

LAPORAN PENELITIAN

**PENENTUAN MATC TEMBAGA (Cu) PADA POPULASI
IKAN KEPALA TIMAH (*Pocilia reticulata*)
BERDASARKAN UJI TOKSISITAS PADA
STADIUM LARVA DAN IKAN MUDA**

oleh

**DRIL. DJOHAN, MEM
NIP: 131914277**

**DILAKSANAKAN ATAS BANTUAN DARI
PROYEK OPERASI DAN PERAWATAN FASILITAS
KOPERTIS WILAYAH V TAHUN ANGGARAN 1996/1997**

**DEPARTEMEN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
KANTOR KOORDINASI PERGURUAN TINGGI SWASTA WILAYAH V
(MEI 1997)**



LAPORAN PENELITIAN

**PENENTUAN MATC TEMBAGA (Cu) PADA POPULASI
IKAN KEPALA TIMAH (*Poecilia reticulata*)
BERDASARKAN UJI TOKSISITAS PADA
STADIUM LARVA DAN IKAN MUDA**

oleh

**DRIH. DJOHAN, MEM
NIP: 131914277**

**DILAKSANAKAN ATAS BANTUAN DARI
PROYEK OPERASI DAN PERAWATAN FASILITAS
KOPERTIS WILAYAH V TAHUN ANGGARAN 1996/1997**

**DEPARTEMEN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
KANTOR KOORDINASI PERGURUAN TINGGI SWASTA WILAYAH V
(MEI 1997)**



LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN LAPORAN AKHIR PENELITIAN

1. a. Judul Penelitian : Penentuan MATC Tembaga (Cu) pada Populasi Ikan Kepala Timah (*Poecilia reticulata*) Berdasarkan Uji Toksisitas pada Stadium Larva dan Ikan Muda
b. Macam Penelitian : Terapan
c. Kategori : II
2. a. Kepala Proyek Pen. : Drh. Djohan, MEM
b. Jenis Kelamin : Laki-laki
c. Pangkat/Gol/NIP : Penata Muda/IIIa/131914277
d. Jabatan Akademik : Assisten Ahli Madya
e. Fakultas/Jurusan : Biologi/Biologi
f. Universitas : Universitas Kristen Duta Wacana
g. Bidang Ilmu : MIPA
3. Jumlah Tenaga Peneliti : 2 orang
4. Lokasi Penelitian : Laboratorium Biologi Fak.Biologi
Universitas Kristen Duta Wacana
5. Jangka Waktu Penelitian : 6 bulan
6. Biaya yang diperlukan : Rp.3.000.000,- (Tiga Juta Rupiah)

Mengetahui/ Menyetujui
Pembimbing

Drh. Darjono, M.Sc, Ph.D
Penata Tk.I / Lektor Madya
Gol.III d pd FKH UGM
NIP: 130350175

Yogyakarta, 12 Mei 1997
Kepala Proyek Penelitian

Drh. Djohan, MEM
NIP: 131914277

Mengetahui
Dekan F.Biologi UKDW



Drs. Bambang Praswanto, M.Sc
NIK: 924E171

Kepala Bagian Proyek OPF
Kopertis Wilayah V



Drs. J. Nusantoro
NIP: 130608320



ABSTRAK

PENENTUAN MATC TEMBAGA (Cu) PADA POPULASI IKAN KEPALA TIMAH (*Poecilia reticulata*) BERDASARKAN UJI TOKSISITAS PADA STADIUM LARVA DAN IKAN MUDA

oleh

Djohan & Djoko

Mei 1997

Baku mutu lingkungan (KEP-02/MENKLH/I/1988) menetapkan bahwa kadar maksimum total Cu yang diijinkan untuk kualitas air golongan C dengan peruntukkan perikanan dan peternakan adalah 0,020 ug/L. Kadar maksimum total Cu ini berlaku untuk air dengan parameter pH berkisar antara 6,0 hingga 9,0. Kadar maksimum total Cu ini tidak mencerminkan toksisitasnya terhadap organisme akuatik. Toksisitas Cu lebih dipengaruhi oleh kadar masing-masing spesies Cu dibandingkan oleh kadar total Cu sedangkan proporsi masing-masing spesies Cu dipengaruhi oleh pH. Dengan demikian perlu dilakukan penentuan kadar maksimum total Cu yang diijinkan pada berbagai pH.

Penelitian ini menentukan konsentrasi maksimum yang diijinkan (MATC) untuk total Cu pada 3 macam pH yaitu 6,0; 6,5 dan 7,0. Organisme yang digunakan dalam penelitian ini ialah ikan gupi dan stadium siklus hidup yang dijadikan fokus penelitian ini adalah ikan muda berumur 1 bulan pertama dengan penyingkapan terlebih dahulu Cu pada ikan dewasa sejak 2 bulan sebelum ikan muda dilahirkan. Parameter-parameter yang diamati adalah NOEC, LOEC, LC₅ 96 jam ikan muda, IC₂₅ jumlah anak ikan per induk, IC₂₅ berat badan dan derajat akumulasi Cu pada jaringan tubuh ikan. Perlakuan pertama adalah variasi 3 macam pH dan variasi konsentrasi Cu (0,010; 0,015 dan 0,020 ug/L) dan perlakuan kedua variasi konsentrasi Cu.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa spesies Cu yang memiliki hubungan paling erat dengan parameter-parameter terukur adalah $Cu(CO_3)_{aq}^0$. MATC terhitung adalah 0,0141 ug/L. MATC terhitung ini terdapat dalam selang kepercayaan 95% untuk LC₅ 96 jam ikan muda, jumlah anak ikan per induk, dan IC₂₅ berat badan ikan. MATC terhitung juga dalam taraf yang dapat diterima jika dibandingkan dengan MATC yang diperoleh dari hasil ekstrapolasi LC₅₀.

Kata-kata kunci: spesies Cu, MATC, NOEC, LOEC, LC₅, IC₂₅, ekstrapolasi.



ABSTRACT

THE DETERMINATION OF COPPER'S (Cu) MATC FOR THE POPULATION OF GUPPIES (*Poecilia reticulata*) BASED ON TOXICITY TESTS ON LARVA AND EARLY LIFE STAGES

Djohan & Djoko

May 1997

The environmental quality standard (KEP-02/MENKLH/I/1988) states that the maximum copper concentration allowed for group C water quality which is specialized for fishery and animal husbandry is 0,020 ug/L. This maximum copper concentration is used for water pH between 6,0 and 9,0. This maximum concentration does not represent copper toxicities to aquatic organisms. Copper toxicity is more influenced by the concentration of each copper species than by the total copper concentration while the proportion of copper species is mainly influenced by pH. As a consequent, it is necessary to conduct a study about the maximum total copper concentrations allowed for various pHs.

This study determined the maximum allowable toxicant concentration for total copper in 3 different pHs which were 6,0; 6,5 and 7,0. The organisms used in this study are guppies and the life cycle focused in this research is the early life stage of the first month with previous exposure to adult fish two months before young fish are delivered. The parameters observed were NOEC, LOEC, 96 hour LC₅ for young guppies, IC₂₅ of the number of broods for each fish, IC₂₅ of body weight, and the degree of Cu accumulated in fish tissues. The first treatment was various pHs together with various copper concentrations (0,010; 0,015 and 0,020 ug/L) while the second treatment was various copper concentrations only.

The result of the study indicated that the species with the strongest relationship to the observed parameters was $\text{Cu}(\text{CO}_3)_{\text{aq}}^0$ and the calculated MATC was 0,0141 ug/L. This calculated MATC was located in the 95% confidence interval of 96 hour LC₅₀ for young guppies, IC₂₅ of the number of broods for each fish, and IC₂₅ of body weight. The calculated MATC was also comparable to MATC yielded from the results of LC₅₀ extrapolation.

Keywords: copper species, MATC, NOEC, LOEC, LC₅, IC₂₅, extrapolation

KATA PENGANTAR

Tim peneliti memanjatkan puji syukur kepada Tuhan atas selesainya penelitian yang berjudul "Penentuan MATC tembaga (Cu) pada populasi ikan kepala timah (*Poecilia reticulata*) berdasarkan uji toksisitas pada stadium larva dan ikan muda. Laporan ini disusun berdasarkan hasil penelitian yang dilaksanakan di laboratorium Biologi Universitas Kristen Duta Wacana dengan bantuan dana dari Proyek Operasi dan Perawatan Fasilitas Kopertis Wilayah V tahun anggaran 1996/1997.

Tim peneliti mengucapkan terima kasih kepada Drh. Darjono, M.Sc, Ph.D sebagai dosen pembimbing, Drs. J. Nusantoro sebagai Kepala Bagian Proyek OPF 1996/1997 Kopertis Wilayah V, dan Drs. Bambang Praswanto, M.Sc sebagai Dekan Fakultas Biologi UKDW.

Tim peneliti menerima saran-saran atas penelitian ini dengan tujuan meningkatkan proses dan standar penelitian di Fakultas Biologi Universitas Kristen Duta Wacana pada khususnya dan penelitian bidang toksikologi lingkungan pada khususnya.

Yogyakarta, 12 Mei 1997

Ketua Tim Peneliti:

Drh. Djohan, MEM

NIP: 131914277

DAFTAR ISI

ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR LAMPIRAN	vi
PENDAHULUAN	1
TINJAUAN PUSTAKA	4
Spesiasi logam di lingkungan	4
Spesiasi Cu di air tawar	5
Penggunaan fosfat dan reaksi fosfat di air tawar	6
Penyingkapan Cu pada ikan	7
Efek toksik Cu pada ikan	8
Uji toksisitas pada stadium larva-ikan muda	11
LC ₅₀ dan ekstrapolasi LC ₅₀ ke MATC	11
Faktor biokonsentrasi	12
Ikan gupi (<i>Poecilia reticulata</i>)	14
TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	15
MATERI DAN METODE PENELITIAN	18
Desain percobaan	18
Pemeliharaan ikan	20
Pengukuran parameter kualitas air	20
Perhitungan spesiasi Cu	23
Perhitungan spesiasi fosfat	24
Analisis data penelitian	24
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	26
Parameter kimia air	26
Parameter Efek Toksik	29
Penentuan MATC	35
Data EC sebagai pembanding MATC	37
Ekstrapolasi LC ₅₀ sebagai pembanding MATC	40
Penyingkapan fosfat	45
Batasan-batasan dalam interpretasi MATC dan EC terhitung	48
KESIMPULAN DAN SARAN	51
DAFTAR PUSTAKA	52
LAMPIRAN	54

DAFTAR TABEL

Tabel 1: Desain percobaan	19
Tabel 2: Pengukuran parameter kualitas air	21
Tabel 3: Ringkasan data penentuan MATC	30
Tabel 4: Data nilai Effective Concentration dari 3 parameter efek toksik	34

DAFTAR TABEL

Tabel 1: Desain percobaan	19
Tabel 2: Pengukuran parameter kualitas air	21
Tabel 3: Ringkasan data penentuan MATC	30
Tabel 4: Data nilai Effective Concentration dari 3 parameter efek toksik	34

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 : Konsentrasi dan proporsi spesies-spesies Cu	54
Lampiran 2 : Konsentrasi total Cu terukur pd kelompok perlakuan I (pH & Cu)	55
Lampiran 3 : Faktor biokonsentrasi (BCF)	56
Lampiran 4 : Konsentrasi dan proporsi spesies-spesies fosfat	57
Lampiran 5 : Nilai alkalinitas pada berbagai perlakuan pH & konsentrasi Cu	58
Lampiran 6 : Uji proporsi mortalitas ikan gupi muda pada perlakuan pH & Cu dengan Bartlett's Test	59
Lampiran 7 : Diagram hubungan alkalinitas dengan proporsi mortalitas	60
Lampiran 8 : Uji jumlah anak perinduk pada perlakuan pH & Cu dengan metode Kruskall Wallis	61
Lampiran 9 : Wilcoxon-rank sum test untuk jumlah anak ikan perinduk	63
Lampiran 10: Uji jumlah anak perinduk pada perlakuan Cu dengan metode Kruskall Wallis	64
Lampiran 11: Analisa data berat rerata ikan berumur 1 bulan dengan Bartlett's Test	66
Lampiran 12: Analisa derajat akumulasi Cu pada jaringan tubuh ikan pada perlakuan pH dan konsentrasi Cu dengan metode Kruskall Wallis	67
Lampiran 13: Perhitungan koefisien korelasi $[Cu(CO)_3]^\ominus$ vs Cu terakumulasi	68
Lampiran 14: Perhitungan LC_5 ikan muda	69
Lampiran 15: Perhitungan IC_{25} berat badan ikan muda	70
Lampiran 16: Uji proporsi mortalitas ikan gupi dewasa pada perlakuan pH dan konsnetrasi Cu dengan Bartlett's Test	71
Lampiran 17: Penentuan LC_{50} ikan dewasa	72
Lampiran 18: Data parameter kualitas air	73
Lampiran 19: Personalia penelitian	74
Lampiran 20: Biaya penelitian	77
Lampiran 21: Petikan Keputusan Proyek OPF	78

BAB I PENDAHULUAN

Pencemaran Cu pada ekosistem akuatik

Tembaga atau Cu di alam umumnya terdapat sebagai sulfida, oksida, atau karbonat. Deposit biji Cu dalam penambangan yang utama adalah CuFeS_2 (chalcopyrite) yang diperkirakan sebesar 50% dari total deposit. Jenis Cu yang lain yaitu Cu_2S (chalcocite), Cu_2O (cuprite) dan $\text{Cu}_2\text{CO}_3(\text{OH})_2$ (malachite). Penggunaan tembaga yang utama adalah sebagai konduktor. Selain itu logam ini juga digunakan untuk pembuatan uang logam dan kerajinan logam yang umumnya menggunakan campuran logam lain (Greenwood and Earnshaw, 1989). Pencemaran Cu pada ekosistem akuatik umumnya berasal dari penambangan tembaga (Greenwood and Earnshaw, 1989), penggunaan pupuk mengandung Cu dan penggunaan garam Cu untuk mengendalikan vegetasi akuatik dan moluska (van Gelder, 1979).

