut:



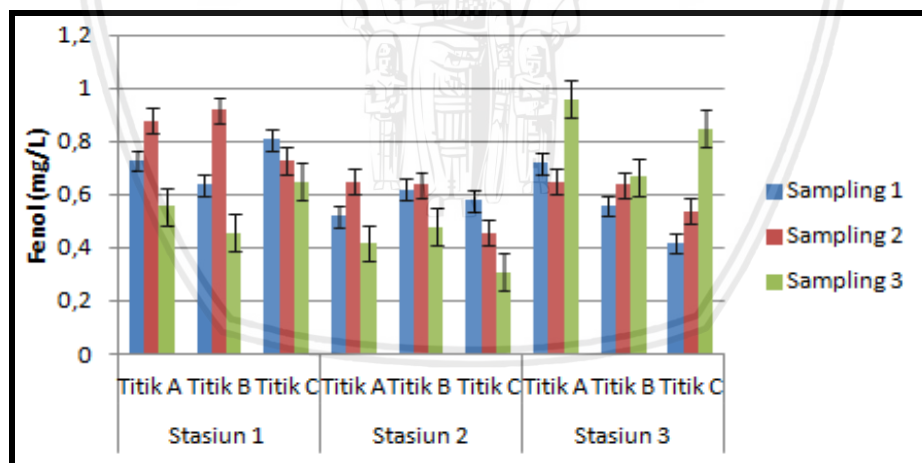
Gambar 10. Grafik kisaran amonia pada 3 stasiun dengan 3 kali ulangan

Stasiun 3 memiliki amonia yang tinggi dibandingkan stasiun lainnya yaitu sebesar 1.38 mg/L, sedangkan stasiun 2 memiliki kisaran amonia yang lebih rendah sebesar 0.34 mg/L. Rohmadona *et al.*, (2016) kandungan amonia 0,05-0,2 mg/L mampu mengganggu pertumbuhan secara umumnya organisme *aquatic*. Widyasatuti *et al.*, (2015), toleransi ikan terhadap amonia bervariasi, ada yang mampu bertahan di konsentrasi tinggi sekitar 2 mg/L dan ada juga yang sudah *sensitive* bahkan pada konsentrasi terendah 0.06 mg/L. Suwandi *et al.*,(2013), Tingkat toksisitas amonia dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain spesies ikan, tingkat paparan amonia, lama paparan, dan pengaruh

aklimatisasi yang diberikan sebelumnya. Ikan yang terpapar dengan amonia tinggi akan mengalami kerusakan insang dan sel darah. Kadar eritrosit akan rendah seiring meningkatkan kadar amonia diperairan (Hastuti dan Subandiyono, 2015).

4.3.6 Fenol

Nilai fenol yang didapat selama penelitian pada masing-masing stasiun selama tiga kali ulangan, yakni stasiun 1 berkisar antara 0.46-0.92 mg/L, stasiun 2 berkisar antara 0.31-0.65 mg/L, dan stasiun 3 berkisar antara 0.42-0.96 mg/L. Nilai yang didapat pada ketiga stasiun sudah melebihi baku mutu. Menurut PP no. 82 tahun 2001 tentang Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air, menyatakan bahwa kadar fenol yang memenuhi standar Baku Mutu Kelas III, yaitu tidak lebih dari 0,001 mg/L. Adapun kisaran fenol dapat dilihat pada grafik berikut:



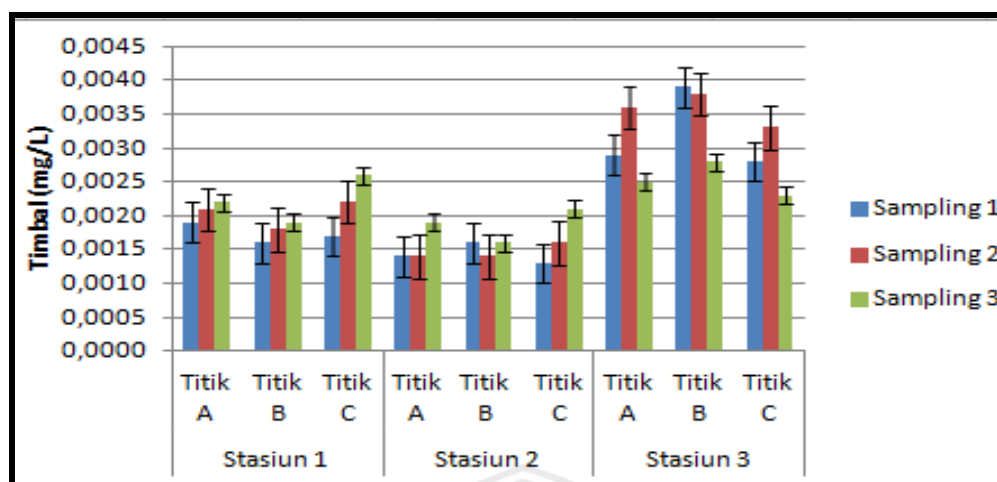
Gambar 11. Grafik kisaran fenol pada 3 stasiun dengan 3 kali pengulangan

Stasiun 3 memiliki fenol yang tinggi dibandingkan stasiun lainnya yaitu sebesar 0.96 mg/L, sedangkan stasiun 2 memiliki kisaran fenol yang lebih rendah sebesar 0.31mg/L. Menurut mg/L KEP No. 51/MENLH/10/1995, senyawa fenol dapat dikatakan aman bagi lingkungan jika konsentrasinya berkisar antara 0,5-1,0 mg/L. Senyawa fenol pada kadar yang tinggi dapat

bersifat toksik, tetapi masalah utama yang dapat ditimbulkan adalah rasa dan bau. Air yang mengandung fenol sebesar 0,001 ppm tidak mempunyai rasa dan bau, tetapi fenol pada kadar tersebut sangat sukar untuk dideteksi (Hudori dan Yulianto, 2011). Fenol bersumber dari limbah yang dibuang dari berbagai industri seperti batubara, pembuatan fenol, farmasi, industri resin, cat, tekstil, kulit, dan petrokimia (Ibrahem, 2011). Penguraian alami bisa dilakukan oleh tumbuhan dan mikroorganisme yang ada di perairan. Respon yang ditunjukkan pada hewan yang terpapar fenol melalui inhalasi adalah penyebab kerusakan hati, kerusakan ginjal, efek neurologis, efek perkembangan, efek kulit bahkan kematian (Gami *et al.*, 2014). Organisme toleran fenol memerlukan waktu untuk beradaptasi. Hadirnya fenol yang melebihi batas ambang perairan dapat menjadi stresor kimia bagi organisme akuatik (Sari *et al.*, 2014).

4.3.7 Timbal (Pb)

Nilai timbal yang didapat selama penelitian pada masing-masing stasiun selama tiga kali ulangan, yakni stasiun 1 (Sungai Bangsal, Mojokerto) berkisar antara 0.0016-0.0026 mg/L, stasiun 2 (Sungai Sadar, Mojokerto) berkisar antara 0.0013-0.0021mg/L, dan stasiun 3 (Sungai Karang Pilang, Surabaya) berkisar antara 0.0023-0.0039 mg/L. Nilai yang didapat pada ketiga stasiun (Sungai Bangsal, Mojokerto, Sungai Sadar, Mojokerto dan Sungai Karang Pilang, Surabaya) tidak melebihi baku mutu (dikategorikan aman). Menurut PP no. 82 tahun 2001 tentang Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air, menyatakan bahwa kadar timbal yang memenuhi standar Baku Mutu Kelas III, yaitu tidak lebih dari 0,03 mg/L. Adapun kisaran timbal dapat dilihat pada grafik berikut:



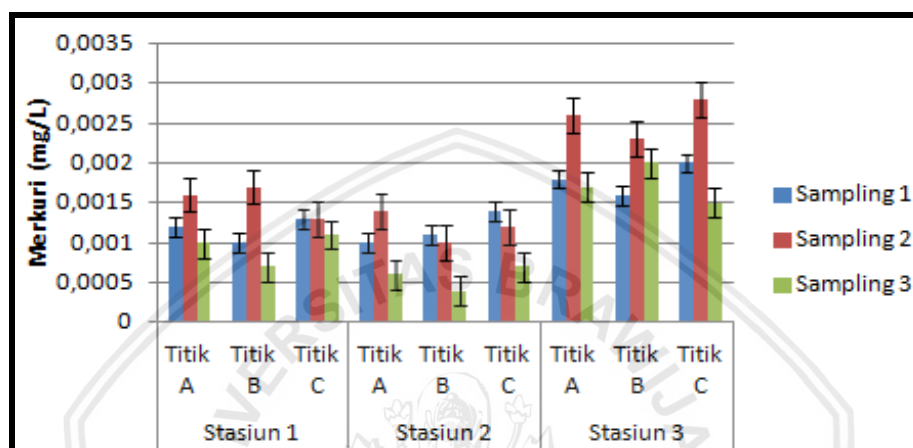
Gambar 12. Grafik kisaran timbal pada 3 stasiun dengan 3 kali ulangan

Stasiun 3 memiliki timbal yang tinggi dibandingkan stasiun lainnya yaitu sebesar 0.0039 mg/L, sedangkan stasiun 2 memiliki kisaran timbal yang lebih rendah sebesar 0.0013 mg/L. Nilai tersebut masih tergolong aman bagi kehidupan organisme perairan. Arsad *et al.*, (2012), menyatakan bahwa logam berat pada badan air meningkat sejalan dengan perkembangan industri. Salah satu logam berat yang terkandung dalam limbah buangan industri tersebut adalah timbal. Tingginya perkembangan industri meningkatkan angka buangan timbal di perairan (Prasetyo, 2017). Darah ikan digunakan untuk mengetahui kondisi kesehatan yang sedang dialami, karena darah memiliki fungsi vital bagi tubuh ikan, antara lain sebagai pengangkut zat-zat kimia seperti hormon, pengangkut hasil buangan metabolisme dan pengangkut oksigen dan karbondioksida (Shaetapy, 2012). Konsentrasi timbal meningkat mengakibatkan penurunan eritrosit karena stress. Pencemaran akibat timbal yaitu memberi pengaruh terhadap laju pertumbuhan (Yulaipi dan Aunurohim, 2013).

4.3.8 Merkuri (Hg)

Nilai merkuri yang didapat selama penelitian pada masing-masing stasiun selama tiga kali ulangan, yakni stasiun 1 berkisar antara 0.0007-0.0017 mg/L, stasiun 2 berkisar antara 0.0004 -0.0014 mg/L, dan stasiun 3 berkisar antara

0.0015-0.0028 mg/L. Nilai yang didapat pada ketiga stasiun sudah melebihi baku mutu. Menurut PP no. 82 tahun 2001 tentang Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air, menyatakan bahwa nilai merkuri yang memenuhi standar Baku Mutu Kelas III, yaitu tidak lebih dari 0,02 mg/L. Adapun kisaran merkuri dapat dilihat pada grafik berikut:



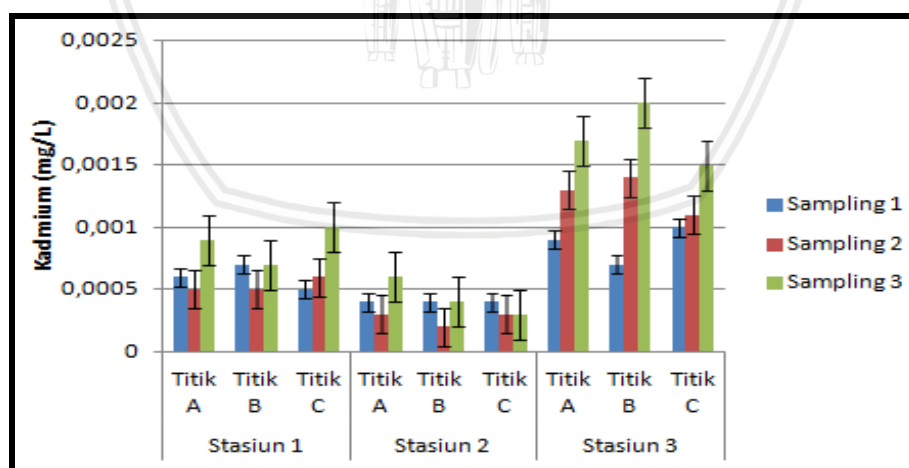
Gambar 13. Grafik kisaran merkuri pada 3 stasiun dengan 3 kali ulangan

Stasiun 3 memiliki merkuri yang tinggi dibandingkan stasiun lainnya yaitu sebesar 0.0028 mg/L, sedangkan stasiun 2 memiliki kisaran merkuri yang lebih rendah sebesar 0.0004 mg/L. Nilai merkuri tersebut masih tergolong aman bagi kehidupan organisme perairan. Menurut Yoga *et al.*, (2015), Toksisitas akut konsentrasi merkuri di perairan tidak boleh melebihi 2,4 µg/L sehingga hewan akuatik masih mampu bertahan. Menurut Yulis (2018), rendahnya merkuri di air karena kandungan oksigen terlarut dan salinitas berada pada kondisi yang normal, tidak mengalami penurunan, merkuri di perairan mengalami pengendapan di sedimen. Merkuri tidak mudah terdeteksi di permukaan perairan karena sifatnya mudah mengikat bahan organik dan mengendap di dasar perairan sehingga akan lebih besar kandungannya di dalam sedimen. Merkuri akan dimakan oleh organisme tingkat trofik terendah misalnya fitoplankton dan zooplankton, kemudian dimakan oleh ikan yang bersifat omnivora dan

mengalami biomagnifikasi pada rantai makanan, organisme yang berada pada rantai makanan paling tinggi memiliki kadar merkuri yang lebih tinggi daripada organisme dibawahnya (Riani, 2010). Dalam tubuh ikan akan terjadi akumulasi merkuri, karena proses penyerapannya lebih cepat dari pada pembuangannya. Simbolon (2018), Sifat ion Merkuri yang mudah berinteraksi dengan air, maka merkuri dengan mudah memasuki tubuh melalui tiga cara, yaitu melalui kulit, inhalasi (pernafasan) maupun lewat makanan.

4.3.9 Kadmium (Cd)

Nilai kadmium yang didapat selama penelitian pada masing-masing stasiun selama tiga kali ulangan, yakni stasiun 1 berkisar antara 0.0005 -0.001mg/L, stasiun 2 berkisar antara 0.0002-0.0006 mg/L, dan stasiun 3 berkisar antara 0.002-0.0007 mg/L. Menurut PP no. 82 tahun 2001 tentang Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air, menyatakan bahwa kadar kadmium yang memenuhi standar Baku Mutu Kelas III, yaitu tidak lebih dari 0,01 mg/L. Adapun kisaran Kadmium dapat dilihat pada grafik berikut:



Gambar 14. Grafik kadmium pada 3 stasiun dengan 3 kali pengulangan

Stasiun 3 memiliki kadmium yang tinggi dibandingkan stasiun lainnya yaitu sebesar 0.002mg/L, sedangkan stasiun 2 memiliki kisaran kadmium yang lebih rendah sebesar 0.0002 mg/L. Nilai tersebut masih tergolong aman bagi

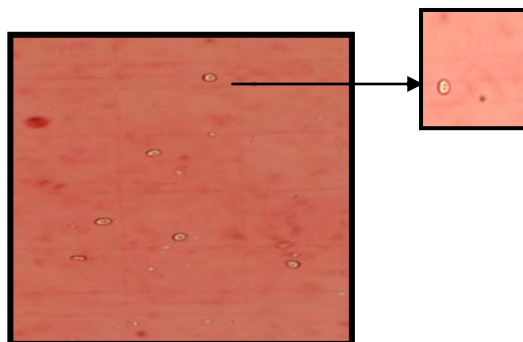


kehidupan organisme perairan. Kadmium merupakan logam berat yang paling banyak, khususnya lingkungan perairan serta memiliki efek toksik yang tinggi pada konsentrasi yang rendah. Efek jangka panjang paparan dapat mencakup kematian larva dan pengurangan sementara pertumbuhan (Widowati *et al.*, 2008). Kadmium merupakan logam berat yang bersifat toksik. (Riani *et al.*, 2017). Menurut Ahyar *et al.*, (2017), logam Cd di perairan berasal dari berbagai aktivitas seperti industri baterai, plastik, kendaraan, penggunaan fungisida dan pestisida pada kegiatan pertanian. Akumulasi Cd pada tubuh ikan selain dipengaruhi oleh faktor fisiologis ikan dan sifat fisika kimia logam berat tersebut, juga dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti suhu perairan. Suyanto (2010), Kadar Cd yang berlebihan di dalam tubuh yang dapat masuk melalui makanan, minuman, dan inhalasi akan mengganggu metabolisme tubuh dan menimbulkan gangguan kesehatan antara lain gangguan pada ginjal, hati, paru-paru, jantung serta sistem reproduksi.

