

Efek Subletal Limbah Batik terhadap Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase pada Serum Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

Annisa Nafiah Salmaa*, Hernayanti, Farida Nur Rachmawati

Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman
Jalan dr. Suparno 63 Purwokerto 53122
*email: nafiahsalmaa03@gmail.com

Rekam Jejak Artikel:

Diterima : 29/08/2019

Disetujui : 03/03/2020

Abstract

Batik wastewater is one cause of pollution in the environment because of known containing several types of heavy metals. There are some types of heavy metals such as chrome (Cr), zinc (Zn), mercury (Hg), copper (Cu), lead (Pb), arsenic (As), cadmium (Cd), manganese (Mn) and nickel (Ni). Batik wastewater that is thrown into the river has an impact on fish physiologically. This response appears before the fish was dead or it's called the sublethal effect caused by the heavy metal. A bond between the heavy metals or metal (M) with protein methallothionein it is called as a bond M+MT. The ties having the nature of a stable so that is not easily off. This is what finally triggers the formation of free radicals. When free radicals in the body are much higher, so the action of an enzyme SOD could decrease. Levels of an enzyme SOD testing as an effort early detection of pollution caused by wastewaters of batik. Based on it, so this study has objective to identify the effects of its toxicity batik wastewater to a decrease in an enzyme SOD on Nila fish. Based on the results of this study, SOD activity starting from control, concentration of 17% v/v, 34% v/v and 51% v/v respectively were $29,48 \pm 1,40$ U/mL, $22,20 \pm 1,18$ U/mL, $17,77 \pm 1,16$ U/mL, $13,68 \pm 0,56$ U/mL. This research result indicates that the value of F count (218,570) > F table (4,30), means there is an influence of batik waste to a decrease in SOD activity. The higher the concentration of batik waste and the lower activity of SOD.

Keywords: Batik wastewater, *Oreochromis niloticus*, Superoxide Dismutase (SOD)

Abstrak

Limbah batik merupakan salah satu penyebab pencemaran di lingkungan perairan karena diketahui mengandung beberapa jenis logam berat. Jenis logam berat tersebut antara lain seperti krom (Cr), seng (Zn), merkuri (Hg), tembaga (Cu), timbal (Pb), Arsen (As), kadmium (Cd), mangan (Mn) dan nikel (Ni). Ikan yang terpapar limbah batik memberikan respon secara fisiologis. Respon yang muncul sebelum ikan mengalami kematian disebut efek subletal. Ikatan antara logam berat atau metal (M) dengan protein metalotionin ini disebut sebagai ikatan M+Mt. Ikatan ini bersifat stabil sehingga tidak mudah lepas. Hal inilah yang akhirnya memicu pembentukan radikal bebas. Ketika radikal bebas dalam tubuh semakin meningkat, maka kadar enzim Superoksida Dismutase atau SOD akan semakin menurun. Pengujian kadar enzim SOD dapat dijadikan sebagai upaya deteksi dini adanya pencemaran perairan yang disebabkan oleh limbah batik. Berdasarkan hal tersebut, maka penelitian ini memiliki tujuan untuk melihat pengaruh toksisitas limbah batik terhadap penurunan enzim SOD pada ikan nila. Berdasarkan hasil penelitian ini, kadar SOD mulai dari kontrol, konsentrasi 17% v/v, 34% v/v dan 51% v/v berturut-turut yaitu $29,48 \pm 1,40$ U/mL, $22,20 \pm 1,18$ U/mL, $17,77 \pm 1,16$ U/mL, $13,68 \pm 0,56$ U/mL. Hasil analisis data menunjukkan bahwa nilai F hitung (218,570) > F tabel (4,30) yang artinya terdapat pengaruh paparan limbah batik terhadap penurunan aktivitas SOD. Semakin tinggi konsentrasi limbah batik maka semakin rendah aktivitas SOD.