MATC, uji toksisitas dan baku mutu lingkungan

MATC (*maximum acceptable toxicant concentration*) adalah nilai hipotetik suatu ambang konsentrasi toksikan yang berada di antara *NOEC* dan *LOEC*. *NOEC* atau *no observable effect concentration* adalah konsentrasi tertinggi suatu bahan kimia dalam uji toksisitas yang tidak menyebabkan efek toksik secara signifikan pada populasi organisme uji dibandingkan populasi organisme kontrol. Sedangkan *LOEC*

atau *lowest observed effect concentration* adalah konsentrasi terendah suatu bahan kimia dalam uji toksisitas yang tidak menyebabkan efek toksik secara signifikan pada populasi organisme uji dibandingkan dengan populasi organisme kontrol. MATC dihitung berdasarkan mean geometrik dari NOEC dan LOEC. Dengan demikian urutan ketiga macam konsentrasi tersebut dapat digambarkan secara skematis sebagai $NOEC < MATC < LOEC$ (Rand et al., 1995)

Uji toksisitas kronis Cu pada ikan adalah penting karena Cu terakumulasi pada hati dan ginjal ikan (Roesijadi and Robinson, 1994). Dalam penelitian ini, MATC adalah data konsentrasi yang diperoleh dari alternatif uji kronis, yaitu uji toksisitas pada stadium larva dan ikan kepala timah umur muda. Efek atau respon toksisitas yang diteliti dan menjadi ukuran penentuan MATC adalah efek terhadap keberlangsungan hidup, reproduksi, pertumbuhan, dan kelainan struktur morfologi dan histologi. Keberlangsungan hidup diukur sebagai persentase jumlah anak ikan yang hidup dengan waktu pengamatan 28 hari. Reproduksi diukur sebagai jumlah anak ikan yang dihasilkan per induk. Pertumbuhan diukur sebagai berat badan rata-rata larva ikan dan ikan muda (Mc.Kim, 1995). Toksisitas Cu adalah tidak sama untuk setiap jenis (spesies) Cu yang terlarut di dalam air. Salah satu faktor utama yang mempengaruhi komposisi jenis (spesiasi) Cu di air yang juga merupakan faktor yang memodifikasi toksisitas Cu pada ikan adalah pH air (Stumm & Morgan, 1996). Oleh karena itu, adalah perlu bahwa MATC ditentukan untuk beberapa pH air yang berbeda. Sebagai tolak ukur dari MATC yang akan diteliti, acuan yang digunakan adalah konsentrasi

maksimum Cu yang dianjurkan bagi baku mutu kualitas air dengan peruntukkan perikanan dan peternakan (KEP-02/MENKLH/1/1988). Konsentrasi yang dimaksud adalah 0,02 ug/L dan dalam penelitian ini diasumsikan sebagai suatu MATC. Konsentrasi sebesar 0,02 ug/L tersebut tidak merujuk pada pH tertentu, meskipun peraturan tentang baku mutu yang sama menetapkan pH air bagi perikanan dan peternakan adalah antara 6 - 9.

Berdasarkan pertimbangan-pertimbangan mengenai aspek biologi (toksisitas), aspek kimia (spesiasi Cu), dan aspek legal pengelolaan lingkungan, MATC yang ditentukan dalam penelitian ini adalah MATC untuk pH air 6, 6,5 dan 7,0. Pertimbangan heterogenitas ekosistem akuatik di Indonesia dan keperluan penyusunan baku mutu lingkungan yang lebih adaptif untuk setiap daerah adalah hal lain yang dapat dijadikan pertimbangan. Data MATC yang akan diperoleh diharapkan dapat digunakan oleh para pengambil keputusan (*decision maker*) pada lembaga pemerintah dan industri yang terlibat dalam permasalahan logam pada ekosistem air tawar. Berdasarkan latar belakang masalah tersebut dapat dirumuskan bahwa MATC untuk Cu pada pH air 6, 6,5 dan 7,0, yang ditentukan berdasarkan respon /efek toksik Cu pada stadium larva-ikan muda pada ikan kepala timah, adalah berbeda.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

Spesiasi logam di lingkungan

Logam yang berasal dari sumber alami dan aktivitas industri mengalami proses menjadi dua bentuk. Bentuk pertama yaitu kompleks terikat dengan senyawa organik yang selanjutnya mengalami proses-proses redoks, fotokimia, dan biologis di lingkungan. Bentuk kedua yaitu ion-ion logam yang terdapat dalam larutan, sedimen, tanah dan partikulat. Mobilisasi dari kedua bentuk logam ini di lingkungan selanjutnya tergantung kepada senyawa-senyawa pengikat logam (*metal-binding ligands*) yang melibatkan reaksi-reaksi *metal-chelation*, *multiligand-complexation*, *mixed-ligand complexation*, dan *adsorption-complexation*. Istilah *complexation* adalah reaksi penggabungan logam dengan senyawa organik pengikat yang dapat dituliskan sebagai ML , ML_2 , ML_3 dan seterusnya dengan M adalah logam (*metal*) dan L adalah senyawa pengikat (*ligand*). Pembentukan kompleks-kompleks ini di lingkungan diatur oleh stabilitas termodinamik yaitu oleh konstanta reaksi pembentukan dan konstanta reaksi disosiasi pada konsentrasi yang berada di lingkungan. Identifikasi spesies logam di lingkungan (spesiasi) dan estimasi stabilitas logam di lingkungan adalah cara untuk memperkirakan ketersediaan secara biologi (*bioavailability*) dan memperkirakan toksisitas logam pada organisme di lingkungan (Fernando, 1995).

Spesiasi Cu di air tawar

Menurut Stumm dan Morgan (1996), senyawa Cu terlarut (*dissolved*) yang dominan dengan meningkatnya pH air adalah Cu^{2+} , $\text{CuCO}_{3(\text{aq})}$, $\text{Cu}(\text{CO}_3)_2^{2-}$, $\text{Cu}(\text{OH})_3^{1-}$, dan $\text{Cu}(\text{OH})_4^{2-}$. Tiga spesies Cu yang dominan pada pH air 6,0 hingga 7,0 adalah Cu^{2+} , $\text{CuCO}_3^0_{(\text{aq})}$, dan $\text{Cu}(\text{CO}_3)_2^{2-}$. Dari ketiga spesies ini, nampak bahwa selain sebagai ion logam (Cu^{2+}) Cu berikatan dengan ion karbonat (CO_3^{2-}). Ada banyak senyawa organik terlarut (*dissolved organic ligands*) selain ion bikarbonat yang berikatan dengan logam seperti halnya ion fosfat (PO_4^{3-}), sulfida (S^{2-}), dan sulfat (SO_4^{2-}). Pada air tawar, umumnya konsentrasi ion karbonat adalah jauh lebih tinggi dari ion-ion lainnya. Dalam model spesiasi logam di air tawar, umumnya hanya karbonat yang diperhitungkan sebagai *ligand* yang mempengaruhi spesiasi. Spesies-spesies karbonat adalah H_2CO_3 , HCO_3^- dan CO_3^{2-} yang komposisinya ditentukan oleh pH air dan konstanta disosiasi asam lemah (K_a). Pada pH air tawar 6,0 hingga 7,0 spesies karbonat yang dominan adalah H_2CO_3^* dan ion karbonat (HCO_3^{1-}) (Stumm & Morgan, 1996)

Ion Cu sebagai Cu^{2+} tergolong sebagai kation logam transisi sedangkan Cu^+ tergolong sebagai kation logam tipe B atau tipe "lunak". Ion logam tipe B melakukan koordinasi terutama dengan basa yang mengandung I, S dan N sebagai atom donor. Kation logam tipe B ini membentuk sulfida yang tidak larut dan kompleks terlarut

dengan S^{2-} dan HS^- . Sebagai kation logam transisi, Cu^{2+} memiliki stabilitas yang lebih besar dari pada Mn^{2+} , Fe^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} dan Zn^{2+} (Stumm & Morgan, 1996).

Penggunaan fosfat dan reaksi fosfat di air tawar

Asam fosfat membentuk beberapa macam garam dengan penggantian atom H oleh berbagai kation. Dua diantaranya adalah $Na_2HPO_4 \cdot n H_2O$ ($n = 0, 2, 7, 8, 12$) dan $NaH_2PO_4 \cdot n H_2O$ ($n = 0, 1, 2$). Na_2HPO_4 digunakan secara meluas sebagai *buffer*, pada konsentrasi kurang lebih 2% digunakan sebagai agen emulsi untuk pembuatan keju. Sebagai *buffer*, campuran Na_2HPO_4 dan NaH_2PO_4 mempertahankan pH dengan baik pada interval pH 3,5 dan 9,5. Berdasarkan sifat keasamannya, asam fosfor digunakan dalam pembuatan minuman, katalis, pengolahan air, pengecoran dan pemisahan logam. Berdasarkan sifat polaritasnya, asam fosfor digunakan untuk ekstraksi logam, flotasi mineral, tambahan pelumas dan detergen. Berdasarkan sifat biologinya, asam fosfor digunakan sebagai pengawet makanan, pupuk, tambahan pakan hewan, penguraian selulosa dan agen abrasi pada pasta gigi (Greenwood & Earnshaw, 1989).

Kelarutan kompleks logam dengan fosfat tergantung pada pH, salinitas, dan temperatur. Pada pH netral, kompleks presipitat fosfat yang pertama kali terbentuk adalah $Ca_3(PO_4)_2$ yang kemudian mengalami transformasi menjadi kompleks hidroksipatit [$Ca_5(PO_4)_3(OH)$] dan akhirnya menjadi kompleks yang sulit larut yaitu fluoropatit [$Ca_5(PO_4)_3F$]. Pada ekosistem akuatik, fosfat inorganik dalam air

diabsorpsi 50% oleh fitoplankton dalam waktu 1 menit dan 80% dalam waktu 3 menit. Ada 3 spesies fosfat inorganik dalam reaksi keseimbangan yaitu PO_4^{3-} , HPO_4^{2-} dan H_2PO_4^- . Ketiga spesies fosfat inorganik tersebut berikatan dengan ion-ion logam seperti dengan Ca^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Al^{3+} , dan dengan CO_2 dan H_3O^+ untuk membentuk kompleks fosfat inorganik yang tidak larut dan mengalami sedimentasi. Fitoplankton yang mati membebaskan fosfat organik terlarut yang berada dalam reaksi keseimbangan dengan fosfat bentuk koloid. Konsentrasi fosfat semakin besar dengan semakin dalam badan air (Greenwood & Earnshaw, 1989). Rerata konsentrasi fosfat pada air tawar adalah 0,7 μM yang seribu kali lebih kecil dibandingkan dengan rerata konsentrasi karbonat yaitu 0,97 mM yang merupakan senyawa organik utama di air tawar (Morel & Herring, 1993).

Penyingkapan Cu pada ikan

Penyingkapan (*exposure*) adalah derajat kontak antara organisme dengan agen kimia atau fisika yang ada di lingkungan (Suter, 1995). Dalam penelitian ini, pemaparan yang dimaksud adalah derajat kontak antara ikan kepala timah dengan Cu yang terdapat di air tawar. Proses pemaparan ini dimulai dengan absorpsi Cu melalui insang yang kemudian diedarkan ke seluruh tubuh melalui sistim peredaran darah. Metabolisme / biotransformasi senyawa Cu kemudian terjadi di hati. Hasil metabolisme dikembalikan ke sistim peredaran darah untuk di filtrasi di ginjal. Metabolit terfiltrasi kemudian dieksresikan kembali ke air (Roesijadi & Robinson, 1994).

Beberapa faktor dapat mempengaruhi absorpsi dan ketersediaan logam di air, misalnya bahan organik terlarut dan total zat padat terlarut (*total dissolved solid*). Umumnya logam diabsorpsi dalam bentuk ion. Affinitas sel-sel pada insang terhadap Cu adalah lebih rendah dari pada affinitas terhadap Ca. Absorpsi sel-sel insang terhadap logam adalah berbanding terbalik dengan afinitasnya. Dengan demikian Cu yang memiliki afinitas rendah akan lebih banyak diabsorpsi dari pada kalsium. Mekanisme pengambilan logam pada sel-sel insang diasumsikan sebagai difusi sederhana. Laju pengambilan logam ini terkait dengan laju metabolisme. Ikan muda memiliki laju respirasi atau laju air yang melewati jaringan insang lebih cepat dari pada hal yang sama pada ikan dewasa sehingga memiliki laju metabolik yang lebih cepat. Dengan demikian ikan muda mengakumulasi logam relatif lebih cepat dibandingkan dengan ikan dewasa (Heath, 1995). Nilai MATC uji 30 hari yang dilaporkan untuk Cu adalah 11,4 - 31,7 ug/L pada *rainbow trout* pada temperatur uji 11°C, dan 12,9 - 33,8 ug/L pada *white sucker* pada temperatur uji 16°C (Mc.Kim, 1995).

Efek toksik Cu pada ikan

Efek toksik logam umumnya disebabkan oleh ikatan non-spesifik antara kation logam yang reaktif dengan makromolekul yang penting secara biologi yang selanjutnya menyebabkan gangguan fungsi makromolekul. Dalam tubuh organisme terdapat berbagai jenis makromolekul. Distribusi logam pada beberapa kelompok

makromolekul adalah penting untuk mempertahankan homeostasis logam dan fungsi sel yang optimal. Pada tingkat seluler, metabolisme logam meliputi ikatan logam dengan *metallothionein* dan *phytochelatin* yaitu protein-protein yang mengikat logam dan terinduksi oleh adanya logam. Protein-protein ini dapat mengurangi interaksi logam dengan makromolekul sehingga mengurangi efek toksik logam. Akumulasi logam subseluler tergantung pada berbagai faktor seperti rute penyingkapan, tipe jaringan, spesies dan stadium perkembangan. Pengambilan dan metabolisme logam tergantung kepada interaksi ion logam bebas dengan berbagai senyawa yang mengikat logam. Distribusi ini dapat berubah-ubah tergantung kepada konsentrasi ion logam bebas atau senyawa pengikat logam (Di Giulio et al, 1995).