4.4 Kondisi Hematologi Ikan Gambusia (*Gambusia affinis*)

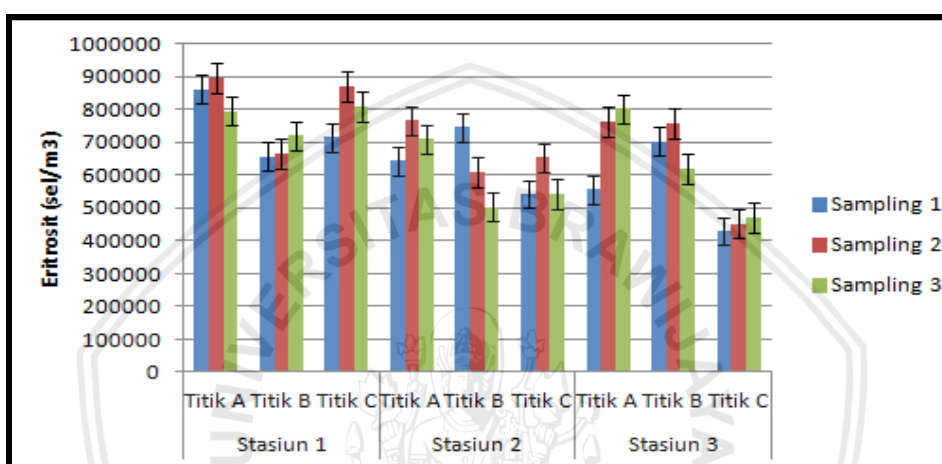
4.4.1 Jumlah Sel Eritrosit

Ikan yang memiliki diameter eritrosit yang kecil, laju metabolismenya lebih tinggi dibandingkan dengan ikan yang diameternya lebih besar. Berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan didapat gambar eritrosit sebagai berikut:



Gambar 15. Eritrosit ikan Gambusia (*Gambusia affinis*)

Berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan di Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Reproduksi, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya terhadap ikan gambusia (*Gambusia affinis*) di tiga stasiun didapat perhitungan seperti yang dilampirkan pada lampiran 6 dan hasil parameter hematologi di lampiran 5. Berikut adalah rata-rata eritrosit (sel/mm^3) pada ikan gambusia (*Gambusia affinis*) yang digambarkan pada grafik berikut:



Gambar 16. Grafik eritrosit pada 3 stasiun

Berdasarkan grafik diatas, dapat diketahui bahwa jumlah rata-rata eritrosit ikan gambusia (*Gambusia affinis*) terbanyak berada pada stasiun 1 (satu), yakni dengan jumlah rata-rata sebesar $777.000 \text{ sel}/\text{mm}^3$ yang berkisar antara $658.000 - 896.000 \text{ sel}/\text{mm}^3$. Kemudian, jumlah rata-rata eritrosit menurun pada stasiun 2 (dua), yakni sebesar $635.222,22 \text{ sel}/\text{mm}^3$ yang berkisar antara $503.000 - 766.000 \text{ sel}/\text{mm}^3$. Jumlah rata-rata eritrosit terkecil berada pada stasiun 3 (tiga), yakni sebesar $617.555,56 \text{ sel}/\text{mm}^3$ yang berkisar antara $430.000-803.000 \text{ sel}/\text{mm}^3$.

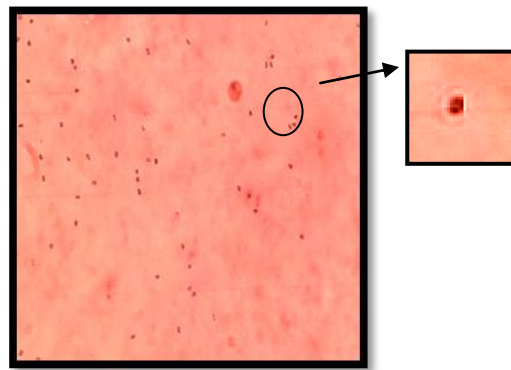
Jumlah eritrosit pada stasiun ketiga dikategorikan rendah karena dibawah ukuran eritrosit normal yang berkisar antara $1.050.000 - 3.000.000 \text{ sel}/\text{mm}^3$. Eritrosit tertinggi di Stasiun 1 yaitu $896.000 \text{ sel}/\text{mm}^3$ dan terendah di Stasiun 3 yaitu $430.000 \text{ sel}/\text{mm}^3$. Rendahnya jumlah eritrosit mengindikasikan adanya masalah

kesehatan pada ikan akibat pencemaran. Lokasi penelitian merupakan daerah industri, pertanian dan pemukiman padat, dimana limbah domestik dari berbagai kegiatan rumah tangga dan aktivitas manusia dialirkan ke badan sungai, sehingga mengakibatkan jumlah eritrosit menjadi rendah. Menurut Onyia *et al.* (2013), kehidupan ikan sangat berhubungan dengan habitatnya. Perubahan lingkungan secara fisik atau kimia akan mempengaruhi komponen darah ikan. Jika ikan terpapar pada senyawa kimia tertentu menurunkan eritrosit.

Kondisi ikan yang dijadikan sampel pada pengamatan di setiap stasiun mengalami gangguan kesehatan seperti kerusakan insang, dan luka-luka disekitar badan dan ekor. Maftuch *et al.*, (2012), Eritrosit menurun hal ini disebabkan kondisi insang semakin buruk, sehingga menyebabkan kerja insang terganggu, yang berimbas pada kesulitan Hb mengikat oksigen. Berkurangnya jumlah eritrosit juga diduga disebabkan karena terjadinya anemia pada ikan. Anemia merupakan gangguan yang terjadi pada jaringan darah ikan. Gangguan ini terjadi akibat ikan terpapar oleh polutan kimia atau logam-logam berat sehingga mengakibatkan disfungsi pada organ osmoregulator, suplai makanan ke sel, jaringan dan organ akan berkurang sehingga proses metabolisme ikan terhambat.

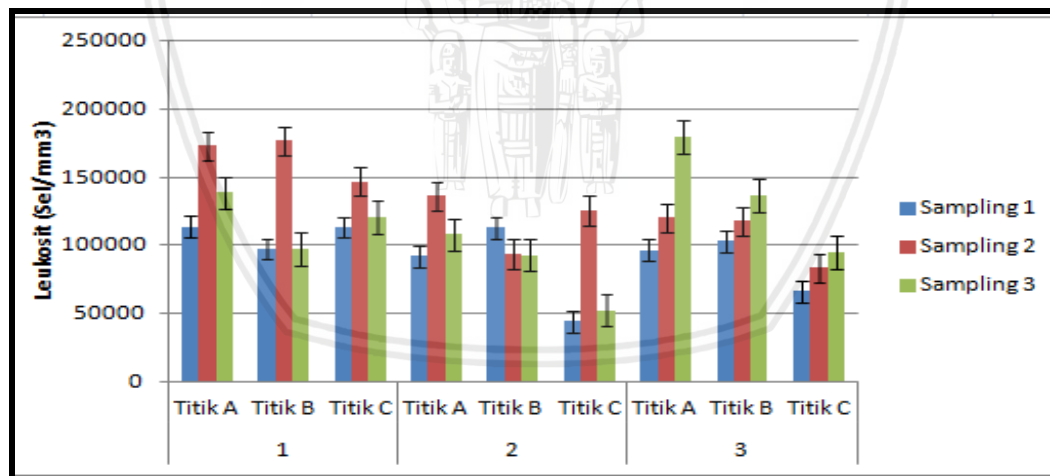
4.4.2 Jumlah Sel Leukosit

Peningkatan pada jumlah leukosit terjadi akibat adanya respon tubuh ikan terhadap kondisi lingkungan hidupnya yang buruk. Ikan yang sakit akan menghasilkan banyak leukosit untuk memfagosit bakteri dan mensintesis antibodi. Berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan didapat gambar leukosit sebagai berikut:



Gambar 17. Leukosit ikan Gambusia (*Gambusia affinis*)

Berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan di Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Reproduksi, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan terhadap ikan gambusia (*Gambusia affinis*) di tiga stasiun didapat perhitungan leukosit seperti yang dilampirkan pada lampiran 6 dan hasil parameter hematologi di lampiran 5. Berikut adalah rata-rata leukosit (sel/mm^3) ikan gambusia (*Gambusia affinis*) yang digambarkan pada grafik berikut:



Gambar 18. Grafik leukosit pada 3 stasiun

Berdasarkan data grafik diatas, dapat diketahui bahwa jumlah rata-rata leukosit ikan gambusia (*Gambusia affinis*) terbanyak berada pada stasiun 1 (satu), yakni dengan jumlah rata-rata sebesar $130.855,56 \text{ sel}/\text{mm}^3$ yang berkisar antara $97300-176650 \text{ sel}/\text{mm}^3$. Kemudian, jumlah rata-rata leukosit menurun pada stasiun 3 (tiga), yakni sebesar $110938,89 \text{ sel}/\text{mm}^3$ yang berkisar antara

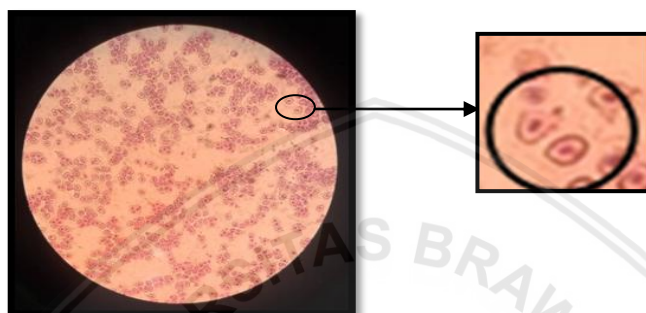
44250-136300 sel/mm³. Jumlah rata-rata leukosit terkecil berada pada stasiun 2 (dua), yakni sebesar 95244,44 sel/mm³ yang berkisar antara 66150-179850 sel/mm³.

Jumlah leukosit pada stasiun ketiga dikategorikan tinggi karena beberapa dari leukosit yang diamati melebihi 150.000 sel/mm³ sedangkan ukuran leukosit normal yang berkisar antara 20.000-150.000 sel/mm³. Leukosit tertinggi di Stasiun 1 yaitu 179850 sel/mm³ dan terendah di Stasiun 2 yaitu 44250 sel/mm³. Tinggi jumlah leukosit mengindikasikan adanya masalah kesehatan pada ikan akibat pencemaran. Jumlah leukosit yang meningkat dapat disebabkan akibat adanya respon terhadap bahan kimia dan bahan toksik di perairan. Hal tersebut dimaksudkan untuk meningkatkan pertahanan tubuh dan memproduksi antibodi (Lubis *et al.*, 2016). Lokasi penelitian merupakan daerah industri, pertanian dan pemukiman padat, dimana limbah domestik dari berbagai kegiatan rumah tangga dan aktivitas manusia dialirkan ke badan sungai, sehingga mengakibatkan jumlah eritrosit menjadi rendah. Menurut Lestari *et al.* (2017), jumlah leukosit dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu spesies ikan, umur, lingkungan, nutrisi dan stress. Jumlah leukosit dan eritrosit pada ikan berkorelasi negatif, yaitu semakin tinggi jumlah eritrosit semakin rendah jumlah leukositnya.

Menurut Mahasri *et al.* (2011), leukosit membantu membersihkan tubuh dari benda asing, termasuk invasi patogen melalui sistem tanggap kebal. Ikan yang sakit akan menghasilkan banyak leukosit untuk memfagosit bakteri dan mensintesis antibodi. Jumlah leukosit terus meningkat, ini disebabkan karena ikan berusaha mempertahankan diri dari kondisi buruk akibat pemaparan bakteri yang dapat dilihat dari jumlah leukosit yang terus meningkat serta tubuh ikan tersebut akan membentuk antibodi.

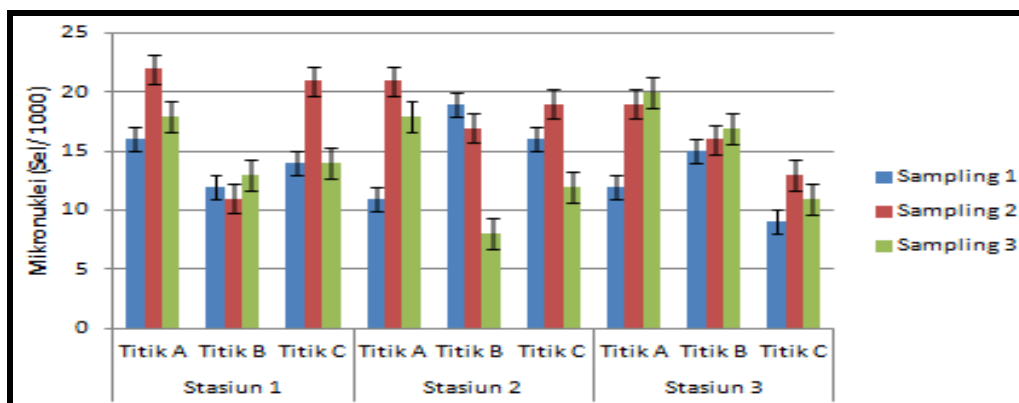
4.5 Jumlah Mikronuklei

Ikan terbukti sangat sensitif dalam pembentukan mikronuklei tergantung pada tekanan lingkungan. Mikronuklei ikan penghuni perairan tercemar akan memiliki frekuensi mikronuklei yang lebih besar. Berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan didapat gambar mikronuklei sebagai berikut:



Gambar 19. Mikronuklei ikan Gambusia (*Gambusia affinis*)

Berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan di Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Reproduksi, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan terhadap ikan gambusia (*Gambusia affinis*) di tiga stasiun yaitu stasiun (Sungai Bangsal, Mojokerto, Sungai Sadar, Mojokerto dan Sungai Karang Pilang, Surabaya), didapat perhitungan mikronuklei seperti yang dilampirkan pada lampiran 6 dan hasil parameter hematologi di lampiran 5. Berikut adalah rata-rata mikronuklei (sel/1000) ikan gambusia (*Gambusia affinis*) yang digambarkan pada grafik berikut:



Gambar 20. Grafik Mikronuklei pada 3 stasiun

Berdasarkan data pada tabel diatas, dapat diketahui bahwa jumlah rata-rata mikronuklei ikan gambusia (*Gambusia affinis*) terbanyak berada pada stasiun 1 (satu) dan dua (dua), yakni dengan jumlah rata-rata sebesar 15,67 sel/1000. Stasiun 1 memiliki jumlah mikronuklei sebesar 11 - 22 sel/1000 sedangkan pada stasiun 2 sebesar 8 – 21 sel/100. Jumlah rata-rata mikronuklei terkecil berada pada stasiun 3 (tiga), yakni sebesar 14,67 sel/1000.

Jumlah mikronuklei pada ketiga stasiun dikategorikan tinggi. Mikronuklei tertinggi di Stasiun 1 yaitu 22 sel/1000 dan terendah di Stasiun 2 yaitu 8 sel/1000. Jumlah mikronuklei yang semakin meningkat mengindikasikan adanya masalah kesehatan pada ikan akibat pencemaran. Lokasi penelitian merupakan daerah industri, pertanian dan pemukiman padat, dimana limbah domestik dari berbagai kegiatan rumah tangga dan aktivitas manusia dialirkan ke badan sungai. Uji mikronuklei merupakan metode yang digunakan dalam memantau polutan akuatik dari sifat mutagenik. Ikan dapat merespons mutagen yang ada di habitat perairan bahkan pada konsentrasi yang sangat rendah. Mutagen ini dapat menyebabkan pembentukan mikronuklei dalam sel (Kousar dan Javed, 2015). Banyak mikronuklei terbentuk pada ikan yang mengalami polusi. Frekuensi mikronuklei bervariasi tergantung pada musim, jenis polusi dan spesies ikan (Arslan and Parlak, 2017). Menurut Bolognesi dan Hayashi (2011), salinitas, suhu, pH dan ketersediaan makanan, meningkatkan pergantian sel yang mampu mempengaruhi tingkat ekspresi mikronuklei. Pengamatan mikronuklei harus dilakukan dengan saksama, dipisahkan agar tidak tumpang tindih dengan nukleus utama.

4.6 Analisis Perbedaan Parameter Kualitas Air yang Memenuhi dan Tidak Memenuhi Baku Mutu

Sesuai dengan Peraturan Pemerintah No. 82 Tahun 2001 maka dapat dikategorikan parameter yang diamati apakah sesuai atau tidak dengan baku mutu. Status mutu air mencerminkan kondisi mutu air yang menunjukkan tingkat pencemaran suatu sumber air dalam waktu tertentu, dibandingkan dengan baku mutu air yang ditetapkan. Adapun parameter kualitas perairan yang sesuai dengan PP No. 82 Tahun 2001 adalah sebagai berikut:

Tabel 6. Baku Mutu Sesuai dengan PP No. 82 Tahun 2001

Parameter	Baku Mutu
Fisika	
Suhu	Deviasi 3°C
Kimia	
pH	6 – 9
DO (mg/L)	3
BOD (mg/L)	6
Amonia (mg/L)	0,02
Fenol (mg/L)	0,001
Logam Berat	
Kadmium (Cd) (mg/L)	0,01
Merkuri (Hg) (mg/L)	0,002
Timbal (Pb) (mg/L)	0,03

(Sumber: Peraturan Pemerintah RI No. 82 Tahun 2001)

Suatu sungai dikatakan terjadi penurunan kualitas air, jika angka hasil pengamatan tidak sesuai dengan baku mutu yang telah ditetapkan. Berdasarkan PP. No. 82 Tahun 2001 yang dibandingkan dengan **Lampiran 4** tidak semua sesuai dengan baku mutu. Nilai kualitas perairan pada setiap stasiun dibagi menjadi dua kategori yaitu Memenuhi Baku Mutu (B) dan Tidak memenuhi Baku Mutu (BM). Hasil analisis kualitas air pada setiap stasiun disajikan pada tabel sebagai berikut:

Tabel 7. Parameter yang Memenuhi (B) dan Tidak Memenuhi Baku Mutu (BM)

Stasiun	Ulangan	Titik Sampel	Parameter Kualitas Air								
			pH	Suhu	DO	BOD	Amonia	Fenol	Pb	Hg	Cd
Stasiun 1	1	Titik A	B	B	B	TB	TB	TB	B	B	B
		Titik B	B	B	B	TB	TB	TB	B	B	B
		Titik C	B	B	B	TB	TB	TB	B	B	B
	2	Titik A	B	B	B	TB	TB	TB	B	B	B
		Titik B	B	B	B	TB	TB	TB	B	B	B
		Titik C	B	B	B	TB	TB	TB	B	B	B
	3	Titik A	B	B	B	TB	TB	TB	B	B	B
		Titik B	B	B	B	TB	TB	TB	B	B	B
		Titik C	B	B	B	TB	TB	TB	B	B	B
Stasiun 2	1	Titik A	B	B	B	TB	TB	TB	B	B	B
		Titik B	B	B	B	TB	TB	TB	B	B	B
		Titik C	B	B	B	TB	TB	TB	B	B	B
	2	Titik A	B	B	B	TB	TB	TB	B	B	B
		Titik B	B	B	B	TB	TB	TB	B	B	B
		Titik C	B	B	B	TB	TB	TB	B	B	B
	3	Titik A	B	B	B	TB	TB	TB	B	B	B
		Titik B	B	B	B	TB	TB	TB	B	B	B
		Titik C	B	B	B	TB	TB	TB	B	B	B
Stasiun 3	1	Titik A	B	B	B	TB	TB	TB	B	B	B
		Titik B	B	B	B	TB	TB	TB	B	B	B
		Titik C	B	B	B	TB	TB	TB	B	B	B
	2	Titik A	B	B	B	TB	TB	TB	B	B	B
		Titik B	B	B	B	TB	TB	TB	B	B	B
		Titik C	B	B	B	TB	TB	TB	B	B	B
	3	Titik A	B	B	B	TB	TB	TB	B	B	B
		Titik B	B	B	B	TB	TB	TB	B	B	B
		Titik C	B	B	B	TB	TB	TB	B	B	B

Dimana : Tidak memenuhi baku mutu (TB)

Memenuhi baku mutu (B)

Berdasarkan pengamatan maka diperoleh 9 (Sembilan) parameter yaitu Suhu, pH, DO, BOD, Fenol, amonia, Pb, Hg dan Cd. Setelah dilakukan analisis lebih lanjut, diperoleh 3 (tiga) parameter kualitas air yang tidak sesuai dengan baku mutu (BM) yaitu parameter BOD, fenol dan amonia.