Kata kunci: Limbah Batik, *Oreochromis niloticus*, Superoksida Dismutase (SOD)

PENDAHULUAN

Industri batik merupakan salah satu penyumbang limbah pada perairan yang diperkirakan mengandung unsur logam berat. Logam berat dapat menimbulkan efek racun terhadap makhluk hidup, contohnya krom (Cr), timah hitam (Pb), kadmium (Cd), tembaga (Cu), nikel (Ni), seng (Zn) serta merkuri (Hg) (Palar, 2008). Limbah hasil produksi batik juga banyak menggunakan air sehingga menghasilkan limbah cair. Limbah cair tersebut mengandung zat pewarna tekstil yang berasal dari proses pewarnaan (Handayani *et al.*, 2019). Logam-logam berat yang berada di perairan mengakibatkan

terjadinya perubahan sifat fisik, kimia dan biologi perairan. Hal ini dapat mengganggu keseimbangan ekosistem perairan serta menimbulkan dampak negatif bagi kesehatan manusia (Muammar, 2019). Logam berat atau metal (M) berada di lingkungan masuk ke tubuh dalam bentuk ion melalui proses difusi pasif. Logam berat sebagai benda asing dapat mengganggu stabilitas tubuh sehingga dilakukan pengikatan oleh protein darah yang disebut Metallothionein. Metallothionein adalah salah satu protein yang bersifat sangat peka terhadap adanya pencemaran. Memiliki fungsi dalam mengikat logam-logam berat yang berada di lingkungan ke

dalam jaringan tubuh makhluk hidup. ikatan antara logam dengan metallothionein sangat kuat dan stabil. Hal inilah yang memicu radikal bebas terutama anion superoksida (O_2^-) dalam tubuh sehingga aktivitas enzim antioksidan seperti Superoksida Dismutase pun semakin menurun (Lasut, 2002).

Logam berat masuk ke tubuh organisme menyebabkan terjadinya peningkatan kadar radikal bebas. Semakin meningkat radikal bebasnya maka semakin menurun kadar enzim antioksidannya. Kondisi semacam ini mengakibatkan terjadinya stress oksidatif yang mengganggu kinerja sel, merusak sel dan juga DNA (Dewi, 2018). Mekanisme pertahanan di dalam tubuh memiliki kemampuan untuk mengatasi bahaya yang disebabkan oleh radikal bebas yaitu dengan cara memproduksi golongan enzim antioksidan endogen. Enzim tersebut antara lain Katalase, Glutathion Peroksidase, Superoksida Dismutase (SOD) (Winarsi, 2007).

Superoksida Dismutase (SOD) merupakan salah satu enzim pertahanan pertama ketika muncul serangan dari radikal bebas. Cara kerja enzim SOD dalam menangani radikal bebas yaitu dengan mengkatalisis dismutasi dari ion radikal bebas (Mates *et al.*, 1999). Reaksi yang terjadi yaitu molekul anion superoksida bersama molekul hidrogen diproses oleh enzim SOD ($O_2^- + O_2^- + H + SOD$) kemudian menghasilkan hidrogen peroksida (H_2O_2). Proses selanjutnya yaitu terjadi pemecahan hidrogen peroksida (H_2O_2) oleh enzim katalase menjadi molekul air (H_2O) dan oksigen (O_2) (Winarsi, 2007). Aktivitas enzim antioksidan dengan intensitas yang rendah mengindikasikan tingginya kadar radikal bebas dalam tubuh. Terjadinya hal tersebut disebabkan oleh SOD yang tidak mampu mengimbangi tingginya radikal bebas anion superoksida (O_2^-) yang seharusnya dapat dinetralkan, sehingga aktivitas SOD pun menjadi turun

Ikan adalah hewan perairan yang dapat digunakan sebagai salah satu bioindikator pada lingkungan yang tercemar. Ikan yang dapat digunakan dalam penelitian bioindikator salah satunya adalah ikan nila. Ikan nila adalah salah satu ikan yang dibudidayakan untuk tujuan konsumsi dan menjadi komoditas yang paling diminati di berbagai negara (Fadri *et al.*, 2016). Menurut Carman & Sucipto (2009) ikan nila memiliki kelebihan yaitu harganya yang terjangkau, pertumbuhan cepat, perkembangbiakannya mudah, kadar proteinnya tinggi, ukuran tubuh yang cukup besar, lebih tahan terhadap penyakit, memiliki nilai gizi yang tinggi serta mudah beradaptasi.