Cu adalah salah satu elemen mikro dari mineral yang dibutuhkan dalam nutrisi dan merupakan penyusun (kofaktor) untuk beberapa enzim diantaranya sitokrom-c-oksidas dan askorbat-oksidas (Stumm & Morgan, 1996). Spesiasi Cu mempunyai hubungan dengan efek toksik karena toksisitas masing-masing spesies Cu terhadap ikan adalah tidak sama. Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa konsentrasi ion logam atau dalam hal ini adalah Cu^{2+} merupakan parameter yang lebih baik dibandingkan dengan parameter konsentrasi logam (Cu) total untuk penentuan toksisitas logam (Roesijadi & Robinson, 1994). Beberapa jenis efek Cu pada ikan adalah mengubah konsumsi O_2 pada *Lepomis macrochirus* pada konsentrasi Cu yang lebih besar dari 0.01 ppm (O'Hara, 1971), dan menghambat pertumbuhan larva *Chinook salmon* pada 0.02 ppm (Hazel & Meith, 1970). Penyingkapan Cu secara

subletal selama 1 minggu yang diikuti dengan hipoksia dapat menyebabkan stress yang berlebihan pada ikan *Lepomis macrochirus*. Hipoksia pada waktu malam menyebabkan stress yang lebih berat dan periode kesembuhan yang tertunda (Heath, 1995). Cu menyebabkan gangguan pada proses osmoregulasi pada ikan dengan menghambat pengambilan sodium dan klorida oleh insang. Penghambatan ini mungkin disebabkan oleh efek inhibisi Cu pada NaK.ATP ase pada jaringan insang yang selanjutnya mengakibatkan translokasi air dari darah ke sel-sel jaringan sehingga terjadi hemokonsentrasi. Penurunan pH dan alkalinitas menyebabkan peningkatan toksisitas terhadap Cu (Heath, 1995).

Stress protein adalah protein yang berperan dalam homeostasis logam dan terinduksi dengan adanya penyingkapan logam. Beberapa bentuk *stress protein* adalah stress90, stress70 dan cpn60 yaitu molekul *chaperone* yang dalam kondisi normal mengatur pelipatan dan pembentukan molekul protein lain. Induksi *stress protein* pada jaringan target merupakan peringatan awal efek toksik pada tingkat organisme. Akumulasi hsp60 pada *mussel* memiliki hubungan kuat dengan konsentrasi penyingkapan Cu pada air. *Stress protein* juga dapat menjelaskan fenomena adaptasi organisme terhadap stressor alami dan anthropogenik. Hal yang perlu diperhatikan adalah bahwa sintesis *stress protein* juga terjadi dalam kondisi normal dan peningkatannya pada organisme yang hidup di lingkungan tercemar harus terjadi dalam waktu yang lama (Di Giulio et al, 1995).

Uji toksisitas pada stadium larva-ikan muda

Uji toksisitas kronis umumnya dilakukan selama umur hidup organisme uji (*whole life cycle toxicity test*). Kendala-kendala uji toksisitas kronis adalah waktu yang lama dan biaya yang relatif besar. Untuk mengatasi kendala ini, uji-uji toksisitas pada sebagian siklus hidup (*partial life cycle toxicity tests*) merupakan alternatif-alternatif untuk uji kronis. Dari keseluruhan stadium hidup ikan, tahap perkembangan awal ikan adalah tahap yang paling sensitif terhadap efek toksik dengan hasil uji yang tidak jauh berbeda dengan yang dihasilkan oleh uji kronis. Memperhatikan kendala-kendala yang dihadapi oleh uji kronis, adalah cukup beralasan bahwa uji toksisitas pada tahap larva dan ikan muda (*early life stage toxicity test*) merupakan alternatif terbaik bagi uji toksisitas kronis (Mc.Kim, 1995).

LC₅₀ dan ekstrapolasi LC₅₀ ke MATC

LC₅₀ adalah konsentrasi toksikan di dalam air yang penyingkapannya terhadap suatu spesies organisme akuatik menyebabkan kematian 50% organisme uji. LC₅₀ umumnya dinyatakan dalam kaitan dengan periode uji yaitu LC₅₀ 24 jam; LC₅₀ 48 jam; LC₅₀ 72 jam dan LC₅₀ 96 jam. Ada tiga cara untuk memperoleh nilai LC₅₀. Cara pertama adalah dengan observasi langsung dari suatu eksperimen yang menyebabkan kematian 50% organisme uji. Cara yang kedua adalah dengan interpolasi yaitu penentuan atau estimasi berdasarkan dua data. Data pertama adalah konsentrasi yang

menyebabkan kematian kurang dari 50% organisme uji dan data kedua dalam konsentrasi yang menyebabkan kematian lebih dari 50% organisme uji. Cara yang ketiga adalah dengan kalkulasi atau perhitungan yaitu bahwa nilai LC_{50} diperoleh secara analisa statistik dari data mortalitas organisme uji pada semua konsentrasi toksikan yang diujikan (Rand et al., 1995)

Ekstrapolasi yang umum digunakan dalam Analisis Resiko Lingkungan yang dan berkenaan dengan faktor ketidakpastian (*uncertainty factor*) adalah ekstrapolasi toksisitas akut ke toksisitas kronis. Dalam hal ini faktor ketidakpastian dinyatakan sebagai faktor aplikasi (*application factor*). Data hasil eksperimen yang digunakan adalah LC_{50} 96 jam pada suatu organisme akuatik dan data ini digunakan untuk penentuan atau estimasi MATC pada spesies organisme akuatik yang sama (Calabrese & Baldwin, 1993).

Faktor biokonsentrasi

Biokonsentrasi adalah akumulasi senyawa kimia secara langsung dari air ke dalam tubuh organisme akuatik yang disebabkan oleh pengambilan dan eliminasi yang bersamaan. Faktor biokonsentrasi adalah ukuran yang menjelaskan derajat akumulasi senyawa kimia dalam tubuh organisme akuatik melalui penyingkapan bahan kimia di dalam air. Faktor biokonsentrasi dihitung berdasarkan rasio atau perbandingan

konsentrasi bahan kimia pada jaringan tubuh organisme dengan konsentrasi merata bahan kimia di dalam air (Rand, 1995).

Connell (1993) menjelaskan bahwa teori mengenai biokonsentrasi umumnya berkenaan dengan senyawa organik yang meliputi proses keseimbangan kimia antara organisme dengan medium air disekitarnya. Hubungan ini dapat dijelaskan dalam rumus umum sebagai $C_b = K_b C_w^{1/n}$ dengan C_b adalah konsentrasi toksikan dalam organisme, K_b adalah faktor biokonsentrasi, C_w adalah konsentrasi toksikan dalam air dan $1/n$ adalah konstanta non-linier. Pada konsentrasi toksikan yang sangat tinggi, konstanta tersebut sangat jauh dari sifat linier sedangkan pada konsentrasi toksikan yang sangat rendah konstanta mendekati sifat linier sehingga nilai $1/n$ mendekati 1 dan rumus tersebut dapat dituliskan sebagai $C_b = K_b C_w$ atau $K_b = C_b / C_w$.

Ada 6 asumsi dalam penentuan atau perhitungan faktor biokonsentrasi berdasarkan model kompartemen tunggal dengan data dari hasil eksperimen. Asumsi pertama adalah bahwa setiap organisme bertindak sebagai suatu kompartemen. Asumsi kedua adalah bahwa pemasukan toksikan dari air adalah sumber satu-satunya dan secara langsung berbanding proporsional dengan konsentrasi toksikan di dalam air. Asumsi ketiga adalah bahwa semua molekul toksikan yang teresidu di dalam tubuh ikan terdapat dalam suatu kompartemen umum (*common pool*). Asumsi selanjutnya adalah bahwa semua molekul toksikan dalam tubuh ikan memiliki kesempatan yang sama untuk dieliminasi. Asumsi kelima adalah bahwa eliminasi diasumsikan

mengikuti ordo satu yaitu bahwa eliminasi berbanding lurus dengan konsentrasi toksikan di dalam tubuh ikan. Asumsi terakhir adalah bahwa ukuran atau volume dari kompartemen tidak mengalami perubahan selama masa studi atau penelitian yang juga secara implisit mengasumsikan bahwa tidak terjadi pertumbuhan selama masa studi (Calabrese & Baldwin, 1993).

Ikan gupi (*Poecilia reticulata*)

Sifat reproduksi gupi adalah menghasilkan larva yang telah menetas dan bukan menghasilkan telur yang kemudian menetas. Jumlah anak perinduk yang dihasilkan oleh induk gupi sangat bervariasi dan tergantung kepada umur induk. Induk muda umumnya menghasilkan 2-3 ekor anak perinduk sedangkan induk yang lebih dewasa dapat menghasilkan belasan bahkan puluhan anak perinduk. Induk gupi matang secara reproduksi pada waktu berumur 3 bulan dan lama periode gestasi atau kebuntingan adalah sekitar 28 hari. Pada masa mendekati periode reproduksi, kebutuhan makan meningkat. Untuk mempersiapkan keberadaan larva, tanaman air yang mengapung ditambahkan ke dalam akuarium. Karena tanaman ini mengekskresikan sisa nitrogen ke dalam air dan menurunkan kadar karbon dioksida dalam air, frekuensi pembersihan kotoran lebih ditingkatkan. Larva dengan cepat berenang di permukaan air dalam waktu beberapa jam setelah dikeluarkan dari induk (Hawkins et al, 1995).

BAB III

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

Tujuan penelitian

1. Menentukan MATC masing-masing untuk Cu total dan Cu^{2+} pada populasi ikan kepala timah pada pH 6,0; 6,5 dan 7,0 berdasarkan respon-respon: jumlah anak ikan per induk, persentase anak ikan yang hidup, berat badan anak ikan umur 1 bulan, dan derajat akumulasi Cu pada tubuh ikan.
2. Membandingkan data MATC Cu total dengan data MATC spesies-spesies Cu dan menentukan MATC berdasarkan grafik hubungan konsentrasi dengan respon (*concentration-response relationship*).

Manfaat Penelitian

Penelitian ini akan memberikan manfaat pada pembangunan / pengelolaan lingkungan hidup dalam tiga hal.

Manfaat I: Percontohan (rekomendasi) metoda pelengkap selain pengukuran total logam pada Baku Mutu Air

Baku mutu lingkungan (KEP-02/MENKLH/I/1988) mengatur tentang konsentrasi logam total dan tidak meliputi masing-masing spesies logam. Untuk mengetahui

spesies-spesies dimaksud, metode analitik rutin untuk pengukuran spesies-spesies logam belum tersedia dan dibakukan (Roesijadi & Robinson, 1994). Salah satu pemecahan untuk hal ini adalah menggunakan model spesiasi logam (Allison et al., 1991) untuk memprediksi konsentrasi spesies-spesies Cu dengan input data berupa pH, konsentrasi Cu total, dan konsentrasi karbonat total yang diketahui dengan pengukuran di laboratorium dan perhitungan menurut Stumm & Morgan (1996).

Manfaat II: Percontohan (rekomendasi) metoda penentuan konsentrasi logam yang diijinkan (MATC) untuk perikanan komersial

Efek toksik yang umumnya diamati pada uji toksisitas skala laboratorium adalah kematian, yang ditentukan berdasarkan LC_{50} atau konsentrasi senyawa kimia yang menyebabkan kematian pada 50% organisme uji. Hal ini diasumsikan kurang relevan sebagai efek toksik terhadap ikan pada pengelolaan kualitas air terkait dengan perikanan komersial. Efek yang diamati pada penelitian adalah hal-hal yang lebih realistis yaitu tingkat kematian sebesar 5%, penurunan berat badan sebesar 20%, dan penurunan jumlah anak ikan per ikan 20% dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Manfaat III: Suatu sumber data uji toksisitas skala laboratorium pada ikan kepala timah yang relevan dengan kondisi lingkungan di Indonesia

MATC untuk Cu pada berbagai jenis ikan telah dilakukan (Mc.Kim, 1995) namun umumnya dilakukan pada temperatur air berkisar antara 6 - 16°C. Dengan penelitian pada temperatur air 26-28°C, data yang akan diperoleh diharapkan lebih sesuai dengan temperatur air tawar pada umumnya di Indonesia. Uji toksisitas skala laboratorium pada ikan kepala timah umumnya dilakukan dengan lama penyinaran selama 16 jam dan tanpa penyinaran (gelap) selama 8 jam (Hawkins et al., 1995). Hal ini kurang sesuai dengan kondisi di Indonesia yang umumnya mempunyai lama penyinaran dan tanpa penyinaran masing-masing selama 12 jam. Lama penyinaran ini diasumsikan akan mempengaruhi tingkah laku makan ikan. Dengan demikian, data yang akan diperoleh diharapkan lebih sesuai dengan keadaan di lingkungan sebenarnya.

MATERI DAN METODA PENELITIAN

Desain percobaan

Populasi ikan digolongkan dalam 2 kelompok, yaitu kelompok I yang menerima perlakuan variasi pH dan konsentrasi Cu dan kelompok II yang hanya menerima perlakuan variasi konsentrasi Cu dalam air. Pada masing-masing kelompok digunakan 3 macam konsentrasi Cu yaitu 0,010ug/L; 0,015 ug/L; dan 0,020 ug/L. Konsentrasi 0,010 ug/L dapat digunakan sebagai kontrol memperhatikan bahwa kadar maksimum untuk total Cu yang dianjurkan pada baku mutu kualitas air golongan C adalah 0,02 ug/L dan bukan 0 ug/L (KEP-02/ MENKLH/I/1988). Dengan kata lain, mengasumsikan kadar total Cu pada kelompok kontrol sebesar 0 ug/L sebagaimana peruntukan untuk air minum (golongan A dan B) adalah tidak relevan. Selain itu, pemaparan sebesar 0 ug/L di alam adalah hal yang kurang relevan memperhatikan bahwa Cu adalah termasuk trace element (< 1 nM) yang pengukurannya ditentukan oleh kemampuan limit deteksi dari instrumen analitik. Desain percobaan secara skematis dijelaskan pada Tabel 1.

Parameter jumlah anak ikan perinduk dan persentase anak ikan yang hidup diamati pada 9 akuarium yang terdapat dalam kelompok percobaan I atau perlakuan pH dan konsentrasi Cu. Persentase anak ikan yang hidup diamati dengan melakukan uji

toksisitas 96 jam untuk penentuan konsentrasi yang menyebabkan kematian pada 5% populasi uji (LC_5). Parameter berat badan ikan muda berumur 1 bulan diamati pada dapat dilakukan pencatatan terhadap berat badan pada waktu berumur 1 bulan. Anak ikan diperoleh dari induk yang tidak tersingkap oleh Cu dan secara acak ke dalam masing-masing akuarium dimasukkan 16 ekor anak ikan dan diamati setiap 24 jam hingga mencapai batas waktu 96 jam. Derajat akumulasi Cu dilakukan pada ikan dewasa pada kelompok percobaan II dengan pertimbangan ikan dapat hidup lama sehingga mampu mengakumulasi Cu. Ikan yang dipilih hanya induk (ikan betina) dengan pertimbangan bahwa ukurannya relatif lebih besar dari pada ikan jantan sehingga kemampuan akumulasinya diperkirakan akan lebih besar.