4.7 Hubungan Hematologi Ikan Gambusia (*Gambusia affinis*) terhadap Parameter Kualitas Air

Hubungan keeratan antara parameter darah ikan gambusia dan parameter kualitas air dapat dilakukan dengan analisis regresi linear sederhana menggunakan aplikasi SPSS 23.00 Variabel X (*independent*) dapat dikatakan berpengaruh terhadap variabel Y (*dependent*). Variabel X yang digunakan adalah parameter kualitas air yang tidak baku seperti BOD, amonia, dan atau fenol sedangkan variabel Y Parameter yang digunakan yaitu eritrosit, leukosit dan atau mikronuklei. Analisis yang digunakan untuk mengetahui hubungan antar parameter yaitu menggunakan regresi linear sederhana dan diperoleh hasil seperti yang dilampirkan pada lampiran 8.

4.7.1 Pengaruh Parameter Kualitas air terhadap Hematologi pada Stasiun 1

a. Eritrosit

Hasil analisis hubungan antara kadar kualitas air (BOD, amonia, fenol) terhadap kadar eritrosit pada stasiun 1 dengan menggunakan regresi linear sederhana dapat dilihat pada tabel sebagai berikut:

Tabel 8. Hubungan parameter kualitas air dengan eritrosit di stasiun 1

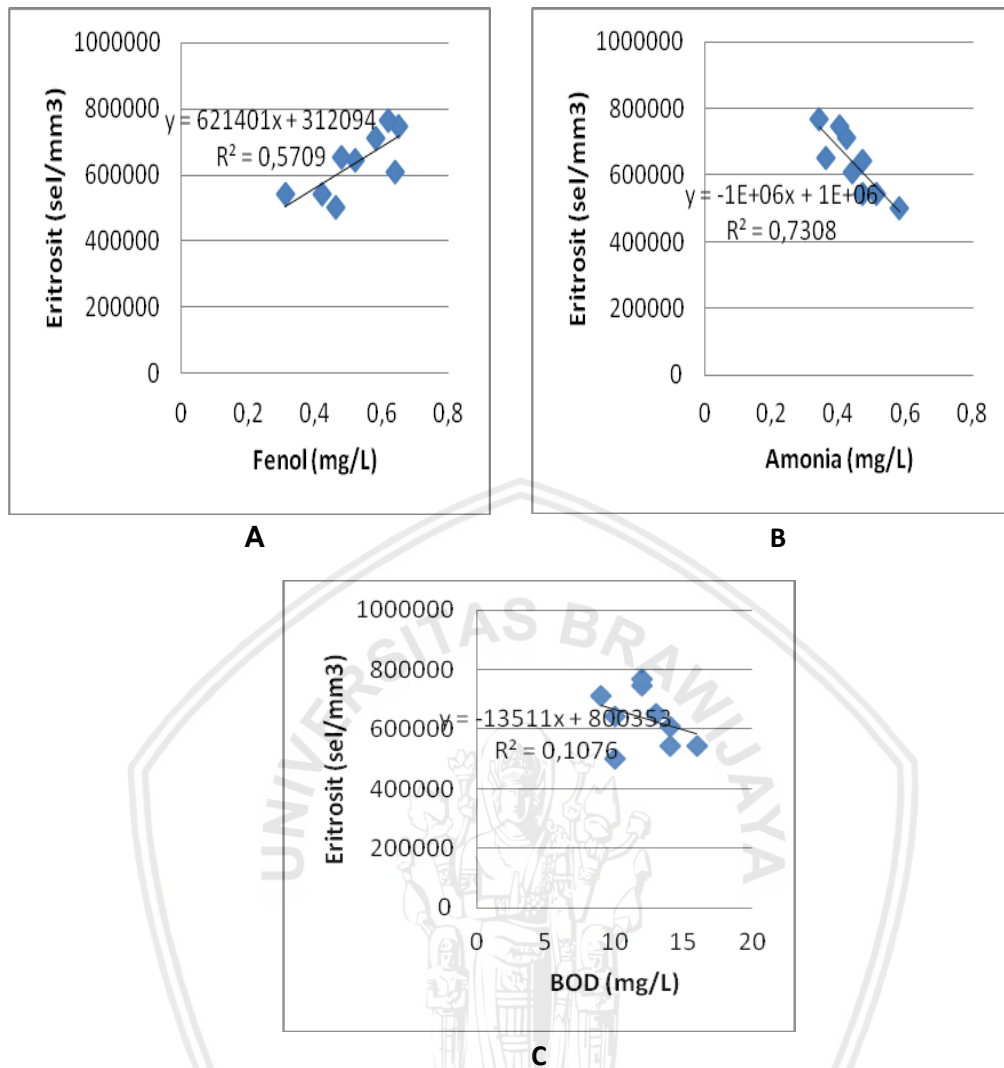
Parameter (x)	Hematologi (y)	Stasiun 1		
		r	R Square	Sig
BOD (mg/L)	Eritrosit	- 0,727	0,529	0,026
Amonia (mg/L)	(sel/mm ³)	- 0,894	0,799	0,001
Fenol (mg/L)		0,609	0,37	0,82

Pada stasiun 1 diperoleh koefisien determinasi (R^2) parameter kualitas air BOD sebesar 0,529. Dimana jumlah eritrosit pada stasiun 1 yang dapat dijelaskan parameter kualitas air BOD 52,9% sedangkan 47,1% dijelaskan oleh parameter kualitas air lainnya. Koefisien kolerasi (r) yang diperoleh parameter kualitas air BOD dengan eritrosit pada stasiun 1 sebesar 0,727. Nilai ini

menunjukkan adanya kolerasi yang sedang antara ke dua variabel. Hal tersebut didukung oleh perolehan koefisien signifikan uji F sebesar 0,026 ($\text{sig} < 0.05$) yang menunjukkan adanya pengaruh parameter kualitas air BOD terhadap eritrosit pada stasiun 1. Hasil analisis bisa dilihat di lampiran 8.

Pada stasiun 1 diperoleh koefisien determinasi (R^2) parameter kualitas air amonia sebesar 0,799. Dimana jumlah eritrosit pada stasiun 1 yang dapat dijelaskan parameter kualitas air amonia 79,9% sedangkan 20,1% dijelaskan oleh parameter kualitas air lainnya. Koefisien kolerasi (r) yang diperoleh parameter kualitas air amonia dengan eritrosit pada stasiun 1 sebesar 0,894. Nilai ini menunjukkan adanya kolerasi yang sangat kuat antara ke dua variabel. Hal tersebut didukung oleh perolehan koefisien signifikan uji F sebesar 0,001 ($\text{sig} < 0.05$) yang menunjukkan adanya pengaruh parameter kualitas air amonia terhadap eritrosit pada stasiun 1. Hasil analisis bisa dilihat di lampiran 8.

Pada stasiun 1 diperoleh koefisien determinasi (R^2) parameter kualitas air fenol sebesar 0,37. Dimana jumlah eritrosit pada stasiun 1 yang dapat dijelaskan parameter kualitas air fenol 37% sedangkan 63% dijelaskan oleh parameter kualitas air lainnya. Koefisien kolerasi (r) yang diperoleh parameter kualitas air fenol dengan eritrosit pada stasiun 1 sebesar 0,609. Nilai ini menunjukkan adanya kolerasi yang rendah antara ke dua variabel. Hal tersebut didukung oleh perolehan koefisien signifikan uji F sebesar 0,082 ($\text{sig} < 0.05$) yang menunjukkan tidak ada pengaruh parameter kualitas air BOD terhadap eritrosit pada stasiun 1. Hasil analisis bisa dilihat di lampiran 8.



Gambar 21. Hasil Regresi Kualitas Air terhadap Eritrosit di Stasiun

Berdasarkan pengamatan yang didapat maka parameter amonia merupakan parameter kualitas air yang paling berpengaruh dibandingkan parameter lainnya. Amonia yang tinggi dikarenakan penggunaan lahan pemukiman disekitar perairan yang meningkat seiring hasil perombakan bahan organik (amonifikasi oleh mikroorganisme). Aktivitas sehari-hari dari hasil limbah pemukiman pada air sungai akan mempengaruhi amonia. (Apriyanti, 2013). Ikan yang terpapar oleh amonia yang tinggi akan mengalami kerusakan sel darah akibat dari produksi berlebih dari spesies oksigen reaktif, dan persaingan mendapatkan pakan diperairan. Rendahnya nilai eritrosit ini diduga karena ikan yang dipelihara

dengan kepadatan tinggi pakan yang dikonsumsi (Hastuti dan Subandiyono, 2015).

b. Leukosit

Hasil analisis hubungan antara kadar kualitas air (BOD, amonia, fenol) terhadap kadar leukosit pada stasiun 1 dengan menggunakan regresi linear sederhana dapat dilihat pada tabel sebagai berikut:

Tabel 9. Hubungan parameter tidak baku dengan leukosit di stasiun 1

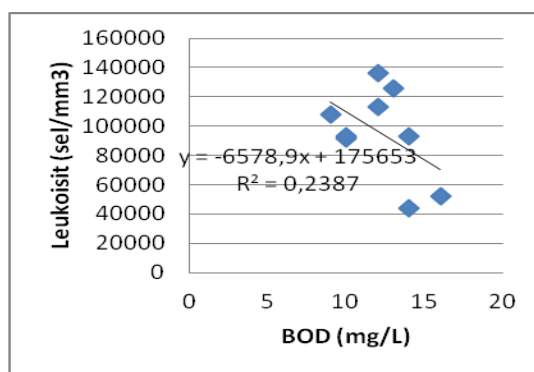
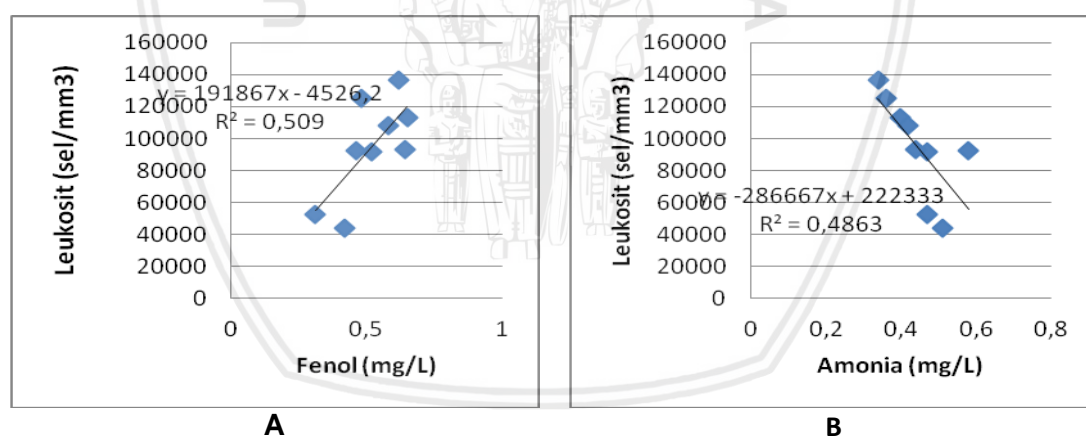
Parameter (x)	Stasiun 1			
	Hematologi (y)	r	R Square	Sig
BOD (mg/L)	Leukosit	-0,789	0,623	0,011
Amonia (mg/L)	(sel/mm ³)	-0,978	0,957	0
Fenol (mg/L)		0,55	0,302	0,125

Pada stasiun 1 diperoleh koefisien determinasi (R^2) parameter kualitas air BOD sebesar 0,623. Dimana jumlah leukosit pada stasiun 1 yang dapat dijelaskan parameter kualitas air BOD 62,3% sedangkan 37,7% dijelaskan oleh parameter kualitas air lainnya. Koefisien korelasi (r) yang diperoleh parameter kualitas air BOD dengan leukosit pada stasiun 1 sebesar 0,789. Nilai ini menunjukkan adanya korelasi yang kuat antara ke dua variabel. Hal tersebut didukung oleh perolehan koefisien signifikan uji F sebesar 0,011 ($\text{sig} < 0.05$) yang menunjukkan adanya pengaruh parameter kualitas air BOD terhadap leukosit pada stasiun 1. Hasil analisis bisa dilihat di lampiran 9.

Pada stasiun 1 diperoleh koefisien determinasi (R^2) parameter kualitas air amonia sebesar 0,957. Dimana jumlah leukosit pada stasiun 1 yang dapat dijelaskan parameter kualitas air amonia 97,8% sedangkan 4,3% dijelaskan oleh parameter kualitas air lainnya. Koefisien korelasi (r) yang diperoleh parameter kualitas air amonia dengan leukosit pada stasiun 1 sebesar 0,978. Nilai ini menunjukkan adanya korelasi yang sangat kuat antara ke dua variabel. Hal

tersebut didukung oleh perolehan koefisien signifikan uji F sebesar 0 (sig < 0.05) yang menunjukkan adanya pengaruh parameter kualitas air BOD terhadap leukosit pada stasiun 1. Hasil analisis bisa dilihat di lampiran 9.

Pada stasiun 1 diperoleh koefisien determinasi (R^2) parameter kualitas air fenol sebesar 0.302. Dimana jumlah leukosit pada stasiun 1 yang dapat dijelaskan parameter kualitas air fenol 30.2% sedangkan 69.8% dijelaskan oleh parameter kualitas air lainnya. Koefisien kolerasi (r) yang diperoleh parameter kualitas air fenol dengan leukosit pada stasiun 1 sebesar 0,55. Nilai ini menunjukan adanya kolerasi yang sedang antara ke dua variabel. Hal tersebut didukung oleh perolehan koefisien signifikan uji F sebesar 0,125 (sig < 0.05) yang menunjukkan tidak ada pengaruh parameter kualitas air fenol terhadap leukosit pada stasiun 1. Hasil analisis bisa dilihat di lampiran 9.



