

PENGGUNAAN IMUNITAS KERANG HIJAU (*Perna viridis*) SEBAGAI BIOMARKER UNTUK MENDETEKSI PENGARUH PENGASAMAN LAUT TERHADAP TOKSISITAS LOGAM Pb

Arnold Kabangnga¹ dan Khusnul Yaqin²

¹ Sekolah Tinggi Teknologi Kelautan Balik Diwa Makassar

² Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin Makassar

Email : arnold@stitek-balikdiwa.ac.id

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan menganalisis pengaruh pengasaman laut terhadap toksisitas logam Pb dengan menggunakan biomarker imunitas kerang hijau (*Perna viridis*). Penelitian dilaksanakan pada bulan April hingga Mei 2017 di Laboratorium Penangkaran dan Rehabilitasi Ekosistem Laut Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan faktorial. Kerang hijau dengan ukuran panjang 5-6 cm diberi perlakuan dengan paparan konsentrasi logam Pb 0 mg/l (kontrol), 0.008 mg/l, 0.08 mg/l, 0.8 mg/l, pada kondisi pH (level asidifikasi) air media hidup yaitu 6.2, 7.7, 8.2. Pemaparan dilakukan selama 96 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa logam Pb dan pH berpengaruh signifikan ($p < 0.05$) terhadap hemosit kerang yaitu persentase jumlah basofil, eosinofil dan hemosit mati.

Kata Kunci : Biomarker, Logam Pb, Pengasaman laut, *Perna viridis*, Hemosit.

PENDAHULUAN

Peningkatan aktivitas ekonomi manusia tidak terlepas dari buangan limbah antropogenik. Pengemisia CO₂ secara masif akibat dari penggunaan bahan bakar fosil pada berbagai industri dan kendaraan bermotor. Hal ini yang menyebabkan terjadinya peningkatan karbon dioksida di atmosfer (Solomon *et al.*, 2007). Disamping akan menyebabkan terjadinya fenomena pemanasan global dan perubahan iklim, CO₂ juga akan masuk ke laut. Karbon dioksida yang diserap oleh lautan akan bereaksi dengan air laut. Reaksi tersebut menghasilkan senyawa asam karbonat (H₂CO₃) dan meningkatkan keasaman (H⁺) air laut.

Pengasaman laut memiliki implikasi negatif terhadap biota laut yaitu berpotensi membatasi kemampuan kalsifikasi dari organisme laut dalam membentuk eksoskeleton dan cangkang (Beniash *et al.*,

2010; Bibby *et al.*, 2008; Byrne, 2012). Tidak hanya itu pengasaman laut dapat menyebabkan pemutihan pada karang yang berujung pada kematian (Anthony *et al.*, 2008; Doney *et al.*, 2009; Cohen & Holcomb, 2009). Respon spesies yang dikontaminasi dengan kontaminan dalam kondisi pengasaman laut tergantung pada intensitas dan durasi pemaparan, juga kemampuan organisme dalam mengatasi kondisi stress (Vasseur & Leguille (2004). Han *et al.* (2014) dalam penelitiannya menemukan bahwa aktivitas fagositosis kerang biru *Mytilus edulis* mengalami penurunan ketika dikontaminasi oleh Cd dan Pb dalam kondisi pH pengasaman laut yaitu pH 6,2 -8,2. Aktivitas fagositosis menurun dengan peningkatan waktu pemaparan Cd.

Gambaran tersebut menunjukkan efek negatif dari proses pengasaman laut yang berdampak langsung pada spesies hewan laut. Tidak dapat dipungkiri bahwa aktivitas

manusia juga menyebabkan masuknya polutan yang berbahaya di perairan laut, sehingga dengan adanya proses pengasaman laut dan keberadaan bahan pencemar menjadi masalah dan menarik untuk diungkap bagaimana dampak tidak langsung yang dapat ditimbulkan oleh pengasaman laut khususnya yang berkaitan dengan bahan pencemar logam terhadap organisme. Penelitian ini menggunakan hewan uji kerang hijau (*Perna viridis*) karena memiliki adaptasi baik terhadap tekanan pencemar. Tujuan penelitian adalah untuk menganalisis pengaruh pengasaman laut terhadap toksisitas logam Pb dengan menggunakan biomarker imunitas kerang hijau, *Perna viridis*.