Berdasarkan uraian di atas, rumusan masalah yang dibahas dalam penelitian ini yaitu apakah efek subletal limbah batik dengan konsentrasi berbeda berpengaruh terhadap penurunan enzim Superoksida Dismutase pada serum ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) serta konsentrasi limbah batik berapakah yang paling mempengaruhi penurunan enzim Superoksida Dismutase pada serum ikan nila

1. Mengetahui efek subletal limbah batik dengan konsentrasi berbeda yang berpengaruh terhadap penurunan enzim Superoksida Dismutase pada serum ikan Nila (*Oreochromis niloticus*).
2. Mengetahui konsentrasi limbah batik yang paling berpengaruh terhadap penurunan enzim Superoksida Dismutase pada serum ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

Manfaat adanya penelitian ini adalah dapat memberikan informasi ilmiah serta sebagai *early warning system* terhadap adanya pengaruh subletal limbah batik pada lingkungan perairan.

MATERI DAN METODE

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain ember dengan diameter 46,5 cm dan tinggi 23 cm, aerator, selang aerasi, batu aerasi, spektrofotometer UV-VIS dengan panjang gelombang 520 nm, mikropipet ukuran 100 μ l & 1000 μ l, yellow tip, blue tip, tabung reaksi, kuvet, vacutainer tube EDTA ukuran 3 mL, alat sentrifugator, vortex, tabung eppendorf, spuit injeksi 1 mL, alat tulis, gelas ukur 500 mL, jaring ikan, timbangan analitik, penggaris, milimeter blok, dan kamera. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu ikan Nila yang didapatkan dari Balai Benih Ikan, Dinas Peternakan dan Perikanan, Jalan Raya Baturraden, Dusun II Pandak dengan rata-rata panjang $13,5 \pm 0,75$ cm dan rata-rata bobot $47,26 \pm 10,34$ gram, pakan ikan dengan kadar protein sebanyak 33 %, pH universal, Kalium Permanganat (PK), larutan buffer SOD, larutan standar SOD, reagen xantin oksidase serta limbah batik naftol yang didapatkan dari daerah Jalan Pesarean, Kebutuh, Dusun 1, Sokaraja

Penelitian dilaksanakan pada bulan April sampai Juni 2019 di stasiun percobaan program studi D3, Laboratorium Ekotoksikologi, dan Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto.

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimental dengan rancangan percobaan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Berdasarkan Lumban & Ridwan (2016) nilai LC50 96 jam didapatkan dari analisis probit hasil uji toksisitas letal atau data mortalitas ikan. Nilai LC50 96 jam paparan limbah batik terhadap ikan nila yaitu sebesar 67,61% v/v menjadi dasar penentuan konsentrasi, namun dihitung terlebih dahulu sebesar 25%, 50%, serta 75% dari nilai LC50 96 jam tersebut. Hasil perhitungan didapatkan 4 seri konsentrasi limbah batik (0% v/v, 17% v/v, 34% v/v dan 51% v/v) dengan 6 kali ulangan, sehingga terdapat 24 unit percobaan dengan masing-masing unit berisi 4 ekor ikan.

Variabel yang diamati terdiri dari variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi limbah batik dan lama waktu pemaparan. Variabel terikat pada penelitian ini yaitu aktivitas enzim SOD. Parameter

utama yang diukur adalah kadar enzim SOD (Superoksida Dismutase) pada ikan nila menggunakan metode RAN-SOD serta parameter pendukungnya yaitu pH (Randox laboratories, 2009).

Aklisasi ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

Aklisasi ikan uji selama 7 hari. Tempat pemeliharaan sebelumnya disterilisasi dengan cara direndam larutan PK (Kalium Permanganat) selama 24 jam. Ikan diaklimasi selama 7 hari pada ember berdiameter 46,5 cm dan tinggi 23 cm. Jumlah ikan yang digunakan sebanyak 96 ekor karena terdapat 24 unit percobaan yang masing-masing diisi 4 ekor ikan. Panjang tubuh beserta bobot tubuh ikan juga diukur.

Pembuatan Media Uji dan Pemaparan Subletal 48 jam

Konsentrasi limbah batik yang digunakan yaitu kontrol, 17% v/v, 34% v/v serta 51% v/v. Total volume media uji setiap perlakuannya adalah 10 L. Perlakuan konsentrasi 17% v/v mengandung 1700 mL limbah cair naftol dan air tanah sebanyak 8300 mL. Perlakuan konsentrasi 34% v/v mengandung 3400 mL limbah cair naftol dan air tanah sebanyak 6600 mL. Perlakuan konsentrasi 51% v/v mengandung 5100 mL limbah cair naftol dan air tanah sebanyak 4900 mL. Media uji berupa larutan limbah batik berbagai konsentrasi selanjutnya diukur pH-nya dengan menggunakan pH universal. Media uji yang telah dibuat kemudian digunakan untuk pemaparan subletal selama 48 jam.