Gambar 22. Hasil Regresi Kualitas Air terhadap Leukosit di Stasiun 1

Amonia memiliki pengaruh yang sangat kuat terhadap perubahan leukosit di Stasiun 1. Amonia yang tinggi dikarenakan penggunaan lahan pemukiman disekitar perairan tingginya kadar amonia yang mengakibatkan pemupukan kotoran biota perairan dan hasil kegiatan jasad renik di dalam pembusukkan bahan – bahan organik yang kaya akan nitrogen atau protein (Kordi, 2010). Peningkatan jumlah nilai leukosit pada pengamatan disebabkan oleh respon imun ikan yang membentuk leukosit lebih banyak saat terjadi gangguan pada tubuh ikan. Jumlah leukosit yang tinggi diduga karena stress pada ikan akibat kualitas air yang buruk dan tercemar. Peningkatan jumlah leukosit disebut leukositosis (Lestari *et al.*, 2017).

c. Mikronuklei

Hasil analisis hubungan antara kadar kualitas air (BOD, amonia, fenol) terhadap kadar mikronuklei pada stasiun 1 dengan menggunakan regresi linear sederhana dapat dilihat pada tabel sebagai berikut:

Tabel 10. Hubungan parameter tidak baku dengan mikronuklei di stasiun 1

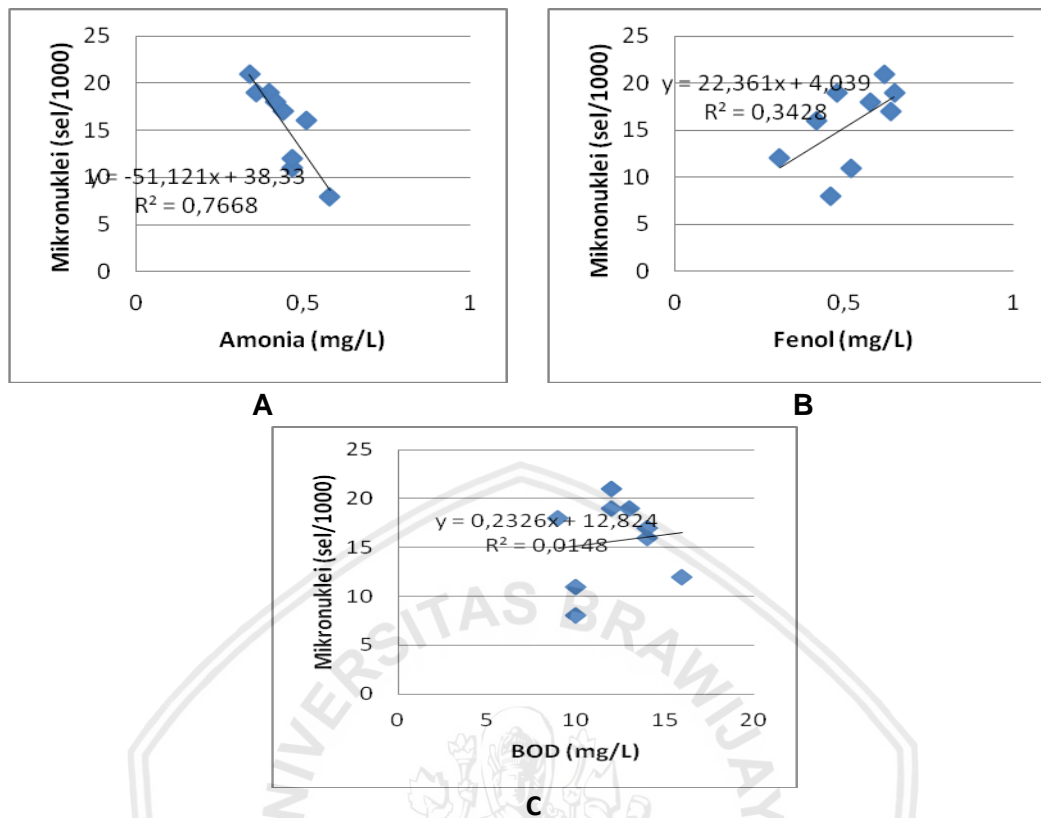
Stasiun 1				
Parameter (x)	Hematologi (y)	r	R Square	Sig
BOD (mg/L)		0,753	0,573	0,018
Amonia (mg/L)	MN (sel/1000)	-0,944	0,89	0
Fenol (mg/L)		0,611	0,374	0,08

Pada stasiun 1 diperoleh koefisien determinasi (R^2) parameter kualitas air BOD sebesar 0,537. Dimana jumlah mikronuklei pada stasiun 1 yang dapat dijelaskan parameter kualitas air BOD 53.7% sedangkan 46.3% dijelaskan oleh parameter kualitas air lainnya. Koefisien kolerasi (r) yang diperoleh parameter kualitas air BOD dengan mikronuklei pada stasiun 1 sebesar 0,753. Nilai ini menunjukan adanya kolerasi yang kuat antara ke dua variabel. Hal tersebut

didukung oleh perolehan koefisien signifikan uji F sebesar 0,018 ($\text{sig} < 0.05$) yang menunjukkan adanya pengaruh parameter kualitas air BOD terhadap mikronuklei pada stasiun 1. Hasil analisis bisa dilihat di lampiran 10.

Pada stasiun 1 diperoleh koefisien determinasi (R^2) parameter kualitas air amonia sebesar 0,89. Dimana jumlah mikronuklei pada stasiun 1 yang dapat dijelaskan parameter kualitas air amonia 89% sedangkan 11% dijelaskan oleh parameter kualitas air lainnya. Koefisien kolerasi (r) yang diperoleh parameter kualitas air amonia dengan mikronuklei pada stasiun 1 sebesar 0,944. Nilai ini menunjukan adanya kolerasi yang sangat kuat antara ke dua variabel. Hal tersebut didukung oleh perolehan koefisien signifikan uji F sebesar 0 ($\text{sig} < 0.05$) yang menunjukkan adanya pengaruh parameter kualitas air amonia terhadap mikronuklei pada stasiun 1. Hasil analisis bisa dilihat di lampiran 10.

Pada stasiun 1 diperoleh koefisien determinasi (R^2) parameter kualitas air fenol sebesar 0,374. Dimana jumlah mikronuklei pada stasiun 1 yang dapat dijelaskan parameter kualitas air fenol 37,4% sedangkan 62.6% dijelaskan oleh parameter kualitas air lainnya. Koefisien kolerasi (r) yang diperoleh parameter kualitas air fenol dengan mikronuklei pada stasiun 1 sebesar 0,611. Nilai ini menunjukan adanya kolerasi yang sangat kuat antara ke dua variabel. Hal tersebut didukung oleh perolehan koefisien signifikan uji F sebesar 0.08 ($\text{sig} > 0.05$) yang menunjukkan tidak ada pengaruh parameter kualitas air fenol terhadap mikronuklei pada stasiun 1. Hasil analisis bisa dilihat di lampiran 10.



Gambar 23. Hasil Regresi Kualitas Air terhadap Mikronuklei di Stasiun 1

Nilai koefisien penentu (*R square*) pada kualitas air BOD, amonia dan fenol terhadap mikronuklei secara berurutan sebagai berikut; 0,573; 0,89; 0,374. Amonia memiliki pengaruh yang sangat kuat terhadap perubahan mikronuklei di Stasiun 1. Disamping itu tingginya amonia suatu perairan karena adanya buangan limbah domestik dari penduduk sekitarnya. Sisa-sisa metabolisme atau kotoran ikan semakin banyak yang mengendap di dasar perairan sehingga amonia cenderung meningkat (Maniagasi *et al.*, 2018). Mikronuklei meningkat seiring dengan tingginya paparan dosis pencemar yang ada diperairan. Kerusakan kromosom berbanding lurus dengan meningkatnya jumlah mikronuklei pada ikan (Jois *et al.*, 2010). Dampak terburuk yang terjadi adalah kematian ikan.

4.7.2 Pengaruh Parameter Kualitas air terhadap Hematologi pada Stasiun 2

Hasil analisis hubungan antara kadar kualitas air (BOD, amonia, fenol) terhadap kadar eritrosit pada stasiun 2 dengan menggunakan regresi linear sederhana dapat dilihat pada tabel sebagai berikut:

a. Eritrosit

Hasil analisis hubungan antara kadar kualitas air (BOD, amonia, fenol) terhadap kadar eritrosit pada stasiun 2 dengan menggunakan regresi linear sederhana dapat dilihat pada tabel sebagai berikut:

Tabel 11. Hubungan parameter tidak baku dengan Hematologi di Stasiun 2

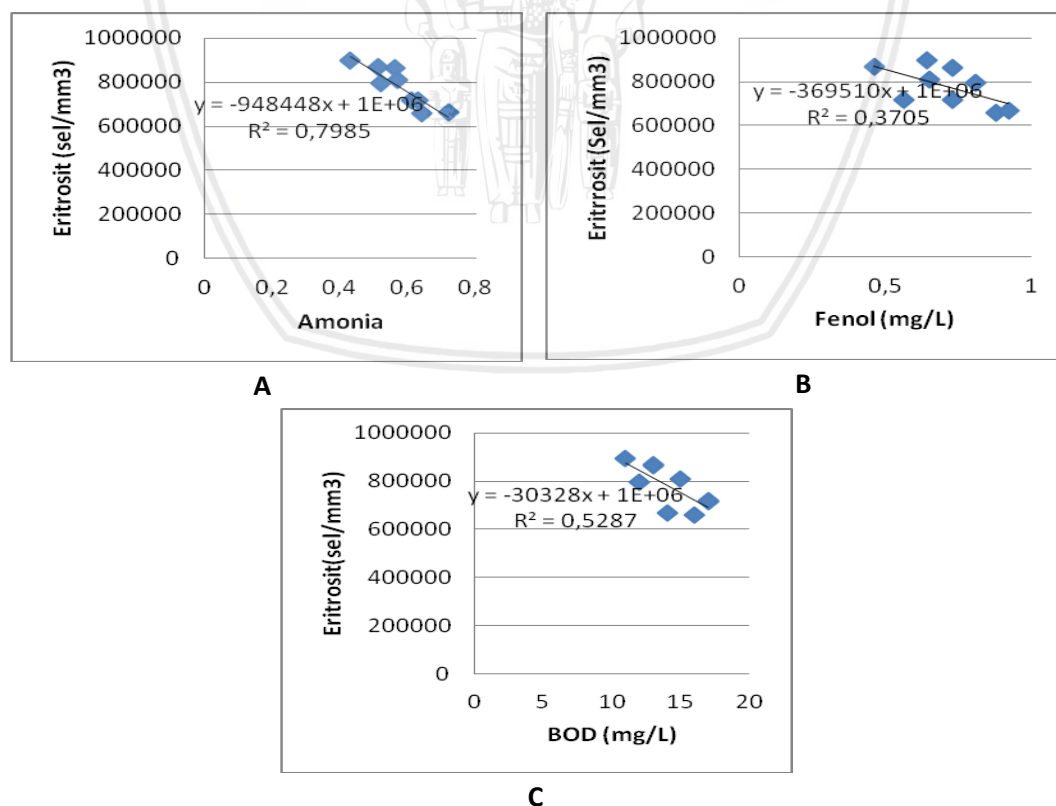
Stasiun 2				
Parameter	Hematologi	r	R Square	Sig
BOD (mg/L)	Eritrosit (sel/mm ³)	-0,328	0,108	0,389
Amonia (mg/L)		-0,855	0,731	0,003
Fenol (mg/L)		-0,756	0,571	0,019

Pada stasiun 2 diperoleh koefisien determinasi (R^2) parameter kualitas air BOD sebesar 0,108. Dimana jumlah eritrosit pada stasiun 2 yang dapat dijelaskan parameter kualitas air BOD 10,8% sedangkan 89,2% dijelaskan oleh parameter kualitas air lainnya. Koefisien kolerasi (r) yang diperoleh parameter kualitas air BOD dengan eritrosit pada stasiun 2 sebesar 0,328. Nilai ini menunjukan adanya kolerasi yang kuat antara ke dua variabel. Hal tersebut didukung oleh perolehan koefisien signifikan uji F sebesar 0,389 (sig > 0.05) yang menunjukkan tidak adanya pengaruh parameter kualitas air BOD terhadap eritrosit pada stasiun 2. Hasil analisis bisa dilihat di lampiran 8.

Pada stasiun 2 diperoleh koefisien determinasi (R^2) parameter kualitas air amonia sebesar 0,731. Dimana jumlah eritrosit pada stasiun 2 yang dapat dijelaskan parameter kualitas air amonia 73,1% sedangkan 26,9% dijelaskan oleh parameter kualitas air lainnya. Koefisien kolerasi (r) yang diperoleh parameter kualitas air amonia dengan eritrosit pada stasiun 2 sebesar 0,328.

Nilai ini menunjukan adanya kolerasi yang kuat antara ke dua variabel. Hal tersebut didukung oleh perolehan koefisien signifikan uji F sebesar 0,03 (sig < 0.05) yang menunjukkan adanya pengaruh parameter kualitas air amonia terhadap eritrosit pada stasiun 2. Hasil analisis bisa dilihat di lampiran 8.

Pada stasiun 2 diperoleh koefisien determinasi (R^2) parameter kualitas air fenol sebesar 0,571. Dimana jumlah eritrosit pada stasiun 2 yang dapat dijelaskan parameter kualitas air fenol 57,1% sedangkan 42,9% dijelaskan oleh parameter kualitas air lainnya. Koefisien kolerasi (r) yang diperoleh parameter kualitas air fenol dengan eritrosit pada stasiun 2 sebesar 0,756. Nilai ini menunjukan adanya kolerasi yang kuat antara ke dua variabel. Hal tersebut didukung oleh perolehan koefisien signifikan uji F sebesar 0,019 (sig < 0.05) yang menunjukkan adanya pengaruh parameter kualitas air fenol terhadap eritrosit pada stasiun 2. Hasil analisis bisa dilihat di lampiran 8.



Gambar 24. Hasil Regresi Kualitas Air terhadap Eritrosit di Stasiun 2

Amonia memiliki pengaruh yang kuat terhadap perubahan eritrosit di Stasiun 2. Penggunaan lahan pada stasiun 2 didominasi oleh pertanian. Hasil panen harus ditingkatkan oleh adanya bahan kimia guna memperbanyak hasil panen dan menyuburkan tanaman. Salah satu bahan kimia yang umum terkandung dalam limbah adalah amonia (NH_3) (Bonnin *et al.*, 2008). Pencemaran yang terjadi mengakibatkan ikan sakit sehingga jumlah eritrosit rendah, mengakibatkan suplai makanan ke sel, jaringan dan organ akan berkurang sehingga proses metabolisme ikan akan terhambat (Matofani *et al.*, 2013).

b. Leukosit

Hasil analisis hubungan antara kadar kualitas air (BOD, amonia, fenol) terhadap kadar leukosit pada stasiun 2 dengan menggunakan regresi linear sederhana dapat dilihat pada tabel sebagai berikut:

Tabel 12. Hubungan parameter kualitas air dengan leukosit di stasiun 2

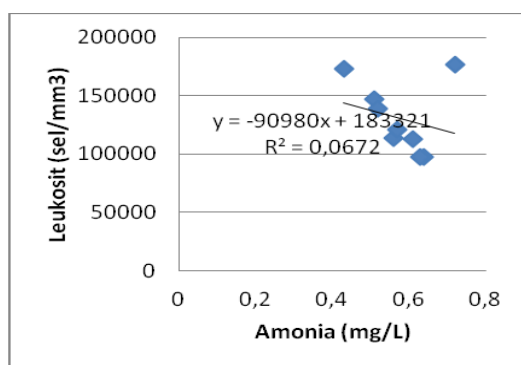
Stasiun 2				
Parameter	Hematologi	r	R Square	Sig
BOD (mg/L)	Leukosit (sel/mm ³)	-0,489	0,239	0,182
Amonia (mg/L)		-0,697	0,486	0,037
Fenol (mg/L)		-0,731	0,509	0,031

Pada stasiun 2 diperoleh koefisien determinasi (R^2) parameter kualitas air BOD sebesar 0,239. Dimana jumlah leukosit pada stasiun 2 yang dapat dijelaskan parameter kualitas air BOD 23,9% sedangkan 76.1% dijelaskan oleh parameter kualitas air lainnya. Koefisien kolerasi (r) yang diperoleh parameter kualitas air BOD dengan leukosit pada stasiun 1 sebesar 0,489. Nilai ini menunjukkan adanya kolerasi yang kuat antara ke dua variabel. Hal tersebut didukung oleh perolehan koefisien signifikan uji F sebesar 0,182 (sig > 0.05)

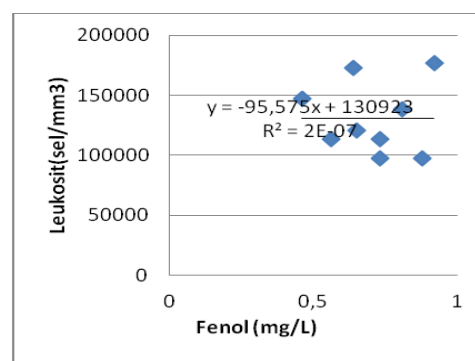
yang menunjukkan tidak ada pengaruh parameter kualitas air BOD terhadap leukosit pada stasiun 2. Hasil analisis bisa dilihat di lampiran 9.

Pada stasiun 2 diperoleh koefisien determinasi (R^2) parameter kualitas air amonia sebesar 0,486. Dimana jumlah leukosit pada stasiun 2 yang dapat dijelaskan parameter kualitas air amonia 48,6% sedangkan 51,4% dijelaskan oleh parameter kualitas air lainnya. Koefisien kolerasi (r) yang diperoleh parameter kualitas air amonia dengan leukosit pada stasiun 1 sebesar 0,697. Nilai ini menunjukan adanya kolerasi yang kuat antara ke dua variabel. Hal tersebut didukung oleh perolehan koefisien signifikan uji F sebesar 0,037 ($\text{sig} < 0.05$) yang menunjukkan ada pengaruh parameter kualitas air amonia terhadap leukosit pada stasiun 2. Hasil analisis bisa dilihat di lampiran 9.

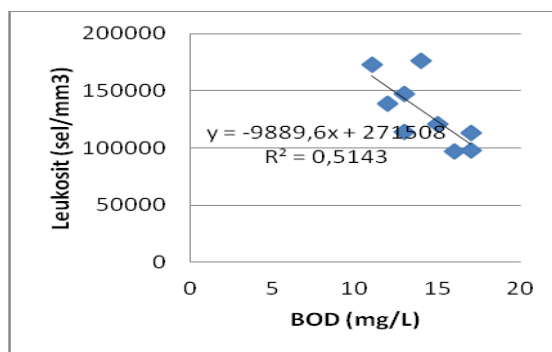
Pada stasiun 2 diperoleh koefisien determinasi (R^2) parameter kualitas air fenol sebesar 0,509. Dimana jumlah leukosit pada stasiun 2 yang dapat dijelaskan parameter kualitas air fenol 50,9% sedangkan 49,1% dijelaskan oleh parameter kualitas air lainnya. Koefisien kolerasi (r) yang diperoleh parameter kualitas air fenol dengan leukosit pada stasiun 1 sebesar 0,031. Nilai ini menunjukan adanya kolerasi yang kuat antara ke dua variabel. Hal tersebut didukung oleh perolehan koefisien signifikan uji F sebesar 0,182 ($\text{sig} < 0.05$) yang menunjukkan ada pengaruh parameter kualitas air fenol terhadap leukosit pada stasiun 2. Hasil analisis bisa dilihat di lampiran 9.