Tabel 1: Desain percobaan

	Konsentrasi Cu total (ug/L)								
	0,010			0,015			0,020		
Respon	6,0	6,5	7,0	6,0	6,5	7,0	6,0	6,5	7,0
Σ anak ikan/induk									
% anak ikan yg hidup									
Berat badan anak ikan									
Derajat akumulasi Cu									

Pemeliharaan ikan

Ikan berumur 2 bulan dipelihara dalam akuarium dengan volume 12 liter dengan tingkat kepadatan 3 ikan per liter. Perbandingan jumlah ikan jantan dengan ikan betina adalah 1:3 atau setiap akuarium berisi 9 ikan jantan dan 27 ikan betina. Ikan diberi makanan cacing dan makanan kering komersial dua kali perhari. Pada setiap pergantian air akuarium, ikan ditimbang dan hasilnya dicatat. Penyinaran lampu tidak dilakukan sehingga lamanya penerangan akuarium dengan sinar matahari adalah 12 jam per hari (jam 6 pagi-jam 6 sore). Pada umur 3 bulan ikan betina telah siap untuk reproduksi dan lama kebuntingan adalah sekitar 28 hari. Kelahiran anak ikan berlangsung dalam beberapa hari. Jumlah anak yang dilahirkan perinduk dalam akuarium di catat. Larva yang berasal dari akuarium dengan perlakuan tertentu segera dipisahkan dalam akuarium yang lain namun dengan perlakuan (konsentrasi Cu total) yang sama. Anak ikan diberi makan makanan kering dua kali perhari. Perlakuan dihentikan setelah ikan muda berumur 28-32 hari.

Pengukuran parameter kualitas air

Akuarium dipertahankan dalam temperatur konstan yaitu 26 - 28°C. Air dalam akuarium diganti setiap tiga hari. Senyawa kimia Cu yang digunakan adalah CuO(s) pada lima tingkat konsentrasi yaitu 0,005; 0,010; 0,015; 0,020 dan 0,025 ug/L. Penentuan pH air dilakukan menurut titrasi dengan menggunakan buffer karbonat berdasarkan perhitungan menurut Stumm & Morgan (1996). Air yang digunakan

adalah berasal dari laboratorium Fakultas Biologi UKDW. Beberapa parameter kualitas air diukur dengan metode sebagaimana dijelaskan dalam Tabel 2.

Tabel 2: Pengukuran parameter kualitas air

Parameter	Metode Analisis ¹ / Instrumen
Konsentrasi Cu total	spektrofotometrik / Spectrophotometer DR/2000 ²
pH	potensiometrik / pH meter
DO	titrimetrik / Spectrophotometer DR/2000
Karbonat total	titrasi menurut Gran ³
Fosfat	spektrofotometrik / Spectrophotometer DR/2000 ²

1. KEP-02/MENKLH/I/1988* 2) Hach Company, 1988 3) Stumm & Morgan, 1996 4) Mc.Kim, 1995

Fosfat diukur dengan menggunakan HACH DR 2000 Spectrophotometer pada panjang gelombang 890 nm. Metode yang digunakan adalah ascorbic Acid dengan reagen PhosVer 3. Satuannya adalah mg/L.. DO diukur dengan metode mikro winkler yaitu dengan mengambil 40 ml sampel lalu ditambahkan $MnSO_4$ 8 tetes, NaOH. NaI 8 tetes dan H_2SO_4 8 tetes kemudian didiamkan selama 15 menit. Setelah itu di titrasi dengan Na_2SO_3 sampai warna kuning muda, kemudian tambahkan 3 tetes amilum lalu di titrasi kembali sampai warna bening dan volume titrasi dihitung. Apabila digunakan skala 100 maka dikalikan dengan 0,04 dan jika digunakan skala 80 maka dikalikan 0,05. Satuannya adalah mg/l.

Kekeruhan diukur dengan menggunakan HACH DR 2000 Spectrophotometer pada panjang gelombang 450 nm. Metodenya adalah Potensiometri dan satuannya adalah mg/l.

Alkalinitas diukur dengan metode indikator warna yaitu dengan menambahkan beberapa tetes indikator fenolftalain pada 100 ml sampel air yang berada dalam beker 200 ml. Bila larutan tidak berwarna berarti OH^- dan CO_3^{2-} kecil sekali atau nilai $P = 0$. Kalau warnanya merah lembayung, titrasikan dengan asam H_2SO_4 0,02 N sampai tidak berwarna. Setiap $\pm 0,05$ ml penambahan asam, tunggulah sampai berwarna jelas, bila warna mulai berkurang penambahan volume titran semakin kecil. Volume yang diperlukan sampai warna larutan hilang merupakan nilai terukur. Lalu ditambahkan beberapa tetes indikator methyl orange, warna larutan menjadi kuning orange. Dititiasi sampai warna merah muda (bila telah menjadi merah, artinya pH larutan telah melewati titik ekuivalensi). Jumlah volume titran (termasuk nilai P) merupakan nilai T . Indikator-indikator diatas berfungsi sebagai nilai pH, dan perubahan warna terjadi sekitar titik akhir reaksi-reaksi alkaliniti yaitu pada pH 8,3 dan 4,5.

Cu dalam air dianalisis dengan AAS (Atomic Absorption Spectrophotometer) diukur dengan menggunakan AA 1600 Spectrophotometer pada panjang gelombang 324,8 nm dan satuannya adalah mg/l. Analisis

Kekeruhan diukur dengan menggunakan HACH DR 2000 Spectrophotometer pada panjang gelombang 450 nm. Metodenya adalah Potensiometri dan satuannya adalah mg/l.

Alkalinitas diukur dengan metode indikator warna yaitu dengan menambahkan beberapa tetes indikator fenolftalain pada 100 ml sampel air yang berada dalam beker 200 ml. Bila larutan tidak berwarna berarti OH^- dan CO_3^{2-} kecil sekali atau nilai $P = 0$. Kalau warnanya merah lembayung, titrasikan dengan asam H_2SO_4 0,02 N sampai tidak berwarna. Setiap $\pm 0,05$ ml penambahan asam, tunggulah sampai berwarna jelas, bila warna mulai berkurang penambahan volume titran semakin kecil. Volume yang diperlukan sampai warna larutan hilang merupakan nilai terukur. Lalu ditambahkan beberapa tetes indikator methyl orange, warna larutan menjadi kuning orange. Ditritasi sampai warna merah muda (bila telah menjadi merah, artinya pH larutan telah melewati titik ekuivalensi). Jumlah volume titran (termasuk nilai P) merupakan nilai T . Indikator-indikator diatas berfungsi sebagai nilai pH, dan perubahan warna terjadi sekitar titik akhir reaksi-reaksi alkalinitas yaitu pada pH 8,3 dan 4,5.

Cu dalam air dianalisis dengan AAS (Atomic Absorption Spectrophotometer) diukur dengan menggunakan AA 1600 Spectrophotometer pada panjang gelombang 324,8 nm dan satuannya adalah mg/l. Analisis

logam Cu dalam ikan dilakukan dengan menggunakan metode AAS (Atomic Absorbtion Spectrophotometri). Ikan dimasukan dalam cawan platina dan ditimbang dengan neraca analitik. Dikeringkan dalam oven pada suhu 100 C° dan kemudian dibakar dengan oven ada suhu 1000 C°.Dilarutkan dalam HCl dan HNO3 pekat hingga larut sempurna, dikocok sampai homogen. Dianalisis dengan AAS pada panjang gelombang 324,8 nm.

Perhitungan spesiasi Cu

Ada 3 spesies utama Cu yang dihitung yaitu Cu^{2+} , $\text{CuCO}_{3(aq)}$, dan $\text{Cu}(\text{CO}_3)_2^{2-}$. Urutan penghitungan konsentrasi dan proporsi spesies Cu adalah sbb:

1. Menyusun keseimbangan mol Cu

$$[\text{Cu total}] = [\text{CuCO}_{3(aq)}] + [\text{Cu}(\text{CO}_3)_2^{2-}] + [\text{Cu}^{2+}]$$

2. Menentukan hubungan spesies Cu dengan Cu^{2+}

$$[\text{Cu total}] = [\text{Cu}^{2+}] \{ 10^{6,77} [\text{CO}_3^{2-}] + 10^{10,01} [\text{CO}_3^{2-}]^2 + 1 \}$$

Konstanta dan penjelasan lebih rinci dapat dibaca pada Stumm & Morgan (1996)

3. Menghitung konsentrasi masing-masing spesies Cu berdasarkan perbandingan relatif ($10^x : 1$) dengan Cu^{2+} terhitung.
4. Menghitung proporsi/persentase masing-masing spesies Cu berdasarkan perbandingan konsentrasi masing-masing spesies Cu dengan konsentrasi total Cu.

Perhitungan spesiasi fosfat

Ada 4 spesies utama fosfat yang dihitung yaitu H_3PO_4 , H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} dan PO_4^{3-} .

Urutan penghitungan konsentrasi spesies fosfat adalah sbb:

1. Menyusun keseimbangan mol fosfat

$$[\text{Fosfat total}] = [\text{H}_3\text{PO}_4] + [\text{H}_2\text{PO}_4^-] + [\text{HPO}_4^{2-}] + [\text{PO}_4^{3-}]$$

2. Menentukan hubungan spesies fosfat dengan PO_4^{3-}

$$[\text{Fosfat total}] = [\text{PO}_4^{3-}] \{10^{15,7} + 10^{13,55} + 10^{6,35} + 1\}$$

[Fosfat total] diperoleh dengan pengukuran dan $[\text{PO}_4^{3-}]$ dapat dihitung

Konstanta dan penjelasan lebih rinci dapat dibaca pada Stumm & Morgan (1996).

3. Menghitung konsentrasi masing-masing spesies fosfat berdasarkan perbandingan relatif ($10^x : 1$) dengan PO_4^{3-} terhitung.

4. Menghitung proporsi/persentase masing-masing spesies fosfat berdasarkan perbandingan konsentrasi masing-masing spesies fosfat dengan konsentrasi total fosfat.

Analisis data penelitian

Dari kelima macam data respon yang diamati, tiga respon merupakan data kontinyu - skalar, yaitu berat badan anak ikan, persentase anak ikan yang hidup, dan persentase anak ikan dengan kelainan morfologi. Dalam hal ini metode analisis yang digunakan adalah Bartlett's Test (Elliessieck and La Point, 1995), yaitu metode yang

membandingkan variabilitas data kontinyu-skalar untuk tiga kelompok atau lebih. Dalam analisis ini, data respon untuk setiap kelompok perlakuan dibandingkan dengan respon untuk kelompok kontrol. Respon berupa jumlah anak ikan per induk adalah tergolong jenis data kuantal. Oleh karena itu metode analisis yang digunakan adalah Fischer's Exact Test dengan tabel kontingensi 2 X 2 untuk setiap perbandingan data kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol. Data derajat akumulasi Cu pada jaringan adalah tergolong data kontinyu - ranking. Metode analisis yang digunakan untuk data ini adalah Kruskal-Wallis Test, yaitu metode statistik non-parametrik untuk data ranking bagi 3 kelompok atau lebih (Elliott and La Point, 1995).

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Parameter kimia air

Konsentrasi dan spesiasi Cu

Konsentrasi Cu yang digunakan dalam penelitian yaitu 0,010 ug/L ($1,57 \times 10^{-10}$ M), 0,015 ug/L ($2,36 \times 10^{-10}$ M) dan 0,020 ug/L ($3,15 \times 10^{-10}$ M) baik pada kelompok percobaan I (perlakuan pH dan konsentrasi Cu) maupun pada kelompok percobaan II (perlakuan konsentrasi Cu). Pada kelompok percobaan I, spesies Cu yang dominan adalah bervariasi sesuai pH. Pada pH 6,0, spesies yang dominan adalah Cu^{2+} yang berkisar antara 62% - 68% dari jumlah total Cu (Lampiran 1). Pada pH 6,5 spesies yang dominan adalah $\text{CuCO}_3^0_{(aq)}$, yang berkisar antara 71% - 82% dari jumlah total Cu sedangkan pada pH 7,0 spesies yang dominan adalah $\text{CuCO}_3^0_{(aq)}$ dengan proporsi yang lebih besar yaitu 90% - 93% dari jumlah total Cu.

Spesiasi sebagaimana yang terjadi pada penelitian adalah sesuai dengan yang dijelaskan oleh Stumm dan Morgan (1996) bahwa spesies yang mendominasi hingga pH 6,0 adalah Cu^{2+} sedangkan $\text{CuCO}_3^0_{(aq)}$ mendominasi pada pH antara 6,0 dan 9,3. Spesies lain adalah $\text{Cu}(\text{CO}_3)_2^{2-}$ yang jumlahnya kurang dari 1% untuk total Cu (Lampiran 1). Spesies ini tidak dominan pada pH 6,0-7,0 tetapi pada pH 9,3 -10,7.

Beberapa spesies Cu yang lain adalah $\text{Cu}(\text{OH})_2$, $\text{Cu}(\text{HPO}_4)^-$ dan $\text{Cu}(\text{H}_2\text{PO}_4)^+$, yang proporsinya sangat kecil atau kurang dari 1% dan tidak dibahas dalam analisa lebih lanjut.

Hasil pengukuran konsentrasi total Cu umumnya menunjukkan konsentrasi yang lebih rendah dibandingkan dengan konsentrasi sebagaimana yang telah ditentukan pada awal percobaan. Hal ini menunjukkan bahwa sebagian Cu mungkin telah mengalami biokonsentrasi ke dalam tubuh ikan. Penghitungan kadar spesies-spesies Cu pada kelompok percobaan I didasarkan pada konsentrasi total Cu terukur dan bukan pada konsentrasi awal Cu (Lampiran 1). Dengan demikian diharapkan data konsentrasi spesies Cu terhitung adalah lebih mewakili keadaan yang sebenarnya. Pengamatan secara sederhana dari data pada Lampiran 1 menunjukkan bahwa konsentrasi total Cu terukur adalah berkisar antara 50% hingga 75% dari konsentrasi awal total Cu.

Pada kelompok percobaan II pada waktu akhir percobaan, konsentrasi Cu pada semua akuarium tidak terdeteksi. Limit deteksi untuk Cu dalam air adalah 0,010 ug/L.

Dengan demikian konsentrasi Cu pada kelompok percobaan II adalah kurang dari 0,010 ug/L. (Lampiran 2). Rendah atau tidak terdeteksinya konsentrasi Cu diduga berhubungan dengan proses biokonsentrasi Cu dari air ke dalam tubuh ikan gupi.