METODOLOGI

Lokasi Penelitian

Penelitian ini bersifat *in vivo*, dilaksanakan pada bulan April hingga Mei 2017 di Laboratorium Penangkaran dan Rehabilitasi Ekosistem Laut Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin, Makassar.

Populasi dan Sampel

Populasi pada penelitian ini adalah populasi kerang hijau, sementara sampel adalah kerang hijau berukuran panjang 5-6 cm. Sampel kerang dikumpulkan dari perairan pantai Segeri Kabupaten Pangkep selanjutnya dibawa ke laboratorium untuk dibersihkan dan diaklimatisasi di akuarium penampungan selama satu minggu sebelum digunakan dalam eksperimen. Selama periode aklimatisasi, kerang hijau

diberikan alga renik, *Chlorella* sp. 10×40^6 sel/L.

Pengumpulan Data

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Faktorial. Sebanyak 15 kerang hijau yang berukuran panjang kurang lebih 5 - 6 cm dimasukkan ke dalam akuarium yang berisi 5 liter air laut. Setelah itu air laut dikontaminasi dengan larutan logam Pb dengan seri konsentrasi 0 (kontrol); 0,008 mg/L; 0,08 mg/L dan 0,8 mg/L dengan dasar mengacu pada baku mutu air laut untuk biota laut (Menteri Negara Lingkungan Hidup RI, 2004) dan dikombinasi juga pada kondisi pH (level asidifikasi) yang berbeda yaitu 6,2; 7,7, dan 8,2 (kontrol). Level pH didasarkan pada pH laut yang digunakan oleh Han *et al* (2013), melalui pengamatan efek pengasaman laut terhadap toksisitas logam pada kerang *Mytilus edulis*. Pemaparan dilakukan selama 96 jam.

Selama percobaan, air media diganti setiap hari. Satu jam sebelum penggantian air kerang diberi makan dengan alga renik *Chlorella* sp. dan dibiarkan selama satu jam. Untuk mempertahankan konsentrasi oksigen yang dibutuhkan oleh kerang hijau akuarium diberi aerasi selama proses pemaparan berlangsung. Setelah 96 jam percobaan dihentikan dan kerang dipreparasi dengan menganalisis hemosit kerang hijau dengan menggunakan mikroskop.

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dengan bantuan *software* SPSS V.17 untuk

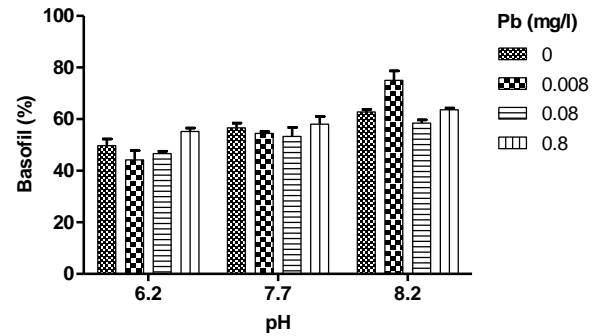
mengetahui hubungan pH dan konsentrasi logam Pb terhadap kadar hemosit kerang hijau. Selanjutnya bila terdapat pengaruh atau perbedaan maka dilakukan uji lanjutan dengan uji *Tuckey*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Basofil

Hasil analisis varian desain faktorial pengaruh logam Pb dan kondisi pH terhadap jumlah basofil (Gambar 1). Berdasarkan hasil analisis varian desain faktorial menunjukkan adanya pengaruh signifikan konsentrasi logam Pb terhadap jumlah basofil ($p < 0,05$). Selain itu, terdapat pengaruh signifikan dari kondisi pH terhadap jumlah basofil ($p < 0,05$). Terdapat pula interaksi antara konsentrasi logam Pb dan pH dalam memengaruhi jumlah basofil secara signifikan ($p < 0,05$). Hasil analisis varian menunjukkan bahwa secara persentase pengaruh pH lebih dominan daripada konsentrasi logam Pb terhadap jumlah basofil.