A



B



C

Gambar 25. Hasil Regresi Kualitas Air terhadap Leukosit di Stasiun 2

Fenol memiliki pengaruh yang kuat terhadap perubahan leukosit di Stasiun 2. Umumnya banyak petani yang menggunakan bahan kimia untuk menyuburkan tanamannya. limbah yang mengandung bahan kimia akan berbahaya dan beracun apabila penggunaannya tidak sesuai dosis. limbah fenol juga dapat berasal dari pestisida non spesifik, herbisida, bakterisida, insektisida, dan fungisida (Oktaviana *et al.*, 2016). Leukosit membantu membersihkan tubuh dari benda asing, termasuk invasi patogen lewat sistem tanggap kebal. Ikan yang sakit akan menghasilkan lebih banyak leukosit untuk menghasilkan antibodi (limfosit) atau memfagosit bakteri (heterofil dan monosit) (Putri *et al.*, 2013).

c. Mikronuklei

Hasil analisis hubungan antara kadar kualitas air (BOD, amonia, fenol) terhadap kadar mikronuklei pada stasiun 2 dengan menggunakan regresi linear sederhana dapat dilihat pada tabel sebagai berikut:

Tabel 13. Hubungan parameter kualitas air dengan mikronuklei di stasiun 2

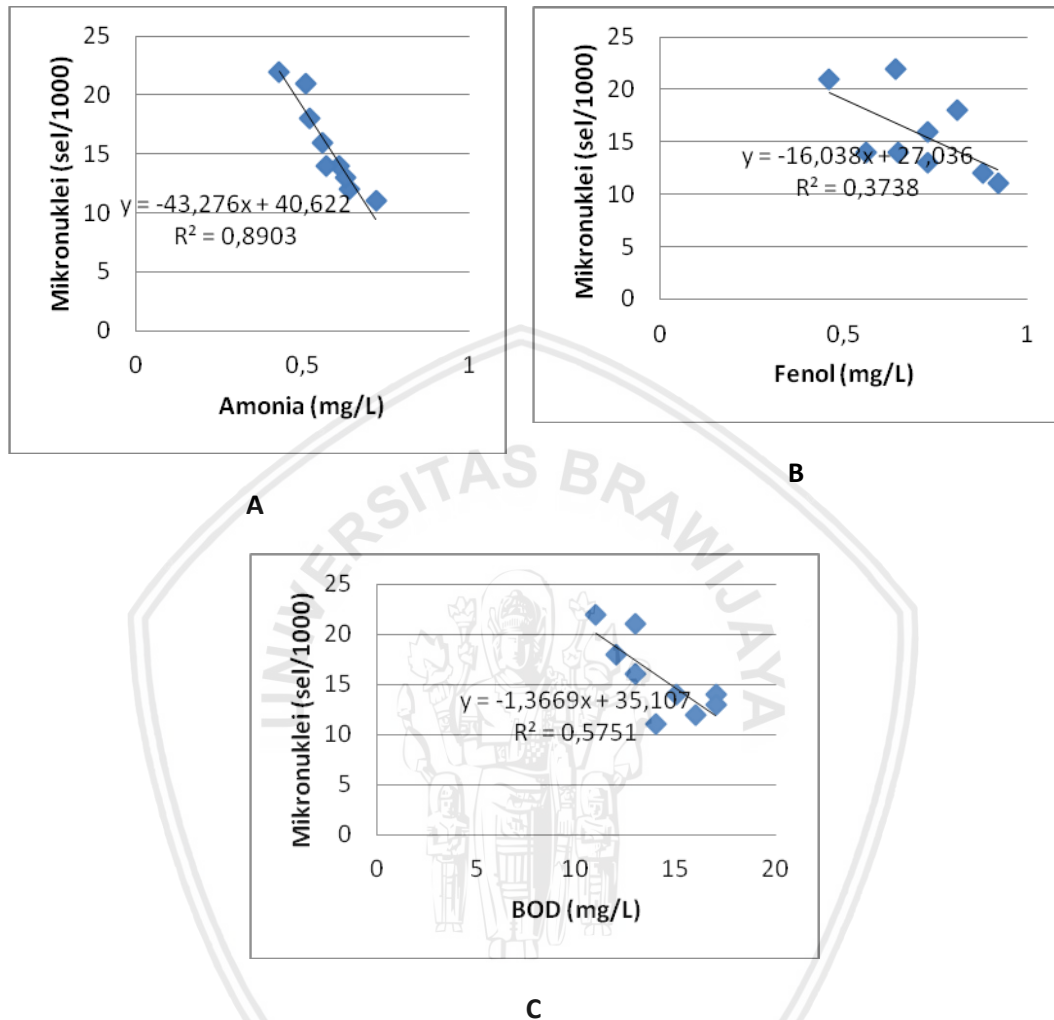
Stasiun 2				
Parameter	Hematologi	r	R Square	Sig
BOD (mg/L)	MN (sel/1000)	-0,122	0,015	0,755
Amonia (mg/L)		-0,876	0,767	0,002
Fenol (mg/L)		-0,585	0,343	0,098

Pada stasiun 2 diperoleh koefisien determinasi (R^2) parameter kualitas air BOD sebesar 0,015. Dimana jumlah mikronuklei pada stasiun 1 yang dapat dijelaskan parameter kualitas air amonia 1,5% sedangkan 98,5% dijelaskan oleh parameter kualitas air lainnya. Koefisien kolerasi (r) yang diperoleh parameter kualitas air BOD dengan mikronuklei pada stasiun 2 sebesar 0,122. Nilai ini menunjukan adanya kolerasi yang sangat rendah antara ke dua variabel. Hal tersebut didukung oleh perolehan koefisien signifikan uji F sebesar 0,755 ($\text{sig} > 0.05$) yang menunjukkan tidak adanya pengaruh parameter kualitas air BOD terhadap mikronuklei pada stasiun 2. Hasil analisis bisa dilihat di lampiran 10.

Pada stasiun 2 diperoleh koefisien determinasi (R^2) parameter kualitas air amonia sebesar 0,767. Dimana jumlah mikronuklei pada stasiun 1 yang dapat dijelaskan parameter kualitas air amonia 76,7% sedangkan 23,3% dijelaskan oleh parameter kualitas air lainnya. Koefisien kolerasi (r) yang diperoleh parameter kualitas air amonia dengan mikronuklei pada stasiun 2 sebesar 0,876. Nilai ini menunjukan adanya kolerasi yang sangat rendah antara ke dua variabel. Hal tersebut didukung oleh perolehan koefisien signifikan uji F sebesar 0,002 ($\text{sig} < 0.05$) yang menunjukkan adanya pengaruh parameter kualitas air amonia terhadap mikronuklei pada stasiun 2. Hasil analisis bisa dilihat di lampiran 10.

Pada stasiun 2 diperoleh koefisien determinasi (R^2) parameter kualitas air fenol sebesar 0,343. Dimana jumlah mikronuklei pada stasiun 1 yang dapat dijelaskan parameter kualitas air fenol 34,3% sedangkan 65,7% dijelaskan oleh parameter kualitas air lainnya. Koefisien kolerasi (r) yang diperoleh parameter kualitas air fenol dengan mikronuklei pada stasiun 2 sebesar 0,585. Nilai ini menunjukan adanya kolerasi yang sangat rendah antara ke dua variabel. Hal tersebut didukung oleh perolehan koefisien signifikan uji F sebesar 0,098 ($\text{sig} >$

0.05) yang menunjukkan tidak adanya pengaruh parameter kualitas air fenol terhadap mikronuklei pada stasiun 2. Hasil analisis bisa dilihat di lampiran 10.



Gambar 26. Hasil Regresi Kualitas Air terhadap Mikronuklei di Stasiun 2

Nilai koefisien penentu (*R square*) pada kualitas air BOD, amonia dan fenol terhadap mikronuklei secara berurutan sebagai berikut; 0,015; 0,767; 0,343. Amonia memiliki pengaruh yang sangat kuat terhadap perubahan mikronuklei di Stasiun 2. Sumber amonia di perairan adalah pemecahan nitrogen organik dan anorganik yang terdapat di dalam tanah dan kolom air yang berasal dari dekomposisi bahan organik oleh dekomposer (amonifikasi) (Effendi, 2003). Ikan tidak bisa lepas kaitannya dengan kualitas air. Saat berada diperairan yang

tercemar maka rantai makanan merupakan salah satu faktor yang menyebabkan ikan keracunan bahan toksik sehingga terbentuk mikronuklei (Agah *et al.*, 2009)

4.7.3 Pengaruh Parameter Kualitas air terhadap Hematologi pada Stasiun 3

a. Eritrosit

Hasil analisis hubungan antara kadar kualitas air (BOD, amonia, fenol) terhadap kadar eritrosit pada stasiun 3 dengan menggunakan regresi linear sederhana dapat dilihat pada tabel sebagai berikut:

Tabel 14. Hubungan parameter kualitas air dengan Hematologi di Stasiun 3

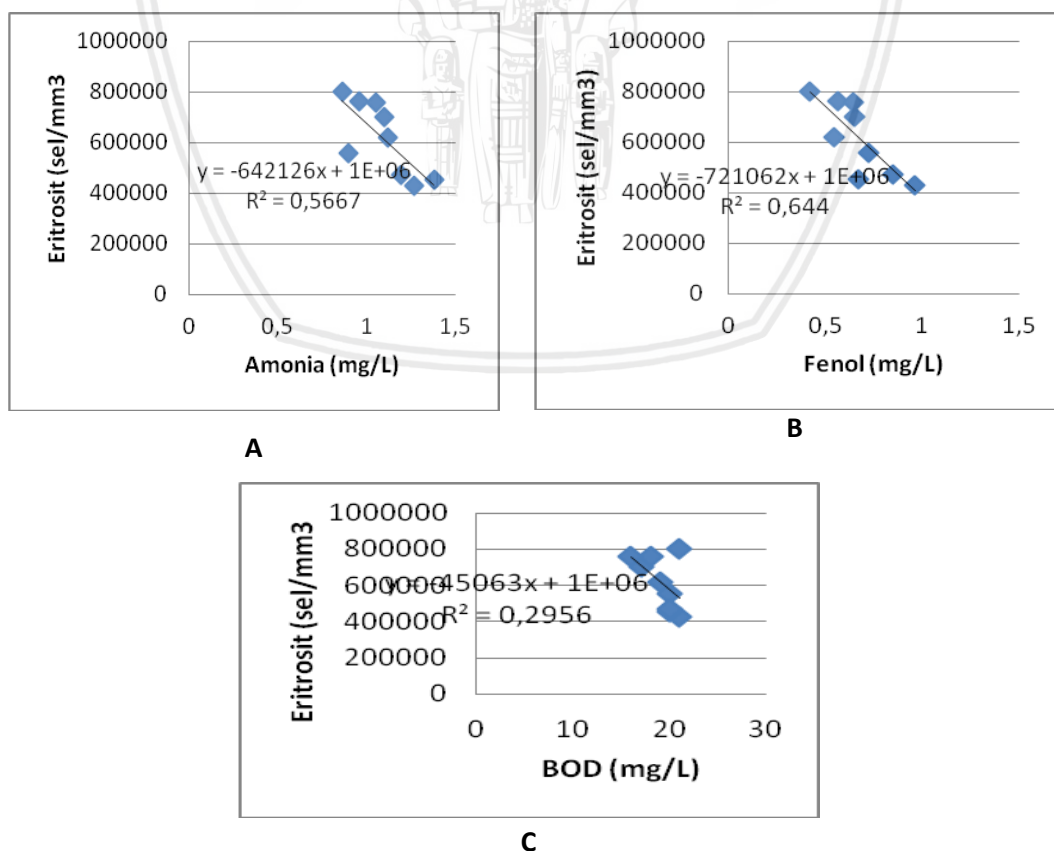
Stasiun 3				
Parameter		r	R Square	Sig
BOD (mg/L)	Eritrosit	-0,544	0,296	0,13
Amonia (mg/L)	(sel/mm³)	-0,753	0,567	0,019
Fenol (mg/L)		-0,802	0,644	0,009

Pada stasiun 3 diperoleh koefisien determinasi (R^2) parameter kualitas air BOD sebesar 0,296. Dimana jumlah eritrosit pada stasiun 3 yang dapat dijelaskan parameter kualitas air BOD 29,6% sedangkan 70,4% dijelaskan oleh parameter kualitas air lainnya. Koefisien kolerasi (r) yang diperoleh parameter kualitas air BOD dengan eritrosit pada stasiun 3 sebesar 0,544. Nilai ini menunjukan adanya kolerasi yang sedang antara ke dua variabel. Hal tersebut didukung oleh perolehan koefisien signifikan uji F sebesar 0,13 ($\text{sig} > 0.05$) yang menunjukkan tidak adanya pengaruh parameter kualitas air BOD terhadap eritrosit pada stasiun 3. Hasil analisis bisa dilihat di lampiran 8.

Pada stasiun 3 diperoleh koefisien determinasi (R^2) parameter kualitas air amonia sebesar 0,567. Dimana jumlah eritrosit pada stasiun 3 yang dapat dijelaskan parameter kualitas air amonia 56,7% sedangkan 43,3% dijelaskan oleh parameter kualitas air lainnya. Koefisien kolerasi (r) yang diperoleh parameter kualitas air amonia dengan eritrosit pada stasiun 3 sebesar 0,753.

Nilai ini menunjukan adanya kolerasi yang sedang antara ke dua variabel. Hal tersebut didukung oleh perolehan koefisien signifikan uji F sebesar 0,019 (sig< 0.05) yang menunjukkan adanya pengaruh parameter kualitas air amonia terhadap eritrosit pada stasiun 3. Hasil analisis bisa dilihat di lampiran 8.

Pada stasiun 3 diperoleh koefisien determinasi (R^2) parameter kualitas air fenol sebesar 0,644. Dimana jumlah eritrosit pada stasiun 3 yang dapat dijelaskan parameter kualitas air fenol 64,4% sedangkan 35,6% dijelaskan oleh parameter kualitas air lainnya. Koefisien kolerasi (r) yang diperoleh parameter kualitas air fenol dengan eritrosit pada stasiun 3 sebesar 0,802. Nilai ini menunjukan adanya kolerasi yang sedang antara ke dua variabel. Hal tersebut didukung oleh perolehan koefisien signifikan uji F sebesar 0,009 (sig < 0.05) yang menunjukkan adanya pengaruh parameter kualitas air fenol terhadap eritrosit pada stasiun 3. Hasil analisis bisa dilihat di lampiran 8.



Gambar 27. Hasil Regresi Kualitas Air terhadap Eritrosit di Stasiun 3



Fenol memiliki pengaruh yang kuat terhadap perubahan leukosit di Stasiun 3. Penggunaan lahan pada stasiun 3 didominasi oleh kawasan industri. Secara umum sumber pencemaran fenol di badan air berasal dari batubara, kilang minyak, industri resin, plastik, fiber, lem, besi, baja, aluminium. Di dalam perairan senyawa fenol dapat menimbulkan dampak keracunan pada ikan dan biota yang menjadi makanannya (Hudori dan Yulianto, 2011).

b. Leukosit

Hasil analisis hubungan antara kadar kualitas air (BOD, amonia, fenol) terhadap kadar leukosit pada stasiun 3 dengan menggunakan regresi linear sederhana dapat dilihat pada tabel sebagai berikut:

Tabel 15. Hubungan parameter kualitas air dengan Hematologi di Stasiun 3

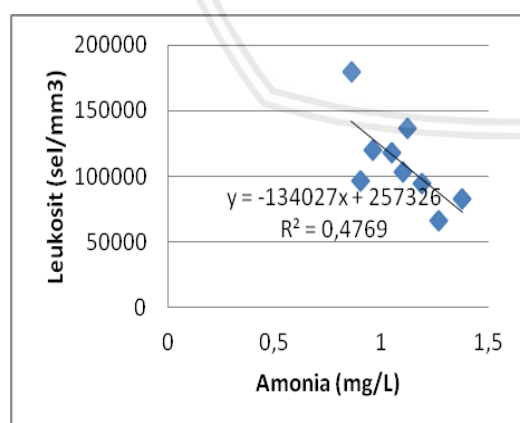
Stasiun 3				
Parameter		R	R Square	Sig
BOD (mg/L)	Leukosit	-0,051	0,003	0,896
Amonia (mg/L)	(sel/mm³)	-0,691	0,477	0,039
Fenol (mg/L)		-0,884	0,781	0,002

Pada stasiun 3 diperoleh koefisien determinasi (R^2) parameter kualitas air BOD sebesar 0,296. Dimana jumlah leukosit pada stasiun 3 yang dapat dijelaskan parameter kualitas air BOD 29,6% sedangkan 70,4% dijelaskan oleh parameter kualitas air lainnya. Koefisien kolerasi (r) yang diperoleh parameter kualitas air BOD dengan leukosit pada stasiun 3 sebesar 0,051. Nilai ini menunjukan adanya kolerasi yang kuat antara ke dua variabel. Hal tersebut didukung oleh perolehan koefisien signifikan uji F sebesar 0,896 ($\text{sig} > 0.05$) yang menunjukkan tidak ada pengaruh parameter kualitas air BOD terhadap leukosit pada stasiun 3. Hasil analisis bisa dilihat di lampiran 9.