Pengambilan Darah Ikan Nila

Teknik pengambilan darah yang dilakukan ini sebagaimana Samsisko *et al.* (2014), yakni sampel darah diambil dengan menggunakan teknik punctie cardiac yaitu melalui organ jantung menggunakan spuit injeksi berukuran 1 mL kemudian dimasukkan ke dalam vacutainer tube berukuran 3 mL. Darah yang telah ditampung kemudian dipipetkan ke dalam tabung eppendorf untuk dilakukan disentrifuge dengan kecepatan 6000 rpm selama 10 menit untuk mendapatkan serumnya. Serum yang telah diperoleh dipindahkan ke eppendorf baru agar tidak tercampur dengan endapan atau debris di bagian bawah tabung

Pengukuran Kadar SOD

Disiapkan 2 buah tabung reaksi untuk blanko dan standar serta tabung reaksi sesuai jumlah sampel. Pada tabung reaksi ditambah reagen xantin oksidase sebanyak 100 µl, dan larutan buffer SOD sebanyak 1000 µl, untuk tabung sampel ditambahkan sampel serum sebanyak 20 µl. Pada tabung standar tidak ditambahkan sampel tetapi ditambahkan larutan standar SOD sebanyak 20 µl, sedangkan pada tabung blanko tidak perlu ditambahkan larutan standar maupun sampel serum. Semua bahan tersebut dihomogenkan dengan menggunakan vortex, jika sudah homogen larutannya dapat langsung dibaca absorbansi dengan spektrofotometer panjang gelombang 520 nm. Hasil yang didapatkan kemudian

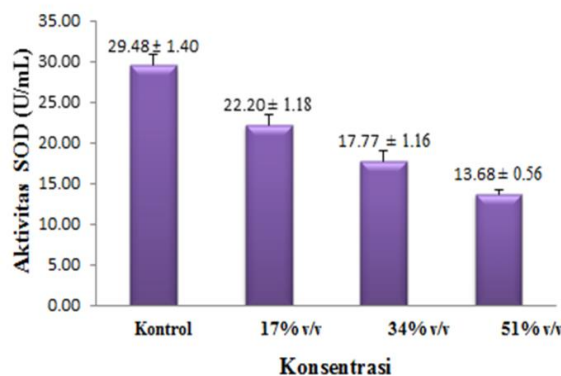
dihitung menggunakan rumus (Randox laboratories, 2009) sebagai berikut:

$$\text{Aktivitas SOD} = \frac{\text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Standar}} \times 30,65 \text{ U/mL}$$

Data yang telah diperoleh dianalisis dengan uji ANOVA. Data tersebut digunakan untuk mengetahui bagaimana pengaruh paparan limbah batik terhadap kadar SOD (Superoksida Dismutase) pada ikan Nila. Analisis dengan ANOVA ini menggunakan taraf kepercayaan 95% dan tingkat kesalahan 5%. Uji lanjut yang digunakan yaitu uji Duncan.

Hasil dan Pembahasan

Berdasarkan hasil uji toksisitas subletal pada gambar 1. dapat dilihat aktivitas Superoksida Dismutase atau SOD mengalami penurunan mulai dari kontrol hingga konsentrasi limbah naftol paling tinggi. Kadar SOD mulai dari kontrol, konsentrasi 17% v/v, konsentrasi 34% v/v, konsentrasi 51% v/v berturut-turut yaitu $29,48 \pm 1,40$ U/mL, $22,20 \pm 1,18$ U/mL, $17,77 \pm 1,16$ U/mL, $13,68 \pm 0,56$ U/mL. Berdasarkan penelitian Vasile *et al.* (2018), pemaparan logam berat Zn dari konsentrasi 10% menjadi 25% terhadap ikan *Acipenser stellatus* menyebabkan penurunan enzim SOD yakni dari 0,24 U/mg menjadi 0,19 U/mg.