Besarnya faktor biokonsentrasi terukur berdasarkan perbandingan kadar Cu dalam tubuh ikan dengan kadar total Cu dalam air adalah antara 1.400.000 hingga

18.800.000 (Lampiran 3). Pada kelompok percobaan I tidak dilakukan pengukuran konsentrasi Cu dalam tubuh ikan sehingga faktor biokonsentrasi tidak dapat diperkirakan besarnya.

Konsentrasi dan spesiasi fosfat

Konsentrasi fosfat yang digunakan dalam penelitian ditentukan berdasarkan tujuan untuk mengatur pH air atau tujuan untuk fungsi sebagai penyusun buffer. Pada kelompok percobaan I, spesies fosfat yang dominan pada ketiga macam pH adalah $H_2PO_4^-$. Proporsi rata-rata $H_2PO_4^-$ pada pH 6,0; 6,5 dan 7,0 secara berurutan adalah 94,05%; 83,35% dan 61,31% dari jumlah total fosfat (Lampiran 4). Spesies kedua yang dominan adalah HPO_4^{2-} yang proporsinya secara berurutan untuk ketiga nilai pH sebagaimana tersebut adalah 5,93%; 16,64%, dan 38,69%. Beberapa spesies fosfat yang lain adalah $Cu(HPO_4)^-$, $Cu(H_2PO_4)^+$ yang jumlah proporsi keduanya sangat kecil atau kurang dari 1% dan tidak dibahas dalam analisa lebih lanjut. Hasil pengukuran konsentrasi fosfat menunjukkan konsentrasi yang lebih rendah dibandingkan dengan konsentrasi sebagaimana yang telah ditentukan pada awal percobaan. Penghitungan kadar spesies-spesies fosfat pada kelompok percobaan I didasarkan pada konsentrasi total fosfat terukur dan bukan pada konsentrasi awal fosfat adalah untuk kesesuaian dengan lingkungan (Lampiran 4).

Nilai alkalinitas air pada kelompok perlakuan pH dan Cu berkisar antara 0,0017 mEk/L dan 0,0053 mEk/L (Lampiran 5). Data kadar oksigen terlarut (DO) untuk kelompok perlakuan pH dan Cu berkisar antara 5,18 hingga 9,15 mg O₂/L. Nilai total zat padat terlarut berkisar antara 1,0 hingga 79,0 FTU. Nilai ini lebih besar dari 5 FTU sebagaimana yang disyaratkan oleh baku mutu lingkungan untuk kualitas air golongan A (KEP-02/MENKLH/I/1988), namun tidak dapat dibandingkan untuk kualitas air golongan C berhubung tidak adanya baku mutu total zat padat terlarut untuk kualitas air golongan C. Data kadar oksigen terlarut (DO) untuk kelompok perlakuan Cu berkisar antara 3,00 hingga 8,80 mg O₂/L. Baku mutu lingkungan nilai DO untuk kualitas air golongan C adalah lebih besar dari 3,00 mg O₂/L (KEP-02/MENKLH/I/1988). Dengan demikian kualitas air yang digunakan dalam penelitian adalah memenuhi syarat untuk kadar DO.

B. Parameter Efek Toksik

Mortalitas ikan muda

Uji proporsi mortalitas ikan muda yang diperlakukan dengan perbedaan pH dengan menggunakan *Bartlett's test for homogeneity of variances* menunjukkan tidak adanya perbedaan nyata varians antara 3 macam pH (Lampiran 6). Proporsi mortalitas terkecil adalah 0,58 dan proporsi mortalitas terbesar adalah 1,00. Tingkat mortalitas anak ikan tidak memiliki hubungan yang kuat dengan konsentrasi Cu(CO₃)₂⁰ (aq) dan

konsentrasi HPO_4^{2-} karena besarnya koefisien korelasi (r) tingkat mortalitas anak dengan konsentrasi kedua senyawa kimia tersebut secara berurutan adalah 0,24 dan 0,54. Meskipun demikian, secara grafis Cu^{2+} memiliki hubungan yang cukup kuat dengan tingkat mortalitas anak ikan sebagaimana dijelaskan dalam Lampiran 7. Dalam Lampiran 7 nampak bahwa ada 2 kelompok yang responnya berbeda terhadap peningkatan logaritma konsentrasi Cu^{2+} . Kelompok pertama yang memiliki plot data di sebelah kiri menunjukkan tingkat mortalitas yang tinggi pada konsentrasi yang lebih rendah. Kelompok kedua yang memiliki plot di sebelah kanan menunjukkan tingkat mortalitas yang lebih rendah pada konsentrasi Cu^{2+} yang semakin tinggi. Dengan demikian diduga bahwa kelompok pertama adalah lebih sensitif terhadap Cu^{2+} dibandingkan dengan kelompok kedua. Meskipun demikian, kedua kelompok menunjukkan tingkat mortalitas yang meningkat sesuai dengan peningkatan konsentrasi Cu^{2+} . Tingkat mortalitas ikan muda menunjukkan peningkatan dengan semakin besar alkalinitas (Lampiran 7), yang bertolak belakang dengan teori bahwa tingkat mortalitas akan meningkat dengan semakin kecil alkalinitas (Heath, 1995). Data LC_{50} untuk total Cu pada ikan gupi pada pH 5,7 adalah 240 ug/L sedangkan data LC_{50} pada pH 8,1 adalah 15 ug/L (Sprague, 1996). Alkalinitas merupakan parameter kualitas air yang masih diperdebatkan sebagai parameter utama yang mempengaruhi toksisitas Cu selain kesadahan (Rattner & Heath, 1995). Pada penelitian ini proporsi mortalitas ikan muda dan ikan dewasa semakin besar dengan semakin besar alkalinitas (Lampiran 7) sedangkan Heath

(1995) menjelaskan bahwa pada beberapa spesies ikan air tawar terjadi keadaan yang sebaliknya.

Jumlah anak ikan perinduk

Uji jumlah anak ikan perinduk pada kelompok percobaan I (pH dan konsentrasi Cu) dengan menggunakan *Kruskall-Wallis test* (Lampiran 8) menunjukkan adanya perbedaan lokasi ranking jumlah anak ikan perinduk untuk 3 perlakuan pada tingkat signifikansi 5%. Analisa lebih lanjut dengan menggunakan *Wilcoxon-rank sum test* memberi hasil sebagaimana yang terdapat dalam Lampiran 9. Perbedaan ranking jumlah anak perinduk terjadi antara pH 6,5 dan pH 7,0 pada konsentrasi Cu 0,010 ug/L dan 0,015 ug/L. Selain itu perbedaan juga terjadi pada pH 7,0 antara konsentrasi Cu 0,010 ug/L dengan 0,020 ug/L. Uji jumlah anak perinduk pada kelompok percobaan II (konsentrasi Cu) dengan menggunakan *Kruskall-Wallis test* (lampiran 10) menunjukkan tidak adanya perbedaan lokasi ranking jumlah anak ikan perinduk untuk 3 macam konsentrasi pada tingkat signifikansi 5%.

Hasil pada kelompok II ini mungkin berhubungan dengan usia induk yang relatif lebih muda pada kelompok percobaan II (2,0 - 2,5 bulan) dibandingkan dengan usia induk pada kelompok percobaan I (3,5 - 4,5 bulan) sehingga dihasilkan jumlah anak ikan perinduk yang relatif lebih sedikit dan menyebabkan tidak ada perbedaan nyata antar perlakuan. Berdasarkan perbandingan data yang diperoleh pada kelompok

percobaan I dengan kelompok percobaan II disimpulkan bahwa perbedaan pH lebih dominan dari pada perbedaan konsentrasi dalam hal pengaruh terhadap jumlah anak ikan perinduk.

Cu adalah salah satu logam yang menyebabkan peningkatan hormon kortisol yang selanjutnya dapat menstimulasi metabolisme androgen di hepar sehingga menurunkan kadar hormon androgen dalam darah. Penyingkapan Cu selama 2 - 4 bulan terhadap *Puntius sp.* dilaporkan telah menyebabkan perubahan histopatologik pada testis dan ovarium dan menyebabkan kerusakan oosit pada ovarium. Mekanisme lain yang dapat menyebabkan penurunan fekunditas atau jumlah anak ikan perinduk adalah bahwa penurunan kadar estradiol yang selanjutnya menurunkan kadar *vitellogenin* sehingga deposisi kuning telur (*yolk*) mengalami penurunan. Konsentrasi Cu sebesar 30-90 ug/L dilaporkan dapat menyebabkan gangguan yang serius pada daya tetas telur ikan air tawar (Heath, 1995).

Berat badan ikan umur 1 bulan

Analisa data berat badan ikan muda dengan lama penyingkapan sejak lahir hingga 1 bulan lama penyingkapan menunjukkan tidak adanya perbedaan untuk 3 macam konsentrasi Cu yang digunakan (Lampiran 11). Salah satu kemungkinan adalah konsentrasi Cu pada air akuarium yang semakin rendah setelah penyingkapan kepada induk selama 2 bulan sebelumnya dan bahwa larva / ikan muda dapat menggunakan

cadangan makanan (*yolk*) selama sebagian waktu. Ikan dapat mengalami penurunan nafsu makan pada tahap awal penyingkapan Cu dan setelah kurang lebih 15 hari, nafsu makan akan kembali menjadi normal dan laju pemulihan nafsu makan ini umumnya lebih cepat dari pada laju pertumbuhan. Efek Cu terhadap pertumbuhan umumnya dapat diamati setelah lama penyingkapan 20 hari atau lebih (Heath, 1995).

Setelah terjadi penyingkapan Cu maka terjadi mekanisme detoksifikasi atau induksi pembentukan *metallothionein* yang selanjutnya akan menurunkan kebutuhan energi untuk detoksifikasi dan tidak banyak mengganggu energi untuk pertumbuhan.

Dilaporkan bahwa penyingkapan Cu sebesar 22 ug/L atau lebih dapat menurunkan laju pertumbuhan larva *perch* yang terutama diakibatkan oleh energi yang besar yang diperlukan untuk detoksifikasi pada stadium larva (Heath, 1995). Penyingkapan Cu selama 3 bulan diperkirakan tidak mengganggu laju pertumbuhan dan berat badan karena telah pulihnya kembali nafsu makan ikan dan berdasarkan pengamatan bahwa ikan tetap bernafsu memperebutkan makanan berupa cacing yang diberikan secukupnya.

Derajat akumulasi Cu

Uji *Bartlett's test for homogeneity of variances* derajat akumulasi Cu pada jaringan tubuh ikan dewasa yang memperoleh perlakuan variasi konsentrasi Cu menunjukkan adanya heterogenitas varians derajat akumulasi Cu (Lampiran 12). Sifat

heterogenitas ini mungkin disebabkan oleh kadar Cu terakumulasi yang sangat besar pada 1 ikan dalam kelompok Cu 0,010 ug/L. Besar Cu terakumulasi pada ikan tersebut adalah 120,13 ug, sedangkan pada 8 ekor ikan yang lain besar Cu terakumulasi berkisar antara 19,94 ug hingga 37,52 ug. Analisa lebih lanjut dengan *Kruskall-Wallis test* untuk membandingkan ranking dan bukan nilai nominal kadar Cu terakumulasi menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan lokasi untuk ranking kadar Cu terakumulasi pada 3 perlakuan konsentrasi Cu.

Connell (1993) menjelaskan bahwa pengambilan Cu ke dalam insang mengalami penurunan pada pH rendah karena terjadinya peningkatan produksi mukus pada jaringan insang yang menghalangi pengambilan Cu. Faktor biokonsentrasi yang dihitung berdasarkan perbandingan konsentrasi Cu dalam tubuh ikan dengan konsentrasi total Cu berkisar antara 1.429.500 hingga 18.829.000. Faktor biokonsentrasi untuk logam bervariasi tergantung dari spesies ikan. Umumnya faktor biokonsentrasi logam pada ikan berkisar antara 10^2 hingga 10^3 tetapi faktor biokonsentrasi sebesar 10^5 atau lebih adalah dapat terjadi. Meskipun ikan mengakumulasi Cu tetapi proses biomagnifikasi melalui rantai makanan nampaknya tidak terjadi (Hawker, 1993). Aktivitas biokonsentrasi senyawa inorganik berbeda dengan aktivitas biokonsentrasi senyawa organik. Untuk senyawa organik, aktivitas biokonsentrasi secara langsung berhubungan dengan konsentrasi senyawa organik di air. Untuk senyawa inorganik seperti halnya logam berat, aktivitas biokonsentrasi

dipengaruhi oleh mekanisme homeostasis dan kompetisi dengan ion logam lain (Calabrese & Baldwin, 1993).

Dalam penelitian ini faktor biokonsentrasi terhitung adalah antara 10^6 hingga 10^7 . Data lengkap perhitungan faktor biokonsentrasi dijelaskan dalam Lampiran 3. Berdasarkan besar nilai faktor biokonsentrasi ini dapat disimpulkan bahwa ikan gupi memiliki kemampuan biokonsentrasi yang tinggi. Konsentrasi total Cu yang tidak terukur atau di bawah limit deteksi pada akuarium kelompok percobaan II mendukung arti penting kemampuan biokonsentrasi ikan gupi sebagai biomonitor.

C. Penentuan MATC

Nilai MATC ditentukan berdasarkan LOEC dan NOEC yang diperoleh dari analisa 4 parameter yaitu mortalitas ikan muda, jumlah anak perinduk, derajat akumulasi Cu dan berat badan ikan muda yang berumur 1 bulan. Kedua parameter yang pertama diamati pada kelompok perlakuan I (pH dan konsentrasi Cu) sedangkan kedua parameter lainnya diamati pada kelompok perlakuan II (konsentrasi Cu). Derajat akumulasi Cu dan berat badan ikan umur 1 bulan diamati pada kelompok perlakuan II adalah dengan pertimbangan tingkat keberlangsungan hidup yang tinggi sehingga memungkinkan adanya data pengamatan untuk berat ikan muda berumur 1 bulan dan akumulasi Cu pada ikan betina yang berumur 3 bulan.