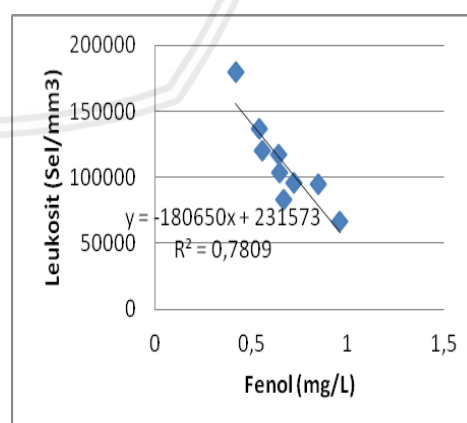
Pada stasiun 3 diperoleh koefisien determinasi (R^2) parameter kualitas air amonia sebesar 0,477. Dimana jumlah leukosit pada stasiun 3 yang dapat

dijelaskan parameter kualitas air amonia 47,7% sedangkan 52,3% dijelaskan oleh parameter kualitas air lainnya. Koefisien kolerasi (r) yang diperoleh parameter kualitas air amonia dengan leukosit pada stasiun 3 sebesar 0,691. Nilai ini menunjukan adanya kolerasi yang kuat antara ke dua variabel. Hal tersebut didukung oleh perolehan koefisien signifikan uji F sebesar 0,039 (sig < 0.05) yang menunjukkan adanya pengaruh parameter kualitas air amonia terhadap leukosit pada stasiun 3. Hasil analisis bisa dilihat di lampiran 9.

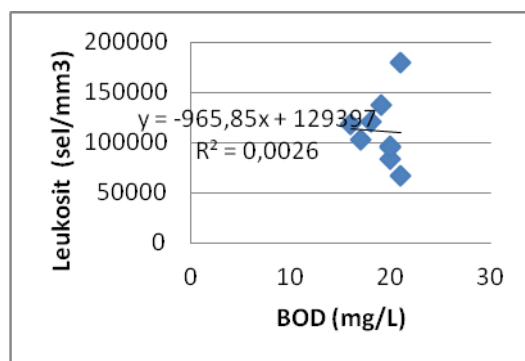
Pada stasiun 3 diperoleh koefisien determinasi (R^2) parameter kualitas air fenol sebesar 0,781. Dimana jumlah leukosit pada stasiun 3 yang dapat dijelaskan parameter kualitas air fenol 78,1% sedangkan 21,9% dijelaskan oleh parameter kualitas air lainnya. Koefisien kolerasi (r) yang diperoleh parameter kualitas air fenol dengan leukosit pada stasiun 3 sebesar 0,884. Nilai ini menunjukan adanya kolerasi yang kuat antara ke dua variabel. Hal tersebut didukung oleh perolehan koefisien signifikan uji F sebesar 0,002 (sig < 0.05) yang menunjukkan adanya pengaruh parameter kualitas air fenol terhadap leukosit pada stasiun 3. Hasil analisis bisa dilihat di lampiran 9.



A



B



C

Gambar 28. Hasil Regresi Kualitas Air terhadap Leukosit di Stasiun 3

Fenol memiliki pengaruh yang kuat terhadap perubahan leukosit di Stasiun 3. Penggunaan lahan pada stasiun 3 didominasi oleh kawasan industri. Jumlah leukosit akan meningkat ketika ikan sedang terkena infeksi karena merupakan unit yang aktif dalam sistem pertahanan tubuh, dan leukosit berperan melawan penyakit infeksi (Yanto *et al.*, 2015).

c. Mikronuklei

Hasil analisis hubungan antara kadar kualitas air (BOD, amonia, fenol) terhadap kadar mikronuklei pada stasiun 3 dengan menggunakan regresi linear sederhana dapat dilihat pada tabel sebagai berikut:

Tabel 16. Hubungan parameter kualitas air dengan Hematologi di Stasiun 3

Stasiun 3				
Parameter		R	R Square	Sig
BOD (mg/L)	MN (sel/1000)	-0,338	0,114	0,374
Amonia (mg/L)		-0,616	0,38	0,77
Fenol (mg/L)		-0,925	0,907	0

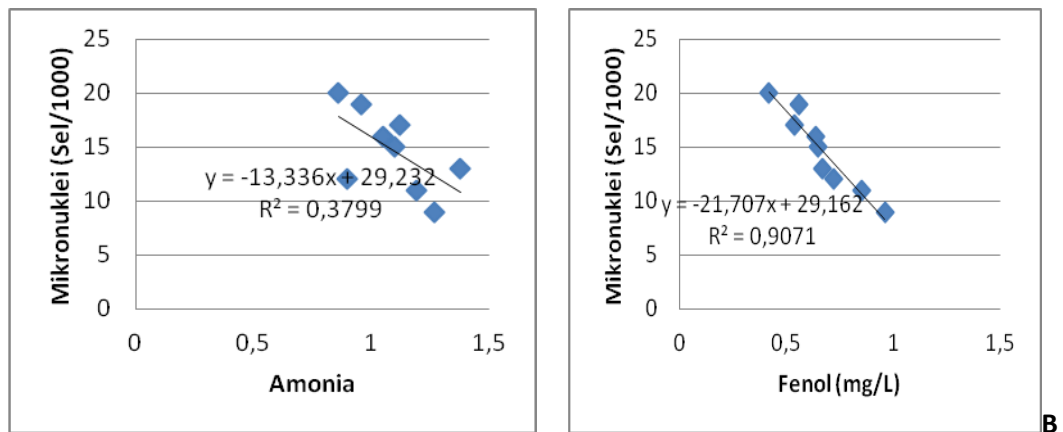
Pada stasiun 3 diperoleh koefisien determinasi (R^2) parameter kualitas air BOD sebesar 0,114. Dimana jumlah mikronuklei pada stasiun 3 yang dapat dijelaskan parameter kualitas air BOD 11,4% sedangkan 88,6% dijelaskan oleh parameter kualitas air lainnya. Koefisien kolerasi (r) yang diperoleh parameter kualitas air BOD dengan mikronuklei pada stasiun 3 sebesar 0,338. Nilai ini



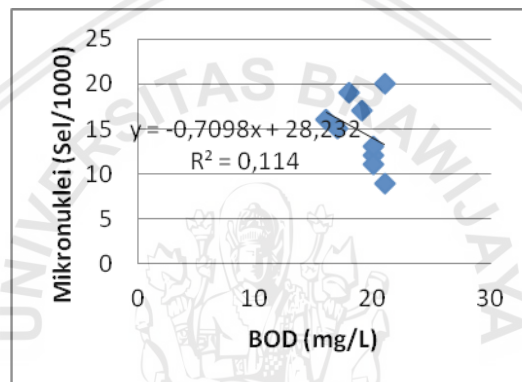
menunjukkan adanya kolerasi yang rendah antara ke dua variabel. Hal tersebut didukung oleh perolehan koefisien signifikan uji F sebesar 0,374 ($\text{sig} > 0.05$) yang menunjukkan tidak ada pengaruh parameter kualitas air BOD terhadap mikronuklei pada stasiun 3. Hasil analisis bisa dilihat di lampiran 10.

Pada stasiun 3 diperoleh koefisien determinasi (R^2) parameter kualitas air amonia sebesar 0,38. Dimana jumlah mikronuklei pada stasiun 3 yang dapat dijelaskan parameter kualitas air amonia 38% sedangkan 62% dijelaskan oleh parameter kualitas air lainnya. Koefisien kolerasi (r) yang diperoleh parameter kualitas air amonia dengan mikronuklei pada stasiun 3 sebesar 0,338. Nilai ini menunjukkan adanya kolerasi yang rendah antara ke dua variabel. Hal tersebut didukung oleh perolehan koefisien signifikan uji F sebesar 0,77 ($\text{sig} > 0.05$) yang menunjukkan tidak ada pengaruh parameter kualitas air amonia terhadap mikronuklei pada stasiun 3. Hasil analisis bisa dilihat di lampiran 10.

Pada stasiun 3 diperoleh koefisien determinasi (R^2) parameter kualitas air fenol sebesar 0,907. Dimana jumlah mikronuklei pada stasiun 3 yang dapat dijelaskan parameter kualitas air fenol 90,7% sedangkan 9,3% dijelaskan oleh parameter kualitas air lainnya. Koefisien kolerasi (r) yang diperoleh parameter kualitas air fenol dengan mikronuklei pada stasiun 3 sebesar 0,925. Nilai ini menunjukkan adanya kolerasi yang rendah antara ke dua variabel. Hal tersebut didukung oleh perolehan koefisien signifikan uji F sebesar 0 ($\text{sig} < 0.05$) yang menunjukkan ada pengaruh parameter kualitas air fenol terhadap mikronuklei pada stasiun 3. Hasil analisis bisa dilihat di lampiran 10.



A



C

Gambar 29. Hasil Regresi Kualitas Air terhadap Leukosit di Stasiun 3

Fenol memiliki pengaruh yang sangat kuat terhadap perubahan mikronuklei di Stasiun 3. Penggunaan lahan pada stasiun 3 didominasi oleh kawasan industri. Fenol juga mampu mengganggu pertumbuhan secara umumnya organisme *aquatic*. Ikan yang terpapar dengan fenol tinggi akan mengalami kerusakan insang dan sel darah. Ikan terbukti sangat sensitif dalam pembentukan mikronuklei tergantung pada tekanan lingkungan (Bolognesi dan Hayashi, 2011).

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 KESIMPULAN

- Parameter fisika yang diamati seperti suhu, parameter kimia seperti pH, DO, BOD dan logam berat seperti Hg, Pb Cd. Berdasarkan PP No. 82 tahun 2001 baku mutu kelas III yang tidak memenuhi baku mutu yaitu BOD, amonia, dan fenol. Stasiun yang tercemar secara berurutan dari yang sangat tercemar menurut pengamatan dan kurang tercemar yaitu Sungai Karang pilang (Stasiun 3), Sungai Bangsal (Stasiun 1) dan Sungai Sadar (Stasiun 2).
- Eritrosit ikan gambusia (*Gambusia affinis*) dikategorikan rendah akibat penyakit yang dialami oleh ikan. Eritrosit tertinggi di 896.000 sel/m³ dan terendah di 430.000 sel/m³. Leukosit ikan gambusia (*Gambusia affinis*) yang diamati normal dikategorikan tinggi. Tingginya leukosit diakibatkan adanya gangguan kesehatan pada ikan. 179.850 sel/mm³ dan terendah di 44.250 sel/mm³
- Jumlah mikronuklei ikan gambusia (*Gambusia affinis*) pada ketiga stasiun dikategorikan normal. Mikronuklei tertinggi di 22 sel/1000 dan terendah di 8 sel/1000.

5.2 SARAN

Berdasarkan penelitian disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut agar dapat memberikan informasi yang baru kepada pembaca mengenai uji hematologi dan mikronuklei pada ikan gambusia (*Gambusia affinis*). Penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar penelitian, menambah pengetahuan sehingga aliran Sungai Brantas yang menjadi lebih lestari.

DAFTAR PUSTAKA

- Acharya, G and P.K.Mohanty. 2019. Comparative cytomorphometry of red blood cells of some fishes. *Af.J.Bio.Sc*:1-1:23-32.
- Agah, H., Leermakers, M., Elskens, M., Fatemi, S.M.R. and Baeyens, W. 2009. Accumulation of trace metals in the muscles and liver tissues of five fish species from the Persian Gulf. *Environmental Monitoring and Assessment*, 157: 499-514
- Akkoyunlu, A and M. A. Akiner. 2012. Pollution evaluation in streams using water quality indices: A case study from Turkey's Sapanca Lake Basin. *Ecological Indicators* 18: 501-51.
- Alfian, Z. 2006. Merkuri: Antara manfaat dan efek penggunaannya bagi kesehatan manusia dan lingkungan. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Ali, F. K ., A. M. El-Shehawi and M. A. Seehy. 2008. Micronucleus test in fish genome: A sensitive monitor for aquatic pollution. *African Journal of Biotechnology*. 7 (5):606-612
- Amri, H. T. A. 2007. Pengendalian Pencemaran Dalam Upaya Konservasi Daerah Aliran Sungai (DAS) Siak. *Jurnal Sains MIPA* 13 (2): 153-162.
- Anbumani, S and M. N. Mohankumar. 2011. Nuclear and Cytoplasmic Abnormalities in the Fish Catl (Hamilton) Exposed to Chemicals and Ionizing Radiation. *Research Journal of Enviromental Science* 5(12);867-877.
- Androva, A dan I. Harjanto. 2017. Studi Peningkatan Kadar Dissolved Oksigen Air, Setelah Di Injeksi Dengan Aerator Kincir Angin Savonius Arreus, Menggunakan Do Meter Type Lutron Do-5510. *Jurnal Ilmiah Teknosains*, 3(2):115-122.
- Aqilah, A., Basirun, M. Khalizan, Sabullah, M. Yunus, A. Shukor, N. Adeela, Yasid, N. Aripin, Shamaan, S. Aqlima, Ahmad. 2017. Biochemical Biomarkers: Fish Cholinesterase Biosensor for Heavy Metals Detection in Aquatic Pollution Monitoring. *Pertanika Journal of Scholarly Research Review*. 3(3):62-64.
- Arsad, M., I. Said and Suherman. 2012. Akumulasi Logam Timbal (Pb) dalam Ikan Belanak (Liza melinoptera) yang Hidup di Perairan Muara Poboya. *J.Akad.Kim*. 1(4):187-192.
- Arslan, O.C and H. Parlak. 2017. Micronucleus Test Good Biomarker for Determination of Genetic Changes in Aquatic Organism. *Journal of Aquatic Pollution and Toxicology*. 1(3):18.
- Astuti, L. P dan Pratiwi. 2016. Evaluasi Metode Penentuan Parameter Biochemical Oxygen Demand (BOD). *LIMNOTEK*. 23(1):44-49.
- Azmi, Z., Saniman dan Ishak. 2016. Sistem penghitung pH air pada tambak ikan

- berbasis mikrokontroler. *Jurnal Saintikom*. 15 (2) : 101-108.
- Baktiar, A. H., A. P. Wijaya dan A. Sukomono. 2016. Analisis Kesuburan Dan Pencemaran Air Berdasarkan Kandungan Klorofil-A Dan Konsentrasi Total Suspended Solid Secara Multitemporal Di Muara Banjir Kanal Timur. *Jurnal Geodesi Undip*. 5 (4):263-276.
- Betancur, I. P., J. A. Baena and M. C. Guerro. 2009. *Mikronuklei Test Application to wild Tropical Ichtyic Spesies Common in Two Lentic Environments of the Low Zones In Colombia*. *Journal Actual Biol*. 31 (90): 67 – 77.
- Bijanti, R. 2005. Hematologi ikan Teknik Pengambilan Darah dan Pemeriksaan Hematologi Bagian ilmu Kedokteran Dasar Veteriner : Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Erlangga. Surabaya. Dahuri, R.I. 1995. Pengelolaan Sumberdaya Wilayah Pesisir dan Lautan Secara Terpadu. Penerbit Pradnya Paramita. Jakarta.
- Bloom, J. H. 1998. *Analisis Mutu Air Secara Kimiawi dan Fisis. Sebuah Laporan tentang Pelatihan dan Praktek pada Fakultas Perikanan*. NUFFIC UNIBRAW. Malang.
- Bolognesi., C and M. Hayashi. 2011. Micronucleus assay in aquatic animals. *Mutagenesis*. 26(1):205-213.
- Bonnin, E.P., Biddinger, E.J., and Botte, G.G. 2008. Effect of catalyst on electrolysis of ammonia effluents. *Journal of Power Sources*, 182, 284-290.
- Campbell, T.W. and C.K. Ellis, 2013, *Avian and Exotic Animal Hematology*, Blackwell Publishing, Iowa.
- D. A Shabrina, S. Hastuti dan Subandiyono 2018. Pengaruh Probiotik dalam Pakan Terhadap Performa Darah, Kelulushidupan, dan Pertumbuhan Ikan Tawes (*Puntius javanicus*). *Jurnal Sains Akukultur Tropis*. 2(2):26-35.
- Dahlan, E, N, Rebecca, P, Rusdiana, O. 2014. Pemanfaatan sumber daya air di sub DAS lubuk paraku sumatera barat. *Media Konservasi*. 19(1):30-40.
- Damianto, B. B dan Masduqi, A. A. 2014. Indeks Pencemaran Air Laut di Pantai Utara Kabupaten Tuban dengan Parameter Logam. *Jurnal ITS*. 3: 1-4.
- Dewa, R. P. 2016. Penanganan Baku Mutu Kualitas Air Limbah Produksi Atc dari Rumpun Laut *Eucheuma cottonii*. *Ejournal Kememperin*. 12(2): 34-40.
- Dewa. C., L. Dewi, Susanawati dan B. R. Widiatmono. 2016. Daya Tampung Sungai Gede Akibat Pencemaran Limbah Cair Industri Tepung Singkong di Kecamatan Ngadiluwih Kabupaten Kediri. *Jurnal Sumberdaya Alam dan Lingkungan*: 35-41.
- Dewi, N. K., R. Prabowo dan N. K. Trimartuti. 2014. Analisis Kualitas Fisiko Kimia dan Kadar Logam Berat pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.) dan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus* L.) di Perairan Kaligarang Semarang. *Biosaintifika*. 6 (2):1-8.
- E. Lestari., T. R Setyawati dan A. H. Yanti. 2017. Profil Hematologi Ikan Gabus