Gambar 1. Rerata Aktivitas SOD pada Darah Ikan Nila yang Terpapar Limbah Batik

Penurunan aktivitas SOD ini disebabkan paparan limbah batik yang semakin tinggi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Mardiyah (2017) bahwa ketika radikal bebas anion superoksida yang berasal dari limbah batik jumlahnya sudah melampaui batas, maka akan menyebabkan persentase SOD menurun. Logam berat pada limbah pewarna batik dapat berikatan dengan suatu protein yang disebut metallothionein membentuk ikatan M + MT. Hal ini dapat mengakibatkan enzim yang berikatan dengan protein menjadi tidak aktif. Ketika kerja enzim menurun maka akan mempengaruhi proses fisiologis serta mengacaukan struktur sel dalam suatu organ. Logam-logam yang terakumulasi di dalam sel juga mampu menurunkan kadar enzim antioksidan (Al Aziz & Marianti, 2014).

Berdasarkan Vasile *et al.* (2018) Superoksida Dismutase sebagai enzim yang pertama menangani radikal bebas memiliki respon yang bervariasi tergantung pada paparan logam, konsentrasi serta durasi pemaparan. Xavier *et al.* (2019) menyatakan bahwa penghambatan SOD oleh logam berat menyebabkan peningkatan stress oksidatif dalam jaringan sebagai akibat dari aktivitas merusak yang dilakukan oleh radikal anion superoksida. Stres oksidatif merupakan kondisi yang terjadi ketika jumlah radikal bebas lebih tinggi dibandingkan dengan sistem pertahanan tubuh (Sinaga, 2016).

Berdasarkan Hasil ANOVA dengan tingkat kesalahan 5% menunjukkan bahwa nilai F hitung yakni 218,570 lebih besar dibandingkan dengan nilai F tabel yakni 4,30 dan nilai $p < 0,05$. Hal tersebut menunjukkan bahwa hasil penelitian ini signifikan. Pemaparan limbah batik yang dilakukan terhadap ikan nila memberikan pengaruh yang nyata bagi penurunan aktivitas SOD. Pada uji lanjut Duncan didapatkan hasil bahwa konsentrasi yang paling berpengaruh adalah 17% v/v.

Berdasarkan uji subletal yang dilakukan, ikan mampu bertahan hanya dalam waktu 48 jam. Menurut Bosman *et al.* (2013) ketahanan organisme terhadap zat toksik berbeda-beda karena dipengaruhi oleh konsentrasi bahan toksik, spesies serta ukuran organisme. Ditambah juga dengan faktor internal dan eksternal dari ikan tersebut. Faktor internal berarti dari dalam tubuh ikan dan eksternal berupa sifat fisik, kimiawi dan biologis dari lingkungan tempat ikan hidup. Efek paparan subletal logam berat selama 96 jam terhadap ikan lele perak menunjukkan bahwa akumulasi logam yang signifikan terdapat pada insang, usus dan hati. Pada jaringan otot tidak ditemukan akumulasi logam karena kemungkinan waktu pemaparan dan konsentrasi yang kurang cukup untuk menyebabkan akumulasi. Hal ini terjadi karena akumulasi pada jaringan otot membutuhkan waktu pemaparan yang lebih lama. Namun, dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa dalam waktu singkat yakni 96 jam, logam berat sudah mampu terakumulasi dalam beberapa jaringan khususnya pada jaringan lemak organisme akuatik. Berdasarkan penelitian Javed & Usmani (2017) secara umum akumulasi logam berat terdapat pada semua organ vital ikan, namun yang paling sering ditemukan dalam konsentrasi tertinggi adalah pada hati, ginjal, dan insang. Pada ikan nila, logam berat seperti Fe, Cu, Zn, Pb, Cd dan Co terakumulasi pada jaringan hati, insang, otot, usus, jantung dan testis.