Persentase jumlah basofil pada kondisi pH 6,2 dengan konsentrasi logam Pb 0 mg/l: 49,75 %, 0,008 mg/l: 44,17 %, 0,08 mg/l: 46,65 %, 0,8 mg/l: 55,20 %. Pada kondisi pH 7,7 dengan konsentrasi logam Pb 0 mg/l: 56,65 %, 0,008 mg/l: 54,46%, 0,08 mg/l: 53,27 %, 0,8 mg/l: 58 %. Pada kondisi pH 8,2 dengan konsentrasi logam Pb 0 mg/l: 62,80 %, 0,008 mg/l: 75,08 %, 0,08 mg/l: 58,49 %, 0,8 mg/l: 63,61 %. Grafik (Gambar 1.) menunjukkan semakin tinggi kondisi pH dan konsentrasi logam Pb maka jumlah basofil semakin meningkat.

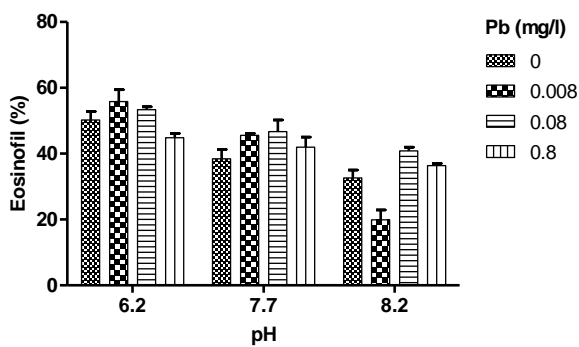


Gambar 1. Grafik pengaruh logam Pb dan pH terhadap persentase jumlah basofil kerang hijau, *P. viridis*. Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan signifikan persentase jumlah basofil ($p < 0,05$).

Hasil analisis varian logam Pb dan pH berpengaruh signifikan terhadap persentase jumlah basofil ($p < 0,05$). Pengaruh terhadap jumlah basofil (hemosit) sebagai respon terhadap tekanan lingkungan (Pipe et al., 1999; St-Jean et al., 2002). Pengaruh logam Pb terjadi pada konsentrasi 0,08 mg/l dan 0,8 mg/l dan pada kondisi pH 8,2. Hal ini menunjukkan bahwa aktifitas fagositosis hemosit kerang sebagai respon dari paparan logam menurun pada konsentrasi rendah dan meningkat pada konsentrasi tinggi. Hal ini terjadi karena basofil merupakan sel darah yang tergolong belum matang dan bersifat basa (Cheng, 1984). Basofil memiliki plasma yang bersifat basa dan dapat melakukan fagositosis terhadap partikel asing yang masuk ke dalam organ tubuh. Pada kondisi pH yang relatif basa jumlah basofil juga meningkat sebagai respon sel terhadap tekanan lingkungan.

2. Eosinofil

Berdasarkan hasil analisis varian desain faktorial menunjukkan adanya pengaruh signifikan konsentrasi logam Pb terhadap persentase jumlah eosinofil ($p < 0,05$). Selain itu, terdapat pengaruh signifikan dari kondisi pH terhadap persentase jumlah eosinofil ($p < 0,05$). Terdapat pula interaksi antara konsentrasi logam Pb dan pH dalam memengaruhi jumlah eosinofil secara signifikan ($p < 0,05$). Hasil analisis varian, secara persentase kondisi pH memiliki pengaruh lebih besar terhadap jumlah eosinofil dibandingkan pengaruh logam Pb.



Gambar 2. Grafik pengaruh logam Pb dan pH terhadap persentase jumlah eosinofil kerang hijau, *P. viridis*. Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan signifikan persentase jumlah eosinofil ($p < 0,05$).