Tabel 3: Ringkasan data penentuan MATC

Parameter	pH 6,0		pH 6,5		pH 7,0	
	LOEC	NOEC	LOEC	NOEC	LOEC	NOEC
Mortalitas ikan muda	0,010	0,020	0,010	0,020	0,010	0,020
Jumlah anak per induk	0,010	0,020	0,010	0,020	0,010 *	0,015 *
Derajat akumulasi Cu	-	-	-	-	0,010	0,020
Berat ikan muda 1 bulan	-	-	-	-	0,010	0,020

* perbedaan signifikan pada $\alpha = 0,05$

Berdasarkan data yang terdapat pada Tabel 3 dan Tabel 4 dapat diketahui bahwa LOEC untuk total Cu adalah 0,010 ug/L dan NOEC untuk total Cu adalah 0,020 ug/L. Berdasarkan nilai LOEC dan NOEC ini, maka MATC terhitung untuk total Cu adalah

$$\begin{aligned} \text{MATC} &= \sqrt{\text{LOEC} \times \text{NOEC}} \\ \text{MATC} &= \sqrt{0,010 \times 0,020} \\ &= 0,0141 \text{ ug/L} \end{aligned}$$

MATC yang diperoleh sebesar 0,0141 ug/L adalah sama untuk ketiga macam pH. Nilai terhitung tersebut adalah berdasarkan perbedaan secara statistik. Sebagai pembanding nilai MATC ini adalah 3 data *effective concentration (EC)* yaitu LC_5 ikan muda, IC_{25} jumlah anak per induk, dan IC_{25} berat badan ikan muda. Derajat akumulasi Cu tidak digunakan sebagai pembanding dengan dasar tiga pertimbangan.

Yang pertama adalah bahwa analisa statistik untuk parameter ini telah dilakukan dengan 2 macam uji, yaitu dengan *Bartlett's test for homogeneity of variances* dan *Kruskall-Wallis test*. Pertimbangan yang kedua adalah bahwa kadar Cu terakumulasi pada ikan berasal dari ikan yang dipelihara dengan tanpa perlakuan pH. Pertimbangan yang ketiga adalah bahwa model toksikokinetik dan model pertumbuhan ikan lebih cocok digunakan dalam penentuan derajat akumulasi dibandingkan dengan penggunaan kedua metode statistik dimaksud. Derajat akumulasi tidak selalu berhubungan dengan efek toksik teramati dan terukur sebagaimana halnya dengan LC_5 ikan muda, IC_{25} jumlah anak per induk, dan IC_{25} berat badan ikan muda.

D. Data EC sebagai pembanding MATC

Spesies Cu yang digunakan dalam perhitungan MATC

Spesies Cu yang utama pada pH 6,0; 6,5 dan 7,0 adalah $CuCO_3^0_{(aq)}$ yang ditentukan berdasarkan atas tiga faktor. Faktor pertama adalah bahwa proporsi $CuCO_3^0_{(aq)}$ adalah lebih besar dibandingkan dengan dua spesies Cu yang lain (Lampiran 1). Faktor kedua adalah bahwa $CuCO_3^0_{(aq)}$ menunjukkan kurva konsentrasi-respon yang berbentuk sigmoidal sesuai dengan asumsi umum dalam toksikologi (Rand et al., 1995). Spesies lain yaitu $Cu(CO_3)_2^{2-}$ juga menunjukkan kurva konsentrasi-respon yang berbentuk sigmoidal tetapi tidak digunakan sebagai spesies utama karena

proporsinya yang relatif kecil yaitu kurang dari 1% dari jumlah total spesies Cu (Lampiran 1). Faktor yang ketiga adalah bahwa $\text{CuCO}_3^0_{(aq)}$ muatannya netral (0) sehingga cukup bersifat lipofilik dan mudah menembus membran sel dan selanjutnya terakumulasi di dalam tubuh ikan (Heath, 1995). Perhitungan koefisien korelasi antara kadar $\text{CuCO}_3^0_{(aq)}$ dengan banyaknya Cu yang terakumulasi dalam tubuh ikan gupi (Lampiran 13) menghasilkan koefisien korelasi sebesar 0,56 dan ada hubungan linear yang cukup baik antara kedua parameter.

Perhitungan LC_5 ikan muda

Konsentrasi total Cu yang akan ditetapkan sebagai EC adalah konsentrasi yang menyebabkan mortalitas sebesar 5% dari populasi ikan uji atau LC_5 . Spesies Cu yang digunakan sebagai dasar penentuan konsentrasi total Cu adalah $\text{CuCO}_3^0_{(aq)}$. Analisa probit penentuan dan perhitungan LC_5 untuk mortalitas ikan muda diuraikan dalam Lampiran 14. Berdasarkan analisa tersebut diperoleh hasil bahwa LC_5 total Cu untuk pH 6,0 adalah 0,0047 ug/L; untuk pH 6,5 adalah 0,0021 ug/L dan untuk pH 7,0 adalah 0,0017 ug/L. Dari data-data ini dapat disimpulkan bahwa LC_5 semakin tinggi dengan semakin rendah pH air. Nilai LC_5 untuk ketiga pH ini adalah 5 hingga 10 kali lebih rendah dibandingkan dengan konsentrasi maksimum total Cu yang diijinkan atau 0,02 ug/L.

Penentuan IC₂₅ jumlah anak ikan perinduk

Analisa regresi untuk menentukan IC₂₅ yaitu konsentrasi total Cu yang menyebabkan penurunan jumlah anak ikan perinduk sebanyak 25% dibandingkan dengan kontrol. Dalam perhitungan regresi linier ini, sumbu X adalah konsentrasi spesies $\text{CuCO}_3^0_{(aq)}$. Sumbu Y adalah perbandingan (proporsi) jumlah anak ikan perinduk untuk setiap kelompok perlakuan (pH dan konsentrasi Cu) dengan jumlah anak ikan perinduk terbanyak atau 14 ekor (pH 7,0 konsentrasi Cu 0,010 ug/L). Hasil perhitungan menunjukkan bahwa IC₂₅ jumlah anak perinduk pada pH 6,0 adalah sebesar 0,0093 ug/L atau jika dibulatkan menjadi 0,01 ug/L. Sedangkan IC₂₅ untuk pH 6,5 dan 7,0 secara berturut-turut adalah 0,0041 ug/L dan 0,0035 ug/L

Penentuan IC₂₅ berat badan ikan muda

IC₂₅ berat badan ikan muda adalah konsentrasi total Cu yang dapat menurunkan jumlah anak perinduk dibandingkan dengan suatu nilai acuan yang ditetapkan sebagai nilai terbesar dari jumlah anak perinduk. Nilai terbesar ini adalah 14 yang merupakan jumlah anak perinduk pada pH 7,0 dan konsentrasi total Cu 0,010 ug/L. Semua data jumlah anak perinduk dibandingkan dengan nilai 14 untuk dihitung proporsi relatif dan ditentukan persamaan garis regresi linier dengan konsentrasi total Cu pada sumbu X proporsi jumlah anak perinduk secara relatif pada sumbu Y.

Persamaan regresi linier yang diperoleh adalah $Y = 1,025 - 30,22 X$. Dengan memperhitungkan Y sebagai 0,75 atau terjadi penurunan jumlah anak per induk sebesar 25% (proporsi 0,25) maka diperoleh nilai konsentrasi total Cu sebesar 0,0091 ug/L yang merupakan IC_{25} berat badan ikan muda pada pH 7,0. Selanjutnya dengan menggunakan perbandingan relatif $CuCO_3^0_{(aq)}$ terhadap total Cu diperoleh IC_{25} berat badan ikan muda pada pH 6,0 sebesar 0,0246 ug/L dan IC_{25} berat badan ikan muda pada pH 6,5 sebesar 0,0108 ug/L (Lampiran 15).

Ringkasan ketiga parameter EC

Data LC_5 ikan muda, IC_{25} jumlah anak per induk dan IC_{25} berat badan ikan muda pada kondisi 3 macam pH diringkaskan dalam tabel berikut ini. Untuk pH 6,0, nilai pembanding MATC terletak antara 0,0047 ug/L dan 0,0256 ug/L. Nilai terhitung MATC (0,0141 ug/L) terdapat di dalam interval ini. Untuk pH 6,5, nilai pembanding MATC terletak antara 0,0021 ug/L dan 0,0108 ug/L. Nilai terhitung MATC tidak terdapat di dalam interval ini.

Tabel 4: Data nilai Effective Concentration dari 3 parameter efek toksik

Parameter efek	Konsentrasi total Cu		
	pH 6,0	pH 6,5	pH 7,0
LC_5 ikan muda	0,0047 ug/L	0,0021 ug/L	0,0017 ug/L
IC_{25} jumlah anak per induk	0,0093 ug/L	0,0041 ug/L	0,0035 ug/L
IC_{25} berat badan ikan muda	0,0246 ug/L	0,0108 ug/L	0,0091 ug/L

Untuk pH 7,0, nilai pembanding MATC terletak antara 0,0017 ug/L dan 0,0091 ug/L. Secara singkat dapat disimpulkan bahwa perbedaan nilai MATC terhitung (berdasarkan LOEC dan NOEC) dengan nilai EC pembanding adalah pada skala 10 atau 1 desimal. Skala perbedaan nilai yang sama juga berlaku untuk perbedaan MATC terhitung dan EC pembanding dengan baku mutu lingkungan (0,020 ug/L). Penentuan nilai pembanding yang akan digunakan adalah tergantung kepada pengambil keputusan (*decision maker*), yang secara lebih spesifik akan menentukan urutan prioritas parameter efek toksik atau parameter dengan respon yang lebih sensitif jika dibandingkan dengan parameter lain. (Tabel 4).

E. Ekstrapolasi LC₅₀ ikan muda

Ekstrapolasi LC₅₀ ikan muda sebagai pembanding MATC

LC₅₀ ikan muda yang dihitung dengan analisa probit menghasilkan persamaan regresi linier $Y = 3,715 X + 41,3325$ dan pada Y untuk tingkat mortalitas 50% maka diperoleh konsentrasi total Cu sebesar $1,166 \times 10^{-10} M$ atau sama dengan 0,0074 ug/L. Dengan menggunakan proporsi perbandingan $CuCO_3^0$ dengan total Cu pada 3 macam pH (33,82%; 76,86%; dan 91,38%) maka diperoleh bahwa LC₅₀ untuk pH 6,0 adalah 0,0219 ug/L; LC₅₀ untuk pH 6,5 adalah 0,0096 ug/L dan LC₅₀ untuk pH 7,0 adalah 0,0081 ug/L. Dengan menggunakan persamaan ekstrapolasi sebagaimana yang dijelaskan oleh Calabrese & Baldwin (1993) yaitu

$$\ln \text{MATC} = 0,78 \ln \text{LC}_{50} - 1,87$$

maka didapat nilai MATC pada pH 6,0; 6,5 dan 7,0 berturut-turut adalah 0,0078 ug/L; 0,0041 ug/L dan 0,0036 ug/L. Dengan demikian perbedaan MATC terhitung sebesar 0,0141 ug/L dengan ketiga MATC hasil ekstrapolasi adalah dalam faktor 2 hingga 4. Faktor kelipatan ini jauh lebih kecil dari pada faktor ketidakpastian (*uncertainty factor*) pada ekstrapolasi toksisitas akut ke toksisitas kronis sebagaimana yang dijelaskan oleh Calabrese & Baldwin (1993). Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa MATC terhitung (0,0141 ug/L) berada dalam faktor 2 hingga 4 MATC hasil ekstrapolasi LC_{50} ikan muda sehingga dapat diterima dengan tingkat kepercayaan yang cukup.

Data LC_{50} untuk total Cu pada ikan gupi pada pH 5,7 adalah 240 ug/L sedangkan data LC_{50} pada pH 8,1 adalah 15 ug/L (Sprague, 1996). Jika dibandingkan dengan data LC_{50} terhitung sebesar 0,0219 ug/L (pH 6,0); 0,0096 ug/L (pH 6,5) dan 0,0081 ug/L (pH 7,0), maka LC_{50} menurut Sprague (1996) berbeda dalam faktor 5 atau 10^5 dengan nilai LC_{50} terhitung. Ada 4 (empat) faktor ketidakpastian yang mungkin merupakan penyebab perbedaan ini. Faktor ketidakpastian yang pertama adalah ketidakpastian interspesies atau perbedaan antara spesies *Poecilia sp.* yang digunakan dalam penelitian ini dengan jenis spesies yang digunakan oleh Sprague. Faktor ketidakpastian yang kedua adalah perbedaan intraspesies yaitu perbedaan antara satu ikan gupi dengan ikan gupi yang lainnya dalam percobaan. Faktor ketidakpastian

yang ketiga adalah perbedaan periode lama penyingkapan (*partial life-cycle test*) dibandingkan dengan siklus hidup lengkap (*whole life cycle test*). faktor ketidakpastian yang keempat adalah faktor-faktor yang dapat memodifikasi toksisitas seperti halnya parameter kualitas air. Jika pada keempat faktor ketidakpastian ini ditambahkan faktor konsentrasi fosfat yang digunakan maka ada 5 faktor ketidakpastian atau perbedaan sebesar 10^5 sebagaimana yang disebutkan terdahulu.

Perbedaan untuk LC_{50} yang demikian besar tidak terjadi untuk perbedaan antara MATC terhitung dengan MATC menurut pustaka sebagaimana yang dijelaskan oleh Calabrese dan Baldwin (1993). Nilai MATC terhitung adalah 0,0141 ug/L sedangkan menurut Calabrese dan Baldwin (1993) adalah 0,013 ug/L pada *brook trout* dan 0,029 ug/L pada *blue gill*. Berdasarkan perbandingan ini dapat disimpulkan bahwa perbedaan antara MATC adalah relatif lebih kecil dibandingkan dengan perbedaan antara LC_{50} yang secara tidak langsung mengindikasikan pentingnya aplikasi dan pengukuran MATC dalam penelitian ini.

Ekstrapolasi LC_{50} ikan dewasa sebagai pembanding MATC

Uji proporsi mortalitas ikan dewasa yang diperlakukan dengan perbedaan pH (kelompok percobaan I) dengan menggunakan *Bartlett's test for homogeneity of variances* menunjukkan tidak adanya perbedaan nyata varians antara 3 macam pH (Lampiran 16). Proporsi mortalitas terkecil adalah 0,06 dan proporsi terbesar adalah

0,81. Nilai proporsi mortalitas ikan dewasa ini adalah lebih kecil dari nilai proporsi mortalitas ikan muda (0,58-1,00). Ikan dewasa umumnya lebih toleran terhadap toksikan meskipun ukuran tubuh tidak selalu menentukan derajat toleransi (Sprague, 1995). Sama halnya seperti tingkat mortalitas ikan muda, tingkat mortalitas ikan dewasa menunjukkan peningkatan dengan semakin besar alkalinitas (dalam Lampiran 5).