Kondisi ikan nila saat uji dilakukan terlihat berbeda dengan sebelum pengujian. Pada saat dilakukan uji, gerakan ikan cenderung semakin lemah dan tidak lincah atau bergerak tidak normal, badannya atau warna sisik menjadi kusam, menyendiri, sedangkan ikan yang masih sehat bergerak dengan lincah dan normal, warna masih cemerlang selalu bergerombol dan tidak ada perubahan fisik lain. Sisik ikan nila yang menjadi

kusam dapat disebabkan oleh terlalu lama paparan limbah batik. Fungsi sisik sebagai pelindung untuk mencegah masuknya toksik atau racun ke dalam tubuh ikan. Terdapat penempelan zat asing yang berasal dari toksikan juga pada ikan tersebut. Limbah batik dengan konsentrasi tinggi juga menyebabkan peningkatan frekuensi pernafasan dan konsumsi oksigen kemudian disertai dengan ritme bernafas yang semakin turun, hilangnya keseimbangan dan akhirnya ikan mengalami kematian (Andriani & Hartini, 2017).

Berdasarkan pengamatan pada ikan yang mati, ditemukan juga ciri tubuh ikan yang berlendir. Hal ini disebabkan akumulasi racun yang berasal dari logam berat akan menyebabkan gejala stres pada ikan yakni suatu kondisi yang tidak mampu mengatur fisiologisnya dengan normal dan hal tersebut juga dipengaruhi oleh faktor yang merugikan. Ikan yang diberi perlakuan dengan limbah memproduksi lendir yang lebih banyak jika dibandingkan dengan ikan yang tidak terpapar perlakuan. Lendir atau mukus tersebut merupakan salah satu respon ikan yang mengalami stres yang berfungsi sebagai sistem perlindungan diri (Irianto, 2005). Berdasarkan Vasile *et al.* (2018) akumulasi logam mengakibatkan peningkatan produksi lendir. Lendir ini berguna untuk menyerap logam dan menjebaknya dekat dengan permukaan epitel, seperti yang tampak pada lendir usus.

Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi kemampuan ikan dalam bertahan hidup menurut Kafuku (1983) yaitu kualitas air, seperti suhu, oksigen terlarut (DO) serta tingkat keasaman (pH). Berikut ini hasil pengukuran faktor lingkungan berupa pH air yang normal dan air limbah batik.

Tabel 1. Hasil Pengukuran pH Air Tanah dan Air Limbah Batik Naftol

Jenis air	pH
Air tanah	7
Cairan Limbah Batik Naftol	8

Berdasarkan pengukuran pH pada tabel 1. air tanah yang digunakan untuk pemeliharaan atau aklimasi ikan adalah 6-7. Menurut Suyanto (2003) ikan nila dapat hidup pada kisaran pH antara 6-8, namun untuk pertumbuhan optimal memerlukan pH 7-8 dan suhu 25-30°C. Cairan limbah batik yang digunakan untuk ketiga uji bersifat basa yakni 8. Mengacu pada Hernayanti & Proklamasingih (2004) nilai pH yang masih diperbolehkan sesuai baku mutu limbah batik adalah 6-9. Menurut Perda Jawa Tengah (2012) memberikan standar baku mutu maksimum untuk limbah yaitu nilai BOD 150 mg/L, COD 300 mg/L. Berdasarkan Handayani *et al.* (2019) Kadar logam yang terdapat pada limbah batik seperti Zn memiliki standar sebesar 5 mg/L sedangkan berdasarkan hasil di lapangan kadar Zn sangat tinggi yaitu 40,97 mg/L.

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan yaitu efek subletal limbah batik dengan konsentrasi berbeda memberikan pengaruh terhadap penurunan enzim Superoksida Dismutase pada serum ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). Konsentrasi limbah batik yang paling berpengaruh terhadap penurunan enzim Superoksida Dismutase pada serum ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) adalah 51% v/v.