Persentase jumlah eosinofil pada kondisi pH 6,2 dengan konsentrasi logam Pb 0 mg/l: 50,25 %, 0,008 mg/l: 55,83 %, 0,08 mg/l: 53,35 %, 0,8 mg/l: 44,80%. Pada pH 7,7 dengan konsentrasi logam Pb 0 mg/l: 38,41 %, 0,008 mg/l: 45,54 %, 0,08 mg/l: 46,73 %, 0,8 mg/l: 42 %. Pada kondisi pH 8,2 dengan konsentrasi logam Pb 0 mg/l: 32,64 %, 0,008 mg/l: 19,91 %, 0,08 mg/l: 40,85 %, 0,8 mg/l: 36,39 %. Hasil uji statistik menunjukkan perbedaan yang nyata pada pH 8,2 dan

konsentrasi logam Pb 0 mg/l & 0,008 mg/l; 0,008 mg/l & 0,08 mg/l; 0,008 mg/l & 0,8 mg/l ($p < 0,05$). Grafik (Gambar 2) menunjukkan bahwa semakin rendah kondisi pH diikuti dengan peningkatan konsentrasi logam Pb maka jumlah eosinofil semakin meningkat.

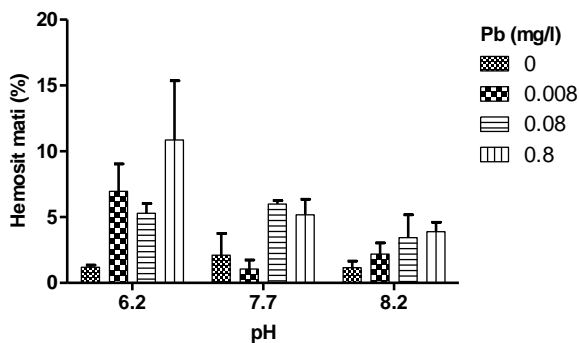
Eosinofil adalah sel darah putih dari kategori granulosit yang berperan dalam sistem kekebalan dengan melawan parasit. Eosinofil bersifat asam dan fagosit (Young et al., 2006). Hasil analisis menunjukkan logam Pb dan pH berpengaruh signifikan terhadap persentase jumlah eosinofil ($p < 0,05$). Pengaruh logam Pb terjadi pada konsentrasi 0 mg/l & 0,8 mg/l; 0,008 mg/l & 0,8 mg/l; 0,08mg/l & 0,8 mg/l. Fagosit akan meningkat pada konsentrasi logam yang semakin tinggi sebagai respon hemosit terhadap tekanan paparan logam (Bibby et al., 2008). Plasma dari eosinofil bersifat asam. Eosinofil juga bersifat fagosit dan jumlahnya akan meningkat jika dalam kondisi lingkungan yang terpapar sebagai respon kekebalan terhadap perlakuan paparan logam Pb dan kondisi pH air yang asam. Eosinofil merupakan sel ketika tahap awal perkembangan (belum matang) masih bersifat basa dan pada fase sudah matang menjadi asam (*acidophilic*).

Eosinofil berfungsi dalam berbagai proses inflamasi, khususnya gangguan alergi. Fungsi eosinofil sangat bervariasi, beberapa di antaranya sangat mirip dengan sel darah lainnya. Termasuk fungsi respon pada daerah-daerah yang meradang, mengikat partikel serta selama infeksi parasit tertentu, eosinofil melindungi organ dari parasit

dengan membantu membersihkan tubuh dari infeksi (Shi, 2004).

3. Hemosit Mati

Berdasarkan hasil analisis varian desain faktorial diketahui terdapat pengaruh signifikan konsentrasi logam Pb terhadap persentase sel hemosit mati (Gambar 3). Selain itu, terdapat pengaruh signifikan kondisi pH terhadap persentase sel hemosit mati. Namun tidak terdapat pengaruh interaksi antara logam Pb dan kondisi pH terhadap persentase sel hemosit mati pada kerang. Hasil uji lanjut menunjukkan perbedaan nyata pada kondisi pH 6,2 dan konsentrasi 0 mg/l & 0,8 mg/l ($p < 0,05$).