- (*Channa striata* Bloch, 1793). *Jurnal Protobiont*. 6 (3) : 283 – 289.
- Edward. 2017. Kajian awal kadar merkuri (Hg) dalam ikan dan kerang di Teluk Kao, Pulau Halmahera. *Depik*. 6(3):188-198.
- Effendi, H. 2003. Telaah Kualitas Air Bagi Pengelolaan Sumberdaya dan Lingkungan Perairan. Penerbit Kanasius. Yogyakarta.
- Elyazar, N. 2007. Dampak Aktivitas Masyarakat terhadap Tingkat Pencemaran Air Laut Di Pantai Kuta Kabupaten Badung Serta Upaya Pelestarian Lingkungan. *Ecotrophic*. 2(1):1-18.
- Farley, D. G., and L. C. Younce. 1977. Some effects of *Gambusia affinis* (Baird and Girard) on selected non-target organisms in Fresno County rice fields. *Papers of the Annual Conference of the California Mosquito Vector Control Association* 45:87-94.
- Fauzan, Muhammad., Rosmaidar, Sugito, Zuhrawati, Muttaqien, dan azhar. 2017. Pengaruh Tingkat Paparan Timbal (Pb) Terhadap Profil Darah Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *JIMVET*. 1(4):702 – 708.
- Fazio, F., C. Faggio, S. Marafioti, A. Torea, M. Sanfilippo and G. Piccione. 2013. Effect of water quality on hematological and biochemical parameters of *Gobius niger* caught in Faro lake (Sicily). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 12(1): 219- 231.
- Fenech, M., Kirsch-Volders, M., Natarajan, A.T., Surralles, J., Crott, J.W., Parry, J., Norppa, H., Eastmond, D.A., Tucker, J.D., Thomas, P. 2011. Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. *Mutagenesis*. 26(1): 125-132.
- Fujaya, Y. 2004. Fisiologi Ikan : Dasar Pengembangan Teknologi Perikanan. Jakarta : Rineka Cipta. 179 hlm.
- Gaber, H. S., M. A. El-Kasheif, S. A. Ibrahim dan M. M. N. Autham. 2013. Effect of Water Pollution in El-Rahawy Drainage Canal on Hematology and Organs of Freshwater Fish *Clarias gariepinus*. *World Applied Sciences*. 21 (3): 329-341.
- Gholizadeh, M.H., Melesse, A.M., and Reddi, L. 2016. A comprehensive review on water quality parameters estimation using remote sensing techniques. *Sensors*. 16(8), 1298.
- Gordeev, I, I, D. V. ,Mikryakov, L. V. Balabanova and V.R. Mikryakov. 2017. Composition of Leucocytes in peripheral blood of Patagonian toothfish (*Dissostichus eleginoides*, Smitt, 1898) (*Nototherniidae*). *Polar Research*. 36:1-3.
- Gumilang. G. S. 2016. Metode Penelitian Kualitatif dalam Bidang Bimbingan dan Konseling. *Jurnal Fokus Konseling*. 2 (2): 144-159.
- Guner U dan F. D. G. Muranh. 2011. *Micronucleus Test, Nuclear Abnormal and Accumulation of Cu and Cd on Gambusia affinis* (Baird & Girard, 1853). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 11 : 615-

622.

- Gunner, U. 2009. Determination Of Lambda Cyhalotrin (Tekvando 5EC) 96 Hour Lethal Concentration 50 AT *Gambusia affinis* (Baird & Girard, 1853). *Journal of fisheries sciences*. 3(3): 214-219.
- Habiyakare, T., Z. Nlanqing and S. Xinping. 2015. Assessment of contribution of major rivers inflow into the Dongting Lake, China. *International Journal of Water Resources and Environmental Engineering*. 7(8):109-114.
- Hamuna, B., R. H. R. Tanjung, Suwito, H. K. Maury dan Alianto. 2018. Kajian Kualitas Air Laut dan Indeks Pencemaran Berdasarkan Parameter Fisika-Kimia Di Perairan Distrik Depapre, Jayapura. *Jurnal Ilmu Lingkungan*. 16: 35-43.
- Happy, A., Masyamsir dan Dhahiyat. Y. 2012. Distribusi Kandungan Logam Berat Pb dan Cd pada Kolom Air dan Sedimen Daerah Aliran Sungai Citarum Hulu. *J. Perikanan dan Kelautan*. 3:175-182.
- Hastuti, S dan Subandiyono. 2011. Performa Hematologis Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) dan Kualitas Air Media Pada Sistem Budidaya dengan Penerapan Kolam Biofiltrasi. *Jurnal Saintek Perikanan*. 6(1): 1-5.
- Hibban, M., A. Rezagama dan Purwono. 2016. Studi Penurunan Konsentrasi Amonia Dalam Limbah Cair Domestik dengan Teknologi Biofilter Aerobmedia Tubular Plastik pada Awal Pengolahan. *Jurnal Teknik Lingkungan*. 5(2):1-9.
- Hidayat, R., E. Harpeni dan Wardiyanto, 2014, Profil Hematologi Kakap Putih (*Lates calcallifter*) yang distimulasi dengan Jintan Hitam (*Nigela sativa*) dan Efektivitasnya terhadap Infeksi *Vibrio* dengan *Alginyolyticus*, *Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*. 3(1) : 327-334.
- Hudori dan Yulianto. A. 2011. Penurunan Fenol Melalui Proses. *Jurnal Sains dan Teknologi Lingkungan*. 3(1): 66-72.
- Idzni, S. A., Junardi dan D. W. Rousdy. 2018. Kadar Hematokrit dan Hemoglobin Ikan Sapu-sapu (*Pterygoplichthys pardalis*) Terpapar Logam Berat Merkuri Klorida. *Protobiont* .7 (3) : 68 –71.
- Indirawati, S. M. 2017. Pencemaran Logam Berat Pb dan Cd Dan Keluhan Kesehatan Pada Masyarakat di Kawasan Pesisir Belawan. *Jurnal JUMATIK*. 2(2): 54-60.
- Indirawati, S. M. 2017. Pencemaran Logam Berat Pb Dan Cd dan Keluhan Kesehatan pada Masyarakat di Kawasan Pesisir Belawan. *Jurnal JUMANTIK*. 2(2): 54-59.
- Insivitawati, Era., G. Mahasri, dan Kusnoto. 2015. an Darah dan Histopatologi Insang, Usus dan Otak Ikan Koi (*Cyprinus Carpio Koi*) yang Diinfeksi Spora *Myxobolus Koi* Secara Oral. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 7(2): 225 – 234.
- Jayaprakash, C. and N. Shettu. 2013. Changes in the hematology of the freshwater fish, *Channa punctatus* (Bloch) exposed to the toxicity of

- deltamethrin. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. **5(6)**:178-183.
- Jiyah., B. Sudarsini dan A. Sukmono. 2017. Studi Distribusi Total Suspended Solid (Tss) Di Perairan Pantai Kabupaten Demak Menggunakan Citra Landsat. *Jurnal Geodesi Undip*. **6(1)**:41-47.
- Jois, H. S., A. D. Kale and K.K.P. Mohan. 2010. Micronucleus as Potential Biomarker of Oral Carcinogenesis. *Indian Journal Of Dental Advancements*. **2(2)**: 197-201.
- Jois. H., A. D. Kale and M. Kumar. 2010. Micronucleus as Potential Biomarker of Oral Carcinogenesis. *Indian Journal Of Dental Advancements*. **2(2)**: 197-202.
- Kordi, M. G dan Tancung A. B., 2005. Pengelolaan Kualitas air. Penerbit Rineka Cipta. Jakarta. 208 hal.
- Langerhans. R. B., M. E. Gifford, O. Domínguez-Domínguez, D. García-Bedoya and T. J. DeWitt. 2012. *Gambusia quadruncus* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae): a new species of mosquitofish from east-central Mexico. *Journal of Fish Biology*. **81**. 1514–1539.
- Lestari. E., T. R. Setyawati dan A. H. Yanti. 2017. Profil Hematologi Ikan Gabus (*Channa striata* Bloch, 1793). *Protobiont*. **6 (3)** : 283 – 289.
- Lusiana, N., B. Rahadi dan F. Anugroho. 2017. Identifikasi Kesesuaian Penggunaan Lahan Pertanian dan Tingkat Pencemaran Air Sungai di Das Brantas Hulu Kota Batu. *Jurnal Teknologi Pertanian*. **18(2)**: 129-142.
- M. G Kordi , Tancung .2007.Pengelolaan Kualitas Air Dalam Budidaya Perairan. Penerbit Rineka Cipta. Jakarta. 208 Hal.
- M. H. F. Sitio., D. Jubaedah, M. Syaifudin. 2017. Kelangsungan Hidup dan Pertumbuhan Benih Ikan Lele (*Clarias* sp.) pada Salinitas Media yang Berbeda. *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*, **5(1)** : 83-96
- Maftuch., H. Nursyam dan Sukarni. 2012. Kajian Penggunaan *Ciprofloxacin* terhadap Hematologi Ikan *Botia* (*Botia macracanthus*, Bleeker) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *J.Exp. Life Sci*. **2(2)**:65-69.
- Mahasri, G., P. Widyastuti dan L. Sulmartiwi. 2011. an Leukosit Darah Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) yang Terinfestasi *Ichthyophthirius multifiliis* pada Derajat Infestasi yang Berbeda dengan Metode Kohabitasi. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan* **3(1)**. 91-99.
- Mahasri, G., P. Widyastuti dan L. Sulmartiwi. 2011. an Leukosit Darah Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) yang Terinfestasi *Ichthyophthirius multifiliis* pada Derajat Infestasi yang Berbeda dengan Metode Kohabitas. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. **3(1)**: 91-96.
- Maheswaran, R., A. Davepaul, S. Muralidharan, B. Velmurugan and S. Ignacimuthu. 2008. Haematological studies of freshwater fish, *Clarias batrachus* (L.) exposed to mercuric chloride. *Internatioal Journal of Integrative Biology*. **2(1)**: 49-54

- Mainassy, M. C. 2017. Pengaruh Parameter Fisika dan Kimia terhadap Kehadiran Ikan Lompa (*Thryssa baelama* Forsskal) di Perairan Pantai Apui Kabupaten Maluku Tengah. *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada*. 19 (2): 61-66.
- Martins, M.L.a , Mouriño, J.L.P. Amaral, GV, Vieira, FN , Dotta, G, Jatobá, A.M.B., Pedrotti, F.S., Jerônimo, G.T. , Buglione-Neto, C.C. and Pereira-Jr., G. 2008. Haematological changes in Nile tilapia experimentally infected with *Enterococcus* sp. *Braz. J. Biol.*, **68**(3): 657-66.
- Matofani. A.S, S. Hastuti dan F. Basuki. 2013. Profil Darah Ikan Nila Kunti (*Oreochromis niloticus*) Yang Diinjeksi *Streptococcus agalactiae* dengan Kepadatan Berbeda. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 2(2):64-72.
- Matofani. A.S, S. Hastuti dan F. Basuki. 2013. Profil Darah Ikan Nila Kunti (*Oreochromis niloticus*) Yang Diinjeksi *Streptococcus agalactiae* dengan Kepadatan Berbeda. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 2(2):64-72.
- Matofani., A. S, S. Hastuti dan F. Basuki. 2013. Profil Darah Ikan *Oreochromis niloticus* yang diinjeksi *Streptococcus agalactiae* dengan Kepadatan yang Berbeda. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 2(2): 64-72
- Mirdar, Y., S. Patadungan dan Isrun. 2013. Status Logam Berat Merkuri (Hg) dalam Tanah pada Kawasan Pengelolaan Tambang Emas di Keluran Pobota Kota Bali. *E-J Agrobisnis*. 1(2):127-134.
- Misna. A. 2015. Formulasi Kebijakan Alokasi Dana Desa di Desa Kandolo Kecamatan Teluk Pandan Kabupaten Kutai Timur. *eJournal Administrasi Negara*. 3 (2): 521-533.
- Monsefrad F, Imanpour N. J, Heidary. 2012. Concentration of heavy and toxic metals, Cu, Zn, Cd, Pb and Hg in liver and muscles of *Rutilus frisii kutum* during spawning season with respect to growth parameters. *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 11(4): 825-839.
- Muhammad, F. M., S. Hastuti dan Sarjito. 2016. Pngaruh sistem biofilter akuaponik terhadap profil darah, histologi organ hati dan kelulushidupan pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepenus*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 5(1) : 64-72.
- Myers, G. S. 1967. *Gambusia*, the fish destroyer. *Australian Zoology* 13(2):102.
- Norjanna, F., E. Efendi dan Q. Hasani. 2015. Reduksi Amonia pada Sistem Resirkulasi Dengan Penggunaan Filter yang Berbeda. *e-Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*. 4(1):427-432.
- Nursatia, Sarjito, dan A. H. C. Haditomo. 2017. Pemberian Ekstrak Bawang Putih Dalam Pakan Sebagai Imunostimulan Terhadap Kelulushidupan Dan Profil Darah Ikan Patin (*Pangasius* sp.). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 6(3): 234 – 241.
- Oktaviani, E. P., Haeruddin dan N. Widyarini. 2016. Pengaruh Konsentrasi Fenol

- Yang Berbeda Terhadap Sintasan Benih Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.). *Diponegoro Journal Of Maquares*. 5(1): 62-68.
- Oktaviani, E. P., Haeruddin dan N. Widyarini. 2016. Pengaruh Konsentrasi Fenol Yang Berbeda Terhadap Sintasan Benih Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.). *Diponegoro Journal Of Maquares*. 5(1): 62-68.
- Onyia, L.U ., Michael K.G. dan Ekoto B. 2013. Haematological Profile, Blood Group and Genotype of *Heterobranchus bidorsalis*, *Net Journal of Agricultural Science*. 1(2): 69-72.
- Parente., T. E. M dan R. A. Hauser-Davis. 2013. The Use of Fish Biomarkers in the Evaluation of Water Pollution. In: *Pollution and Fish Health in Tropical Ecosystems*. *Research gate*. 7:164-176.
- Parrino, V., T. Cappello, G. Costa, C. Cannavà, M. Sanfilippo, F. Fazio and S. Fasulo. 2018. Comparative study of haematology of two teleost fish (*Mugil cephalus* and *Carassius auratus*) from different environments and feeding habits. *The European Zoological Journal*. **85**(1): 193-199.
- Patty. S. i. 2013. Distribusi Suhu, Salinitas dan Oksigen Terlarut di Perairan Kema, Sulawesi Utara. *Jurnal Ilmiah Platax*. 1(3):148-157.
- Pfuhler, S., Elespuru, R., Aardema, M.J., Doak, S.H., Donner, E.M., Honma, M., KirschVolders, M., Landsiedel, R., Manjanatha, M., Singer, T., Kim, J.H. 2013. Genotoxicity of nanomaterials: refining strategies and tests for hazard identification. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 54(4):229-239.
- Prastyo, Y., D. T. F. Lumban batu dan Sulistiono. 2017. Kandungan Logam Berat Cu dan Cd pada Ikan Belanak di Estuari Sungai Donan, Cilacap, Jawa Tengah. *JPHPI*. 20(1): 18-26.
- Priatna DE, Purnomo T, Kuswanti N. 2016. Kadar logam berat timbal (Pb) pada air dan ikan bader (*Barbapnymus gonionotus*) di sungai Brantas wilayah Mojokerto. *Lentera Bio* 5(1): 48-53.
- Pujiastuti .P, Ismail B, Pranoto. 2013. Kualitas dan Beban Pencemaran Perairan Waduk Gajah Mungkur. *Jurnal manajemen sumberdaya perairan*. 1(1): 12-23.
- Purnawan, S., R. Sikanna dan Prismawiryanti. 2013. Distribusi Logam dan Merkuri pada Sedimen Laut di Sekitar Muara Sungai Poboya. *Online Journal Of Natura Science*. 2(1):18-24.
- Purwanti, S. C dan A. Sudaryono. 2014. an Profil Darah Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) yang diberi Pakan dengan Kombinasi Pakan Buatan Dan Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 3(2):53-60.
- Purwanti, S.C., Suminto dan A. Sudaryono. 2014. an Profil Darah Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Yang Diberi Pakan dengan Kombinasi Pakan Buatan dan Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **3**(2) : 53-60.