DAFTAR REFERENSI

- Al Aziz, R., & Marianti, A., 2014. Efek paparan kronik timbal (Pb) per oral pada struktur histopatologik lambung tikus putih, Unnes journal of life science, 3(2), pp. 87-92.
- Andriani, R., & Hartini., 2017. Toksisitas Limbah Cair Industri Batik terhadap Morfologi Sisi Ikan Nila Gift (*Oreochromis niloticus*). Jurnal sainhealth, 1(2), pp. 32-40.
- Bosman, O., Taqwa, F. H., Marsi., 2013. Toksisitas Limbah Cair Lateks terhadap Kelangsungan Hidup, Pertumbuhan dan Tingkat Konsumsi Oksigen Ikan Patin (*Pangasius sp.*). Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia, 1(2), pp. 148-160.
- Carman, O., & Sucipto, A., 2009. Panen nila 2,5 bulan. Jakarta: PT. Penebar Swadaya.
- Dewi, N. K., 2018. Efek Paparan Logam Berat terhadap Kadar Malondialdehid dan Aktivitas Katalase Ikan Mas dan Ikan Nila di Sungai Kaligarang. Jurnal Mipa, 41(2), pp. 69-75.
- Fadri, S., Muchlisin, Z. A., & Sugito., 2016. Pertumbuhan, Kelangsungan Hidup dan Daya Cerna Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Mengandung Tepung Daun Jaloh (*Salix tetrasperma roxb*) dengan Penambahan Probiotik EM-4. Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan Dan Perikanan Unsyiah, 1(2), pp. 210-221.
- Handayani, P. A., Cholifah, U., Ulviana, R., & Chafidz, A., 2019. Batik Industry Wastewater Treatment via Coagulation-Flocculation Process and Adsorption using Teak Sawdust based Activated Carbon. Jurnal Bahan Alam Terbarukan, 8(1), pp. 9-13.
- Hernayanti & Proklamasiningsih, E., 2004. Fitoremediasi Limbah Cair Batik Menggunakan Kayu Apu (*Pistia stratiotes L.*) sebagai Upaya untuk Memperbaiki Kualitas Air. Jurnal Pembangunan Pedesaan, 4(3), pp. 164-172.
- Irianto, A., 2005. Patologi Ikan Teleostei. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Javed, M., & Usmani, N., 2017. An overview of The Adverse Effects of Heavy Metal Contamination on Fish Health. Proceedings of the national academy of science, India Section B: Biological Sciences, 89(2), pp. 389-403.
- Kafuku, T., & Ikenoue, H., 1983. Modern Method of Aquaculture in Japan. Tokyo: Kodansha, Ltd.
- Lasut, M. T., 2002. Metallothionein: Suatu Parameter Kunci yang Penting dalam Penetapan Baku Mutu Air Laut (BMAL) Indonesia. Ekoton, 2(1), pp. 61-68.
- Lumban, T. F. D., & Ridwan, A., 2016. Uji Toksisitas Limbah Batik terhadap Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). Journal IPB, 21(2), pp. 1-5
- Mardiyah, N., 2017. Uji aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Sarang Burung Wallow (*Collocalia fuciphaga Thunberg.*) terhadap Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase (SOD) pada Tikus Putih Jantan Galur Sprague Dawley, Skripsi. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.
- Mates, J. M., Gomez C. P., & Castro., 1999. Antioxidant Enzyme and Human Disease. Clin biochem, 32(8), pp. 595-603.
- Muammar, Rais, M., & Patang., 2019. Pengaruh limbah industri terhadap tingkat pencemaran timbal di perairan sungai Tallo. Jurnal pendidikan teknologi pertanian, 5, pp 230-250.
- Palar, H., 2008. Pencemaran dan toksikologi Logam Berat. Jakarta: Rineka Cipta.
- Randox Laboratories., 2009. Manual procedure RanSOD. Crumlin, Co Antrim, United Kingdom: Randox Laboratories Ltd.
- Samsisko, R. L. W., Hari, S., & Setiawati, S., 2014. Respon Hematologis Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes Altivelis*) pada Suhu Media Pemeliharaan yang Berbeda. Journal of Agriculture and Fish Health, 3(1), pp. 36-43.
- Sinaga, F. A., 2016. Stress Oksidatif dan Status Antioksidan pada Aktivitas Fisik Maksimal. Jurnal generasi kampus, 9(2), pp. 176-189.
- Suyanto, R., 2003. Nila. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Vasile, D., Gaina, G., Petcu, L. C., Coprean, D., Tofan, L., Dinischiotu, A., 2018. Bioaccumulation of Copper and Zinc and The Effects on Antioxidant Enzyme Activities in The Liver of *Acipenser stellatus* (Pallas, 1771). Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 102(1), pp. 39-45.
- Winarsi, H., 2007. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas: Potensi dan Aplikasinya Dalam Kesehatan. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Xavier, N. D. D., Nandan, S. B., Jayachandran, P. R., Anu, P. R., Midhun, A. M., Mohan, D., 2019. Chronic Effects of Copper and Zinc on The Fish, *Etroplus suratensis* (Bloch, 1790) By Continuous Flow Through (CFT) Bioassay. Marine Environmental Research, 143, pp. 141-157.