Penentuan LC_{50} ikan gupi dewasa secara grafis berdasarkan konsentrasi $CuCO_3^0_{(aq)}$ menunjukkan bahwa $\log LC_{50}$ adalah -9,9 (Lampiran 17) atau LC_{50} untuk total Cu adalah $1,26 \times 10^{-10} M$ atau $8,0 \times 10^{-3} \mu g/L$. Dengan menggunakan proporsi perbandingan $CuCO_3^0_{(aq)}$ dengan total Cu pada 3 macam pH (33,82%; 76,86%; dan 91,38%) maka diperoleh bahwa LC_{50} untuk pH 6,0 adalah 0,023 $\mu g/L$; LC_{50} untuk pH 6,5 adalah 0,031 $\mu g/L$ dan LC_{50} untuk pH 7,0 adalah 0,025 $\mu g/L$. Dengan menggunakan persamaan ekstrapolasi sebagaimana yang dijelaskan oleh Calabrese & Baldwin (1993) yaitu

$$\ln EC_{25} = (0,87 \times \log LC_{50}) - 0,87$$

maka didapat nilai rerata EC_{25} pada pH 6,0; 6,5 dan 7,0 berturut-turut adalah 0,0050 $\mu g/L$; 0,0030 $\mu g/L$ dan 0,0025 $\mu g/L$. Selanjutnya penentuan selang kepercayaan 95% untuk MATC dihitung berdasarkan selang kepercayaan $\log Y \pm 1,5$ sesuai ekstrapolasi toksisitas akut ke kronis menurut Calabrese & Baldwin (1993), dengan Y

adalah nilai EC_{25} terhitung. Nilai selang kepercayaan 95% MATC yang diperoleh untuk pH 6,0 adalah 0,0002 - 0,1581 ug/L; untuk pH 6,5 adalah 0,0001 - 0,0949; dan untuk pH 7,0 adalah 0,0001 - 0,0790 ug/L. Nilai MATC terhitung sebesar 0,0141 ug/L adalah terletak pada selang kepercayaan 95% pada 3 macam pH. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa MATC terhitung sesuai dengan estimasi ekstrapolasi sebagaimana yang dijelaskan oleh Calabrese & Baldwin (1993) dan MATC terhitung diperkirakan dapat melindungi ikan gupi dewasa dari toksisitas kronis Cu.

F. Peningkatan fosfat

Konsentrasi fosfat yang berkisar antara 1,03 ug/L hingga 1,45 ug/L (pada kelompok perlakuan pH dan konsentrasi Cu) merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi toksisitas Cu. Konsentrasi fosfat ini adalah relatif lebih besar dari pada konsentrasi fosfat pada kelompok tanpa perlakuan pH yang konsentrasi fosfat berkisar antara 0,07 ug/L dan 0,22 ug/L. Interval konsentrasi fosfat 0,07-0,22 ug/L ini dapat diasumsikan sebagai kondisi lingkungan alami karena tanpa adanya penambahan buffer fosfat. Interval konsentrasi fosfat 1,03 hingga 1,45 ug/L adalah 6 hingga 20 kali lebih besar dibanding dengan konsentrasi fosfat pada lingkungan alami karena adanya penambahan buffer fosfat. Berhubung baku mutu lingkungan air untuk kadar maksimum fosfat tidak ada (Kep-02/MENKLH/I/1988), maka dengan ini

direkomendasikan perlunya penentuan baku mutu kadar fosfat untuk kualitas air dengan berbagai golongan.

Konsentrasi total fosfat yang akan ditetapkan sebagai MATC adalah konsentrasi yang menyebabkan mortalitas sebesar 5% dari populasi ikan uji atau LC_5 . Spesies fosfat yang digunakan sebagai dasar penentuan konsentrasi total Cu adalah (HPO_4^{2-}).

Analisa probit penentuan dan perhitungan LC_5 ikan muda diuraikan dalam Lampiran 14. Berdasarkan analisa tersebut diperoleh hasil bahwa LC_5 total fosfat untuk pH 6,0 adalah 2,64 ppm; untuk pH 6,5 adalah 0,94 ppm dan untuk pH 7,0 adalah 0,40 ppm. Dari data-data ini dapat disimpulkan bahwa LC_5 semakin tinggi dengan semakin rendah pH air. Hasil perhitungan koefisien korelasi (HPO_4^{2-}) dengan proporsi mortalitas ikan muda adalah 0,54.

Gugus yang bersifat asam seperti gugus fosfat jika diberikan bersama-sama dengan garam sodium atau potasium akan menyebabkan peningkatan absorpsi logam ke dalam tubuh ikan. Hal ini disebabkan garam yang mengandung logam bersifat lebih mudah terlarut di dalam air dibandingkan dengan senyawa yang bermuatan netral yang umumnya lebih bersifat lipofilik (James & Kleinow, 1994). Fosfor berikatan dengan Ca, Fe dan Cu sebagai granula-granula dan terdapat pada jaringan ikat sebagai lipofuscin. Ikatan logam dengan fosfor ini diduga berhubungan dengan pemecahan kompleks logam-protein (*metallothionein*) sehingga terjadi inkorporasi Cu ke dalam granula-granula lisosom. Lipofuscin adalah senyawa organik utama

yang diproduksi dari granula-granula lisosom dan banyak ditemukan pada jaringan ginjal. Mekanisme lain yang menjelaskan hubungan Cu dengan fosfat adalah bahwa fosfat meningkatkan absorpsi Cu pada intestinum (Roesijadi & Robinson, 1994).

Adanya fosfat yang berlebihan dalam air pada kelompok perlakuan I (pH dan konsentrasi Cu) mungkin meningkatkan deposisi Cu dalam granula-granula lisosom pada jaringan ikat pada tubuh ikan sehingga selanjutnya meningkatkan Cu yang terakumulasi dalam tubuh ikan.

Penggunaan buffer fosfat yang mengandung sodium merupakan salah satu faktor yang dapat menyebabkan gangguan osmoregulasi sodium melalui membran insang (Heath, 1995) meskipun beberapa jenis ikan air tawar dilaporkan dapat segera melakukan adaptasi dengan mengurangi permeabilitas terhadap sodium. Hal lain yang mungkin dapat menjelaskan proporsi mortalitas adalah kadar kalsium dalam air. Pada penelitian ini tidak dilakukan pengukuran kadar kalsium dalam air dan kesadahan air sehingga tidak memiliki data yang cukup untuk membahas kemungkinan ini. Meskipun demikian, penggunaan buffer fosfat yang mengandung sodium sehingga mengakibatkan kadar sodium yang berlebihan di dalam air diperkirakan dapat mengurangi efek kompetisi kalsium ke dalam tubuh ikan. Jumlah kalsium yang mengalami translokasi ke tubuh ikan adalah 3-5% jumlah sodium yang mengalami translokasi (Heath, 1995), sehingga kalsium diduga tidak berefek pada sistem osmoregulasi ikan percobaan.

G. Batasan-batasan dalam interpretasi MATC dan EC terhitung

Desain eksperimen

Dalam penelitian ini ada beberapa hal yang belum memenuhi aturan standar uji sebagaimana yang dijelaskan oleh Mc.Kim (1995). Hal yang pertama adalah digunakannya 1 akuarium untuk setiap kelompok perlakuan dan pH daripada seharusnya yang berjumlah 2 akuarium. Hal yang kedua adalah tidak dilakukannya pengukuran terhadap beberapa parameter kualitas air yang dianjurkan seperti kesadahan, konduktivitas, dan kadar total karbon organik berhubung keterbatasan dana dan pelaksana. Penggunaan tanaman air sebagai tempat berlindung tidak dilaksanakan memperhatikan bahwa tanaman tersebut dapat menurunkan kadar karbon dioksida dan meningkatkan kadar amoniak dalam air selain kematian pada tanaman air yang terjadi karena efek buffer fosfat. Keuntungan tidak menggunakan tanaman air adalah menjaga konsentrasi Cu terlarut yang relatif konstan karena Cu adalah logam yang mudah terabsorpsi pada partikulat sehingga mengurangi konsentrasi Cu terlarut (Hawker, 1993).

Penggunaan air yang terus menerus (*static test*) pada uji memiliki keuntungan berupa diketahuinya konsentrasi total Cu pada awal dan akhir percobaan sehingga dapat digunakan sebagai estimator sederhana untuk jumlah Cu yang terakumulasi dalam tubuh ikan. Salah satu kekurangannya adalah volume air yang berkurang karena penguapan sehingga dapat menyebabkan peningkatan secara relatif konsentrasi total

Cu terukur. Temperatur juga merupakan salah satu faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi toksisitas Cu dan memerlukan penelitian lebih lanjut (Rattner & Heath, 1995).

Respon secara biologi vs respon secara statistik

Selang kepercayaan (*confidence interval*) untuk penelitian ini tidak dihitung dengan asumsi bahwa nilai MATC yang ditentukan berdasarkan tahap awal perkembangan (embrio dan larva) memiliki kesamaan dengan MATC yang ditentukan berdasarkan uji toksisitas pada siklus hidup lengkap sebanyak 83%. Perbedaan nilai yang terjadi umumnya berkisar pada faktor 2 (Mc.Kim, 1995). Satu hal pokok yang perlu diperhatikan adalah perbedaan nilai terhitung secara statistik yaitu MATC yang dihitung dari LOEC dan NOEC dengan EC yang dihitung berdasarkan sifat respon biologi. Syarat signifikansi secara statistik yang diperlukan dalam penentuan LOEC dan NOEC umumnya tergantung kepada biaya dan teknis pelaksanaan penelitian. Contoh untuk hal ini adalah bahwa konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini (termasuk kontrol) berjumlah 3 macam daripada yang seharusnya berjumlah 5 macam (Mc.Kim, 1995) yang pada akhirnya menentukan perbedaan secara statistik. Meskipun demikian perbedaan antara MATC terhitung dengan EC terhitung adalah dalam batas atau selang kepercayaan yang dapat diterima. Karena MATC umumnya ditentukan berdasarkan atas respon/efek yang paling sensitif (Rand et al., 1995), maka dalam penelitian selanjutnya diharapkan bahwa LC₅ ikan muda dapat ditetapkan sebagai respon yang paling sensitif karena nilainya sebagai *effective*

concentration yang terkecil dibandingkan dengan dua respon lain yaitu IC_{25} jumlah anak perinduk dan IC_{25} berat badan ikan muda berumur 1 bulan (Tabel 4). Hal ini juga sesuai dengan asumsi bahwa respon kematian ikan muda adalah lebih sensitif dari pada respon perkembangan berat badan yang di bawah normal.

Toksisitas gabungan (*joint toxicity*)

Salah satu metode pendekatan lain yang dapat menjelaskan fenomena yang terjadi akibat toksisitas pada ikan gupi dalam penelitian ini adalah penggunaan metode penentuan toksisitas gabungan antara Cu dan fosfat dan bukan sebagai toksisitas terpisah antara Cu dan fosfat. Metode untuk penentuan toksisitas gabungan dijelaskan secara rinci oleh Calabrese dan Baldwin (1993). Dalam penentuan toksisitas gabungan ini akan diamati sifat interaksi antara 2 toksikan yang dapat bersifat aditif yaitu toksisitas gabungan merupakan penambahan toksisitas masing-masing toksikan, bersifat antagonistik yaitu toksisitas toksikan yang satu mengurangi toksisitas toksikan yang lain, dan dapat bersifat sinergistik yaitu toksisitas toksikan yang satu meningkatkan toksisitas dari toksikan yang lain. Memperhatikan data dan pembahasan dalam penelitian ini, kemungkinan terbesar yang dapat terjadi adalah interaksi sinergistik yaitu fosfat meningkatkan toksisitas Cu atau terjadi hal yang sebaliknya. Penelitian lebih lanjut tentang hal ini kiranya dapat menjelaskan fenomena yang belum terungkap secara rinci dalam penelitian ini.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. MATC terhitung untuk ikan gupi muda adalah 0,0141 ug/L.
2. Nilai selang kepercayaan 95% MATC yang diperoleh untuk pH 6,0 adalah 0,0002 ug/L - 0,1581 ug/L; untuk pH 6,5 adalah 0,0001 ug/L - 0,0949 ug/L ; dan untuk pH 7,0 adalah 0,0001 - 0,0790 ug/L.
3. Spesies Cu yang dominan dan menunjukkan hubungan konsentrasi - respon yang paling kuat adalah $\text{CuCO}_3^0_{(aq)}$

Saran:

1. Penelitian lebih lanjut tentang toksisitas gabungan Cu dan fosfat untuk mengetahui efek interaksi Cu dan fosfat pada berbagai pH terhadap ikan gupi.
2. Perlu penelitian lebih lanjut untuk penentuan baku mutu lingkungan kadar fosfat dalam air.

DAFTAR PUSTAKA

- Calhoun, E.J., and Baldwin, L.A., 1993. *Performing Ecological Risk Assessment*. Lewis Publishers, Boca Raton pp.37-102.
- Connell, D.W., 1993. Evaluation of the Bioconcentration Factor, Biomagnification Factor, and Related Physicochemical Properties of Organic Compounds. In: Connell, D.W., 1993. *Bioaccumulation of Xenobiotic Compounds*. CRC Press, Inc. Boca Raton. pp.10-42
- Di Giulio, R.T., Benson, W.H., Sanders, B.M., and van Veld, P.A., 1995. *Biochemical Mechanisms: Metabolism, Adaptation, and Toxicity*. In: Rand, G.M. (ed), 1995. *Fundamentals of aquatic toxicology*. Taylor & Francis. Washington, D.C. pp.523-561.
- Ellersieck, M.R., and La Point, T.W., 1995. *Statistical Analysis*. In: Rand, G.M. (ed), 1995. *Fundamentals of aquatic toxicology*. Taylor & Francis. Washington, D.C. pp. 307-341.
- Fernando, Q., 1995. *Metal Speciation in Environmental and Biological Systems*. In: *Env. Health. Perspect. Suppl.* 103: 1. pp.13-16.
- Greenwood, N.N., and Earnshaw, A., 1989. *Chemistry of the Elements*. Pergamon, New York. 1542 pp.
- Hach Company, 1988. *DR/2000 Spectrophotometer - Procedures Manual*.
- Hawker, D.W., 1993. Bioaccumulation of metallic substances and organometallic compounds. In: Connell, D.W., 1993. *Bioaccumulation of Xenobiotic Compounds*. CRC Press, Inc. Boca Raton. pp.188-205.
- Hawkins, W.E., Walker, W.W., and Overstreet, R.M., 1995. Carcinogenicity tests using aquarium fish. In: Rand, G.M. (ed), 1995. *Fundamentals of aquatic toxicology*. Taylor & Francis. Washington, D.C. pp. 421-446.
- Hezel, C.K., and Meuth, S.J., 1970. Bioassay of king salmon eggs and site fry in copper solutions. *Calif Fish Game* 56: 121-124. In van Oelder, 1979. *Clinical and Diagnostic Veterinary Toxicology*. Kendall Hunt Publishing, Iowa. 380 pp.