Gambar 3. Grafik pengaruh logam Pb dan pH terhadap persentase jumlah hemosit mati kerang hijau, *P. viridis*. Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan signifikan persentase jumlah hemosit mati ($p < 0,05$).

Persentase jumlah hemosit mati pada kondisi pH 6,2 dengan konsentrasi logam Pb 0 mg/l: 1,19 %, 0,008 mg/l: 6,96 %, 0,08 mg/l: 5,29 %, 0,8 mg/l: 10,86 %. Pada kondisi pH 7,7 dengan konsentrasi logam Pb 0 mg/l: 2,1 %, 0,008 mg/l: 1,05 %, 0,08 mg/l: 5,99 %, 0,8 mg/l: 5,18 %. Pada kondisi pH 8,2 dengan konsentrasi logam Pb 0 mg/l: 1,16 %, 0,008 mg/l: 2,19 %, 0,08 mg/l: 3,44 %, 0,8 mg/l: 3,89 %. Semakin rendah kondisi pH dan semakin

tinggi konsentrasi logam Pb maka persentase jumlah hemosit mati pada kerang juga semakin besar.

Kematian sel pada bivalvia umumnya disebabkan oleh nekrosis atau proses apoptosis (Goedken *et al.*, 2004). Pada penelitian ini diduga lebih disebabkan oleh nekrosis, yaitu kematian sel yang disebabkan oleh kerusakan sel secara akut akibat dari pemaparan yang diberikan. Evaluasi kematian hemosit pada bivalvia menjadi indikator yang baik dari sistem kekebalan tubuh akibat dari tekanan lingkungan (Delaporte *et al.*, 2003; Gagnaire *et al.*, 2004; Bouilly *et al.*, 2006).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa konsentrasi logam Pb dan kondisi pH rendah berpengaruh signifikan terhadap hemosit kerang hijau *P. viridis* yaitu pada persentase jumlah hemosit mati, basofil, dan eosinofil.

DAFTAR PUSTAKA

- Addadi L., Joester D., Nudelman F., & Weiner S. (2006). Mollusk shell formation: a source of new concepts for understanding biomineralization processes. *Chemistry*. 12:981– 987.
- Ahmad K., Bhatti I.A., Iqbal M., & Iqbal Z. (2012). Removal of heavy metals (Zn, Cr, Pb, Cd, Cu and Fe) in aqueous media by calcium carbonate as an adsorbent. *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences*. 2: 48-53.
- Anthony K.R.N., Kline D.I., Diaz-Pulido G., & Hoegh-Guldberg S. (2008). Ocean acidification causes bleaching and productivity loss in coral reef builders. *PNAS*. 105(45): 17442-17446.