- Putri, R. R., F. Basuki, dan S. Hastuti. 2013. Profil Darah dan Kelulushidupan Ikan Nila Pandu F5 (*Oreochromis niloticus*) yang Diinfeksi Bakteri *Streptococcus agalactiae*, dengan Kepadatan Berbeda. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 2(2): 47 – 56.
- R. Erika, Kurniawan dan Umroh. 2018. Keanekaragaman Ikan di Perairan Sungai Linggang, Kabupaten Belitung Timur. *Akuatika Jurnal Sumberdaya Perairan*: 17-24.
- R. Maniagasi, S. S. Tumembouw dan Y. Mundeng. 2013. nalisis kualitas fisika kimia air di areal budidaya ikan Danau Tondano Provinsi Sulawesi Utara. *Budidaya Perairan*. 1(2):29-37.
- R.Norousta and H.MousaviSabet. 2013. Comparative characterization of blood cells and hematological parameters between the mature and immature *Caspian Vimba*, *Vimba vimba persa* (Teleostei, Cyprinidae). *AAFL Bioflux*. 6(3):232-240.
- Rachmawati. I. M. 2007. Pengumpulan Data dalam Penelitian Kualitatif: Wawancara. *Jurnal Keperawatan Indonesia*. 11 (1): 35-40.
- Rahma, F. W., G. Mahsri and . Surmartiwi. 2015. Pengaruh Pemberian Ekstrak *Sargassum* sp. dengan Pelarut Metanol pada Pakan terhadap Jumlah Eritrosit dan Differensial Leukosit Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 7(2): 213-217.
- Rahman. A. L., E. S. Astuti, M. Saifi. 2016. Analisis Pelaksanaan Pemeriksaan Pajak dalam Pencapaian Target Penerimaan Pajak (Studi Kasus pada Kantor Pelayanan Pajak Pratama Blitar). *Jurnal Perpajakan (JEJAK)*. 9 (1): 1-5.
- Riski Hartika¹⁾, Mustahal¹⁾ , Achmad Noerkhaerin Putra. 2014. an Darah Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dengan Penambahan Dosis Prebiotik yang Berbeda dalam Pakan. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 4(4): 259-267.
- Risuana, I. G. S., I. G. Hendrawan dan Y. Suteja. 2017. Distribusi Spasial Total Padatan Tersuspensi Puncak Musim Hujan Di Permukaan Perairan Teluk Benoa, Bali. *Journal of Marine and Aquatic Sciences* .3(2): 223-232.
- Robert, R.J., 2012, *Fish Pathology*, Wiley-Blackwell, Iowa
- Rohmadona, B., B. Yulianto dan Sudarno. 2016. Fluktuasi Kandungan Amonia Dan Beban Cemaran Lingkungan Tambak Udang Vaname Intensif Dengan Teknik Panen Parsial Dan Panen Total. *Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology (IJFST)*.11(2):84-96.
- Royan, F., S. Rejeki dan A. H. C. Haditomo. 2014. Pengaruh salinitas yang berbeda terhadap profil darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 3(2): 109-117.
- Royan, F., S.Rejeki dan A.H. C. Haditomo. 2014. Pengaruh Salinitas yang Berbeda terhadap Profil Darah Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 3(2):109-117.



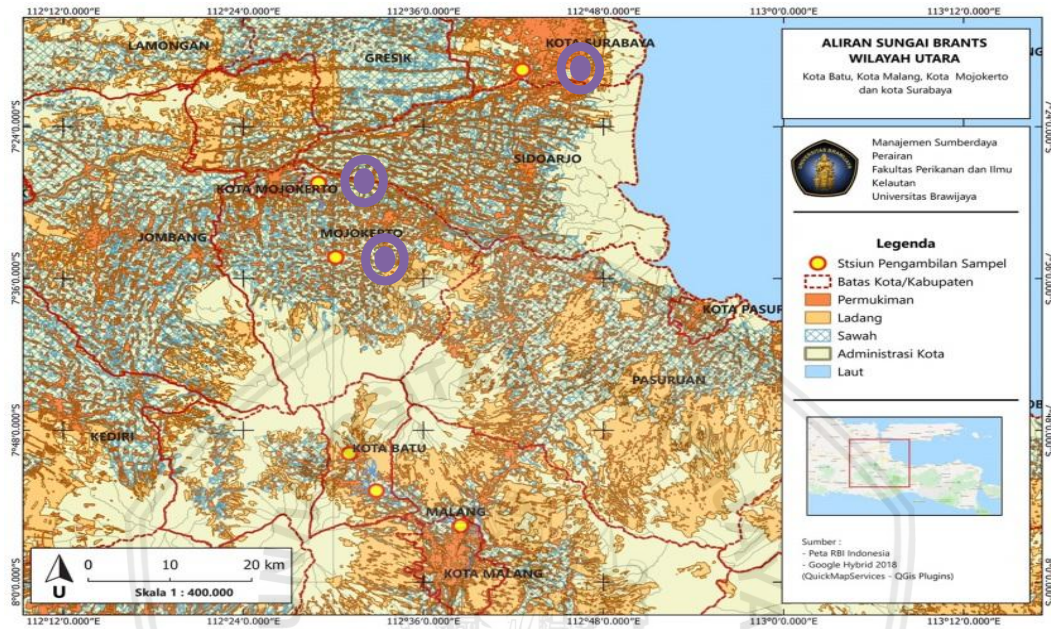
- Said, I. S., D. A. Lubis dan Suherman. 2014. Akumulasi Timbal (Pb) dan Tembaga (Cu) pada Ikan Kuniran (*Upeneus sulphuerus*) di Perairan Estuari Teuk Palu. *J. Akad. Kim.* 3(2): 66-72.
- Salmin. 2005. Oksigen Terlarut (DO) dan Kebutuhan Oksigen Biologi (BOD) Sebagai Salah Satu Indikator untuk Menentukan Kualitas Perairan. *Oseana.* 15(3):21-26.
- Sari, A. H. W., Y. Risjani, dan A.P. Marhendra. 2014. Efek Konsentrasi Sublethal Fenol terhadap Total Haemocyte Count (THC) dan Histologi Insang Kepiting Bakau (*Scylla serata*). *J. Exp. Life Sci.* 2 (2): 82-88.
- Sari, C. N., N. A. Zuhrawati dan N. Asmilia. 2017. Profil Hematologi Ikan Mujair (*Oreochromis mossambicus*) yang Terpapar Merkuri Klorida ($HgCl_2$). *JIMVET.* 01(3): 439-447
- Sari, Y., D. H. Tjong dan R. Rahayu. 2016. an Darah Katak *Fejervarya limnocharis* di Lahan Pertanian yang Menggunakan Pestisida di Sumatera Barat. *Jurnal Ilmiah Biologi Biogenesis.* 4(2):115-121.
- Schutt. D. A., J. Lehmann, R. Goelich and R. Hamers. 1997. Haematology of swordtail, *Xiphophorus hellevi*. I: blood parameters and light microscopy of blood cells. *J. Appl. Ichthyol.* 13: 83-89.
- Setiawan, H. 2013. Akumlasi dan Distribusi Logam Berat pada Vegetasi Mangrove di Pesisir Sulawesi Selatan. *J. Ilmu Kelautan.*7:12-24.
- Shefitiana, U. S., A. Sarminingsih dan W. D. Nugraha. 2017. Penentuan Status Mutu Air Sungai Berdasarkan Metode Indeks Pencemaran Sebagai Pengendalian Kualitas Lingkungan (Studi Kasus : Sungai Gelis, Kabupaten Kudus, Jawa Tengah). *Jurnal Teknik Lingkungan.* 6(11): 1-9.
- Siagian, M., & Simarmata, A. H. 2015. Profil Vertikal Oksigen Terlarut di Danau Oxbow Pinang Dalam, Desa Buluh Cina-Siak Hulu, Kabupaten Kampar, Provinsi Riau. *Jurnal Akuatika.* 6(1).
- Sitorus, H. (2011). Analisis beberapa parameter lingkungan perairan yang mempengaruhi akumulasi logam berat timbal dalam tubuh kerang darah di perairan pesisir timur sumatra utara, *Jurnal Ilmu-Ilmu Perairan dan Perikanan* 19(1), 374 – 384.
- Slamet, R. Arbianti, dan Daryanto. (2005). Pengolahan Limbah Organik (Fenol) dan Logam Berat (Cr^{6+} Atau Pt^{4+}) Secara Simultan dengan Fotokatalis TiO_2 , $ZnO-TiO_2$, dan $CdS-TiO_2$. *J. Teknologi.* 9(2): 66-71.
- Sowandita, H dan N. Sudiana. 2010. Studi Dinamika Kualitas Air Das Ciliwung. *JAL.* 6(1): 24-33.
- Sugiyono. 2009. "Metode Penelitian Bisnis", Bandung: CV. Alfabeta.
- Sugiyono. 2009. Metode Penelitian Kuantitatif Kualitatif dan R&D. Alfabeta. Bandung. 137 hlm.
- Sukenda, L. Jamal., D. Wahyuningrum dan A. Hasan. 2008. Penggunaan Kitosan

- Untuk Pencegahan Infeksi (*Aeromonas hydrophila*) pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias sp.*). *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 7 (2): 159-169.
- Suparjo, M.N. 2009. Kondisi Pencemaran Perairan Sungai Babon Semarang. *Jurnal Saintek Perikanan.*, 4(2) : 38 – 45.
- Susandi, F., Mulyana dan Rosmawati. 2017. Peningkatan Imunitas Benih Ikan Gurame (*Osphronemus gouramy* Lac.) terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila* Menggunakan Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Jurnal Mina Sains*. 3(2)1-12.
- Susanthi, D., M. Y. J. Purwanto dan Suprihatin. 2018. Evaluasi Pengolahan Air Limbah Domestik dengan di Kota Bogor. *Jurnal Teknologi Lingkungan*. 19(2): 229-237.
- Tokah. C., S. L. Undap dan S. N. J. Longdong. 2017. Kajian Kualitas Air pada Area Budidaya Kurungan Jaring Tancap (KJT) di Danau Tutud Desa Tombatu Tiga Kecamatan Tombatu Kabupaten Minahasa Tenggara. *Budidaya Perairan*. 5(1) : 1-11.
- Vidya, P. V dan K. C. Chitra. 2018. Evaluation Of Genetic Damage In *Oreochromis mossambicus* Exposed Toselected Nanoparticles By Using Micronucleus And Comet Bioassays. *Croatian Journal of Fisheries*. 76(1): 140-158.
- Widowati, W. Astiana, S & Raymond, J. 2008. *Efek Toksikologi Logam: Pencegahan dan Penanggulangan Pencemaran*. PT Andi Offset. Yogyakarta.
- Yanto, H., H. Hasan, dan Sunarto. 2015. Studi hematologi untuk diagnosa penyakit ikan secara dini di sentra produksi budidaya ikan air tawar sungai kapuas Kota Pontianak. *Jurnal akuatika*. 6(1): 11- 20.
- Yoga. G. p., D. Lumbanbatu, E. Riani dan Y. Wardiatno. 2014. Pengaruh Pencemaran Merkuri Di Sungai Cikaniki Terhadap Biota Trichoptera (Insekta). *LIMNOTEK*. 21(1):1-9.
- Yulaipi, S dan Aunurohim. 2013. Bioakumulasi Logam Berat Timbal (Pb) dan Hubungannya dengan Laju Pertumbuhan Ikan Mujair (*Oreochromis mossambicus*). *Jurnal Sains Dan Seni Pomits*. 2(2): 166-170.
- Yuni, K.P., H. Hasan dan E. Prasetio. 2019. Studi Hematologi Ikan Semah (*Tor douronensis*), Jelawat (*Leptobarbus hoeveni*), Tengadak (*Barbonymus schwanenfeldi*), Biawan (*Helostoma temmincki*), dan Botia (*Chromobotia macracanthus*). *Jurnal Ruaya*. 7(1) : 1-5.
- Zulkarnain, L. A., S. Hatuti dan Sarjito. 2017. Pengaruh penambahan vitamin c pada pakan sebagai imunostimulan terhadap performa darah, kelulushidupan, dan pertumbuhan ikan tawes (*Puntius javanicus*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 6(3):159-168.

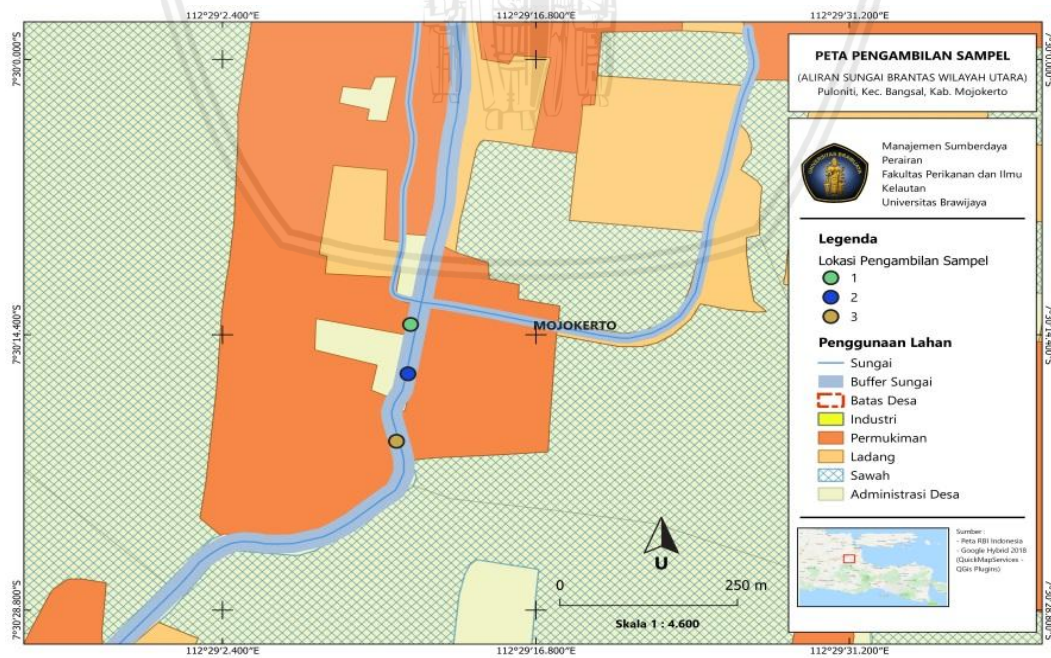
LAMPIRAN

Lampiran 1. Peta Lokasi Penelitian

a. Peta Sungai Brantas Wilayah Surabaya dan Mojokerto



b. Peta Lokasi Stasiun 1



Lanjutan Lampiran 1

c.Peta Lokasi Stasiun 2



Lampiran 2. Alat dan Bahan Beserta Fungsinya

• Alat dan Fungsi

NO	Alat	Fungsi
1.	Pipet tetes	Untuk memindahkan larutan dalam skala kecil
2.	Mikroskop binokuler	Untuk mengamati darah pada ikan
3.	Spuit 1 cc	Untuk mengambil darah pada ikan
4.	Appendorf	Untuk wadah darah ikan
5.	Burret	Untuk mengukur volume suatu larutan, digunakan titrasi
6.	pH Meter	Untuk mengukur pH pada perairan
7.	Washing Bottle	Untuk wadah aquades
8.	GPS	Untuk mengetahui letak geografis
9.	Spektrofotometer	Untuk menghitung panjang gelombang
10.	Haemocytometer	Untuk menghitung darah ikan
11.	Erlenmeyer	Untuk tempat pencampuran larutan
12.	Gelas Ukur	Untuk mengukur air sampel maupun larutan
13.	DO Meter	Untuk mengukur DO dan suhu di perairan
14.	Nampan	Untuk alas membedah ikan
15.	Spatula	Untuk pengaduk larutan
16.	Botol Inkubasi	Untuk tempat sampel air BOD
17.	Inkubator	Untuk tempat inkubasi sampel BOD
18.	Oven	Untuk mengeringkan kertas saring
19.	Desikator	Untuk mendinginkan kertas saring
20.	Timbangan analitik	Untuk mengukur berat objek
21.	Objek glass	Untuk pengamatan darah dan mikronuklei ikan
22.	Handtally counter	Untuk menghitung jumlah sel darah yang ditemukan
23.	Cover glass	Untuk menutup bagian objek glass
24.	Pipet Thoma eritrosit	Untuk mengencerkan darah dalam pengamatan eritrosit
25.	Pipet Thoma leukosit	Untuk mengencerkan darah dalam pengamatan leukosit
26.	Botol sampel	Untuk tempat sampel air

• Bahan dan Fungsi

NO	Bahan	Fungsi
1.	Air Sampel	Sebagai bahan yang akan diuji
2.	Aquades	Sebagai larutan kalibrasi
3.	Methanol	Sebagai larutan pemfiksasi
4.	HNO ₃	Sebagai bahan kimia pengawet air
5.	Na-sitrat 3,8%	Sebagai larutan antikoagulan
6.	Giemsa	Sebagai larutan pewarnaan darah pada Ikan
7.	Darah Ikan Gambusia (<i>Gambusia affinis</i>)	Sebagai objek akan dihitung total darah dan mikronukleinya
8.	Tissue	Sebagai pembersih alat
9.	Larutan hayem	Sebagai larutan pewarna pada pengamatan eritrosit
10.	Larutan turk	Sebagai larutan pewarna pada leukosit
11.	Aluminium foil	Sebagai pembungkus botol inkubasi
12.	Kertas Label	Sebagai pemberi tanda saat pengamatan

Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian



Lingkungan Pertanian di Stasiun 1



Lingkungan Pertanian di Stasiun 2



Lingkungan Industri di Stasiun 3



Pengambilan air sampel



Pengukuran DO menggunakan DO meter



Pengukuran pH menggunakan pH meter



Pengambilan ikan gambusia (*Gambusia affinis*) di lapang

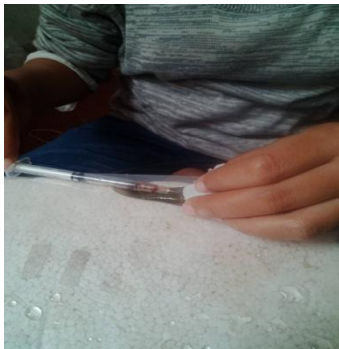


Pengambilan darah ikan gambusia (*Gambusia affinis*)



Ikan gambusia (*Gambusia affinis*) yang akan diamati darahnya

Lanjutan Lampiran 3



Pengambilan darah ikan gambusia (*Gambusia affinis*)



Pengamatan parameter hematologi di mikroskop



Bentuk Sampel darah yang akan diamati parameter hematologi



Menyiapkan alat dan bahan untuk parameter hematologi



Perhitungan sel darah untuk dengan bantuan *handtly counter*



Konsultasi bersama Dosen Pendamping



Mengambil sampel darah menggunakan pipet hemato



Sampel ditetaskan di *Haemocytometer*



Pengamatan dibawah mikroskop

Lanjutan Lampiran 3



**Pembuatan apusan
Mikronuklei**



Proses pengeringan



**Pengamatan dan
perhitungan
menggunakan *handtly*
*counter***