- Beniash E., Ivanina A., Lieb N.S., Kurochkin I., & Sokolova I.M. (2010). Elevated level of carbon dioxide affects metabolism and shell formation in oysters *Crassostrea virginica*. *Mar Ecol Prog Ser.* 419: 95–108.
- Berge J.A., Bjerkgeng B., Pettersen O., Schaanning M.T., & Oxnevad S. (2006). Effects of increased sea water concentrations of CO₂ on growth of the bivalve *Mytilus edulis* L. *Chemosphere.* 62:681–687.
- Biagioli M., Pinton P., Scudiero R., Ragghianti M., Bucci S., & Rizzuto R. (2005). Aequorin chimeras as valuable tool in the measurement of Ca²⁺ concentration during cadmium injury. *Toxicology.* 208: 389–398.
- Bibby, Widdicombe S., Parry H., Spicer J., & Pipe R. (2008). Effects of ocean acidification on the immune response of the blue mussel *Mytilus edulis*. *Aquat Biol.* 2:67-74.
- Byrne M. (2012). Global change ecotoxicology: Identification of early life history bottlenecks in marine invertebrates, variable species responses and variable experimental approaches. *Mar Environ. Res.* 76: 3–15.
- Chapman P.M. (2002). Ecological risk assessment (ERA) and hormesis. *Sci Total Environ.* 288: 131-140.
- Cohen A.L., & Holcomb M. (2009). Why corals care about ocean acidification: uncovering the mechanism. *Oceanography.* 22: 118–127.
- Doney S.C., Fabry V.J., Feely R.A., & Kleypas J.A. (2009). Ocean Acidification: The Other CO₂ Problem. *Annu Rev Mar Sci.* 1: 169-192.
- Eshmat M.E., Mahasri G., & Rahardja S. (2014). Analysis of Heavy Metal Content of Lead (Pb) and Cadmium (Cd) Shells on Green (*Perna viridis* L.) on Water District Ngemboh Gresik East Java. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan.* 6:1
- Fitzer S.C., Zhu W., Tanner K.E., Phoenix V.R., Kamenos N.A., & Cusack M. (2014). Ocean Acidification Alters The Material Properties of *Mytilus edulis* Shells. *J. Royal Society Interface*, (Online), Vol. 12, No. 103, (<http://rsif.royalsocietypublishing.org/>, diakses 6 Januari 2015).
- Han et al. (2013). Effects of Ocean Acidification on Toxicity of Heavy Metals in The Bivalve *Mytilus edulis* L. Synthesis and Reactivity in Inorganic, Metal-Organic, and NanoMetal Chemistry (Online), 44: 133-139, (<http://www.tandfonline.com/doi/>, diakses 11 November 2014).
- Jury C.P., Whitehead R.F., & Szmant A.M. (2010). Effects of variations in carbonate chemistry on the calcification rates of *Madracis auretenra* (*Madracis mirabilis* sensu Wells, 1973): bicarbonate concentrations best predict calcification rates. *Glob Change Biol.* 16:32–44.
- Marchi B., Burlando B., Panfoli I., & Viarengo A. (2000). Interference of heavy metal cations with fluorescent Ca²⁺ probes does not affect Ca²⁺ measurements in living cells. *Cell Calcium.* 28: 225– 231.
- Menteri Negara Lingkungan Hidup R.I. (2004). *Baku Mutu Air Laut untuk Biota Laut*. Deputi MENLH Bidang Kebijakan dan Kelembagaan Lingkungan Hidup. Jakarta.
- Monari, M., Matozzo, V., Foschi, J., Cattani, O., Serrazanetti, G.P., Marin, M.G. 2007. Effects of high temperatures on functional responses of haemocytes in the clam *Chamelea gallina*. *Fish Shellfish Immunol.* 22: 98-114.
- Ries J.B., Cohen AL., & McCorkle D.C. (2009). Marine calcifiers exhibit mixed responses to CO₂-induced ocean acidification. *Geology.* 37:1131–1134.
- Shi, H.Z. 2004. Eosinophils function as antigen-presenting cells. *Journal of Leukocyte Biology.* 76: 520-7
- Smith J.B., Dwyer S.D., & Smith L. (1989). Cadmium evokes inositol polyphosphate

formation and calcium mobilization. *J. Biol. Chem.* 264: 7115–7118.

Solomon S., Qin D., Manning M., Chen Z., & Marquis M. (2007). *Climate Change 2007: The Physical Science Basis: Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. New York: Cambridge Univ. Press.

Talmage S.C., & Gobler C.J. (2011). Effects of elevated temperature and carbon dioxide on the growth and survival of larvae and juveniles of three species of Northwest Atlantic bivalves. *PLoS ONE* 6(10): e26941.

Flye-Sainte-Marie, J., Soudant, P., Lambert, C., Le Goic, N., Goncalvez, M., Travers, M.A., Paillard, C., Jean, F. 2009. Variability of the hemocyte parameters of *Ruditapes philippinarum* in the field during an annual cycle. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 377: 1-11.

Yao, C.L., Somero, G.N. 2013. Thermal stress and cellular signaling processes in hemocytes of native (*Mytilus californianus*) and invasive (*M. galloprovincialis*) mussels: cell