- Kantor Menteri Negara Kependudukan dan Lingkungan Hidup (KMN-KLH), 1988. Keputusan Nomor 02 MENKLH /I/1988 Tentang Baku Mutu Lingkungan. Jakarta.
- McKim, J.M., 1995. Early life stage toxicity tests. In: Rand, G.M. (ed), 1995. Fundamentals of Aquatic Toxicology. Taylor & Francis. Washington, D.C. pp. 974-1011.
- O'Hara, J., 1971. Alterations in oxygen consumption by bluegills exposed to sublethal treatment with copper. *Wat. Res.* 5: 321-327. In: van Gelder, 1979. Clinical and Diagnostic Veterinary Toxicology. Kendall Hunt Publishing, Iowa. 380 pp.
- Roesijadi, G., and Robinson, W.E., 1994. Metal regulation in aquatic animals: Mechanism of uptake, elimination, and release. In: Malins, D.C., and Ostrander, G., K., 1994. Aquatic Toxicology - Molecular, Biochemical and Cellular Perspectives. Lewis Publisher, Boca Raton. pp. 387-420.
- Rattner, B.A., and Heath, A.H., 1995. Environmental Factors Affecting Contaminant Toxicity in Aquatic and Terrestrial Vertebrates. In: Hoffman, D.J., Rattner, B.A., Burton, G.A., and Cairns, J., 1995. Handbook of Ecotoxicology. CRC Press. Boca Raton. pp. 519-535.
- Sprague, J.B., 1995. Factors That Modify Toxicity. In: Rand, G.M. (ed), 1995. Fundamentals of Aquatic Toxicology. Taylor & Francis. Washington, D.C. pp. 1012-1051.
- Stumm, W., and Morgan, J.J., 1996. Aquatic Chemistry. John Wiley & Sons. New York, 1022 pp.
- Suter, G.W., II., 1995. Introduction to ecological risk assessment for aquatic toxic effects. In: Rand, G.M. (ed), 1995. Fundamentals of Aquatic Toxicology. Taylor & Francis. Washington, D.C. pp. 803-816.
- van Gelder, 1979. Clinical and Diagnostic Veterinary Toxicology. Kendall Hunt Publishing, Iowa. 380 pp.

LAMPIRAN-LAMPIRAN

Lampiran 1: Konsentrasi dan proporsi spesies-spesies Cu

Perlakuan	[Cu ²⁺]	%Cu ²⁺	Cu(CO ₃) _{aq}	%Cu(CO ₃) _{aq}	Cu(CO ₃) ₂₋	%Cu(CO ₃) ₂₋	[Cu] _T
pH 6/ 0.01	1.06E-10	67.64946	5.08E-11	32.3459815	7.16E-15	0.00456302	1.57E-10
pH 6/ 0.015	1.52E-10	64.46646	8.38E-11	35.5277656	1.36E-14	0.00577667	2.36E-10
pH 6/ 0.02	2.09E-10	66.40582	1.06E-10	33.5891709	1.58E-14	0.00501266	3.15E-10
pH 6.5/0.01	3.61E-11	23.01349	1.21E-10	76.910675	1.19E-13	0.07583442	1.57E-10
pH 6.5/0.015	4.18E-11	17.69177	1.94E-10	82.1955592	2.66E-13	0.11266811	2.36E-10
pH 6.5/0.02	8.96E-11	28.46822	2.25E-10	71.4788331	1.67E-13	0.05295053	3.15E-10
pH 7/0.01	1.57E-11	9.982168	1.41E-10	89.7795969	3.74E-13	0.23823528	1.57E-10
pH 7/0.015	1.96E-11	8.299902	2.16E-10	91.4031197	7.01E-13	0.29697829	2.36E-10
pH 7/0.02	2.10E-11	6.663504	2.93E-10	92.9539278	1.20E-12	0.38256782	3.15E-10

Lampiran 2: Konsentrasi total Cu terukur pada kelompok perlakuan I (Cu dan pH)

pH	pH 6			pH 6,5			pH 7,0		
[Cu] dlm ug/L	0,010	0,015	0,020	0,010	0,015	0,020	0,010	0,015	0,020
	0,016	0,008	0,010	0,024	0,009	0,010	0,006	0,010	0,016
	0,016	0,007	0,011	0,023	0,009	0,010	0,007	0,011	0,015
	0,017	0,007	0,011	0,023	0,009	0,010	0,005	0,011	0,016
[Cu] rerata	0,016	0,007	0,011	0,023	0,009	0,010	0,006	0,011	0,016

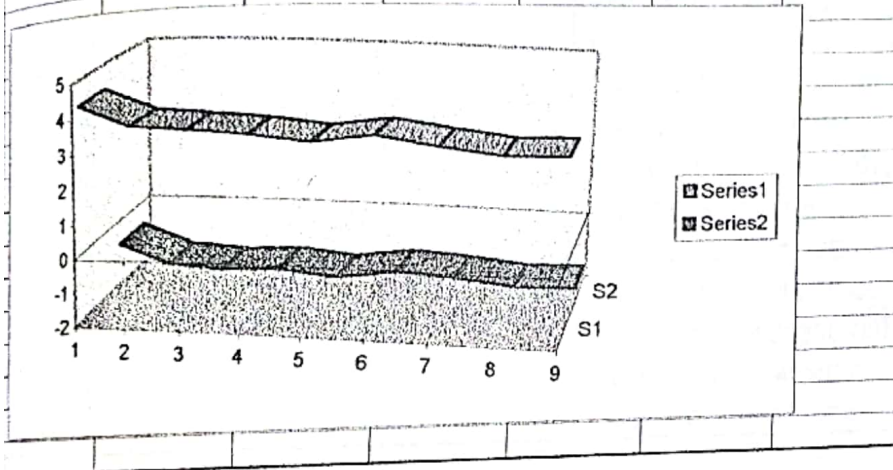
Lampiran 2b: Konsentrasi total Cu terukur pada kelompok perlakuan II

[Cu] dlm ug/L perlakuan	0,010	0,010	0,010	0,015	0,015	0,015	0,020	0,020	0,020
	a	b	c	a	b	c	a	b	c
[Cu terukur]	ttd	ttd	ttd	ttd	ttd	ttd	ttd	ttd	ttd

ttd = tak terdeteksi atau $< 0,010$ ug/L

Lampiran 3 : Faktor biokonsentrasi (BCF)

Cu ikan mg/g	Cu air mg/ml	BCF
0.18829	0.000188	18829000
0.04761	4.76E-05	4761000
0.03764	3.76E-05	3764000
0.04394	4.39E-05	2929333
0.000015	1.5E-08	1966667
0.05307	5.31E-05	3538000
0.00002	2E-08	2095000
0.00002	2E-08	1429500
0.03226	3.23E-05	1613000



Keterangan: Series 1 = Konsentrasi Cu dalam tubuh ikan (log mg/g)
 Series 2 = Konsentrasi Cu dalam air (log mg/ml)

Lampiran 4: Konsentrasi dan proporsi spesies-spesies fosfat

TOTAL [PO4] M	CuHPO4 %	Cu(H2PO4)- %	H3PO4 %	H2PO4- %	(HPO4)2- %	(PO4)3- %
1.45E-05	8.903E-06	5.617E-07	0.013285254	94.0523975	5.9343051	2.6508E-06
1.53E-05	1.275E-05	8.047E-07	0.013285254	94.0523937	5.93430486	2.6508E-06
1.21E-05	1.752E-05	1.105E-06	0.013285253	94.0523889	5.93430456	2.6508E-06
1.11E-05	8.494E-06	1.694E-07	0.003720566	83.353125	16.6431223	2.3526E-05
1.05E-05	9.815E-06	1.957E-07	0.003720566	83.3531238	16.6431221	2.3526E-05
1.15E-05	2.106E-05	4.2E-07	0.003720565	83.3531143	16.6431201	2.3526E-05
1.09E-05	8.564E-06	5.404E-08	0.00086607	61.3130398	38.6859128	0.0001728
1.04E-05	1.07E-05	6.754E-08	0.00086607	61.3130384	38.6859119	0.0001728
1.2E-05	1.146E-05	7.23E-08	0.00086607	61.313038	38.6859116	0.0001728
				Konsentrasi 3 spesies utama fosfat (M)		
				H2PO4-	(HPO4)2-	PO43-
				1.3593E-05	8.58E-07	3.83E-13
				1.4387E-05	9.08E-07	4.05E-13
				1.141E-05	7.20E-07	3.22E-13
				9.23E-06	1.84E-06	2.61E-12
				8.7931E-06	1.76E-06	2.48E-12
				9.58E-06	1.91E-06	2.71E-12
				6.66E-06	4.2035E-06	1.88E-11
				6.40E-06	4.04E-06	1.80E-11
				7.37E-06	4.6524E-06	2.08E-11

Lampiran 5: Nilai Alkalinitas pada berbagai perlakuan pH dan konsentrasi Cu

Perlakuan	Alkalinitas			
	mEk/L	OH-	H+	CO ₃
pH 6/ 0.01	0.0017333	1.00E-08	1.00E-06	1.73E-03
pH 6/ 0.015	0.002	1.00E-08	1.00E-06	2.00E-03
pH 6/ 0.02	0.0002425	1.00E-08	1.00E-06	2.43E-04
pH 6.5/0.01	0.0038333	3.16E-08	3.16E-07	3.83E-03
pH 6.5/0.015	0.0053333	3.16E-08	3.16E-07	5.33E-03
pH 6.5/0.02	0.00288	3.16E-08	3.16E-07	2.88E-03
pH 7/0.01	0.0032667	1.00E-07	1.00E-07	3.27E-03
pH 7/0.015	0.004	1.00E-07	1.00E-07	4.00E-03
pH 7/0.02	0.0050667	1.00E-07	1.00E-07	5.07E-03

Lampiran 6. Uji proporsi mortalitas ikan gupi muda pada perlakuan pH & Cu dengan Bartlett's Test.

Sampel (a : 9)	df: ni - 1	Si ²	ln Si ²
1	1	0.013889	- 4.276658
2	1	0.01389	- 4.276586
3	1	0.05356	- 2.890292
4	1	0.00347	- 5.663600
5	1	0.00347	- 5.663600
6	1	0.01389	- 4.276586
7	1	0.03125	- 3.465736
8	1	0.0139	- 4.275866
9	1	0.013889	- 4.276658

$$S^2 = \frac{\sum_{i=1}^a (n_i - 1) S_i^2}{\sum_{i=1}^a (n_i - 1)} = \frac{0.6638.248}{9} = 0.073694$$

$$\ln 0.073694 = - 2.607834$$

$$\sum_{i=1}^a (n_i - 1) \ln S_i^2 = - 39.065582$$

$$X^2 = \left[\sum_{i=1}^a (n_i - 1) \right] \ln S^2 - \sum_{i=1}^a (n_i - 1) \ln S_i^2 = 15.595076$$

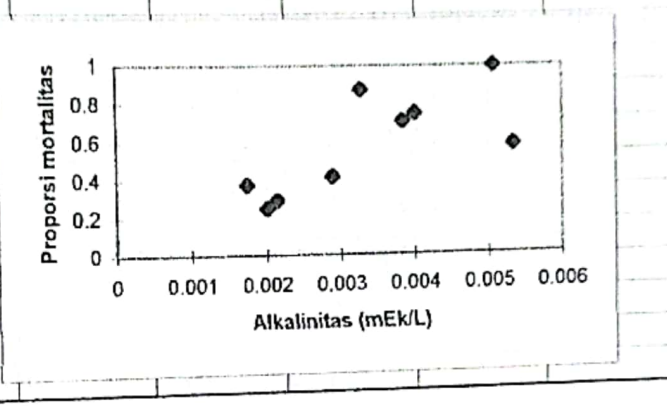
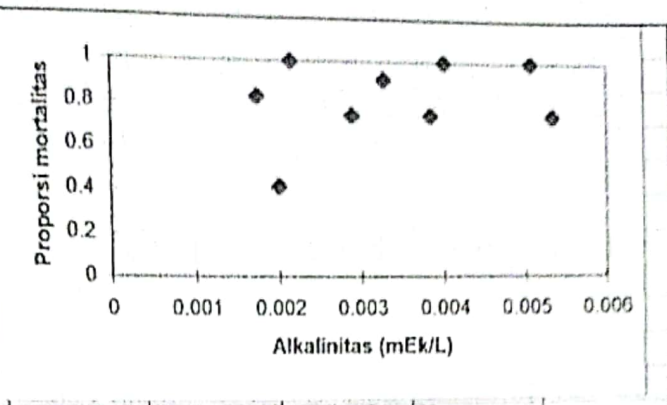
$$C = 1 + \frac{1}{3(a-1)} \left[\sum_{i=1}^a \frac{1}{(n_i - 1)} - \frac{1}{\sum_{i=1}^a (n_i - 1)} \right] = 0.925926$$

$$\text{Adjusted } X^2 = \frac{X^2}{C} = \frac{15.595076}{0.925926} = 16.843$$

$X^2 [0.01, 8] = 20.090 \rightarrow$ Varians homogen pada kesembilan sampel

Lampiran 7: Diagram hubungan alkalinitas dengan proporsi mortalitas

ALKALIN	MORT ANAK
0.00173333	0.83333333
0.002	0.41666667
0.00214	1
0.00383333	0.75
0.00533333	0.75
0.00288	0.75
0.00326667	0.91666667
0.004	1
0.00506667	1
ALKALIN	DEWASA
0.00173333	0.375
0.002	0.25
0.00214	0.29166667
0.00383333	0.70833333
0.00533333	0.58333333
0.00288	0.41666667
0.00326667	0.875
0.004	0.75
0.00506667	1



Lampiran 8. Jumlah anak per induk dengan perlakuan pH dan Cu pada induk berumur 4 bulan dengan metode Kruskal-Wallis.

pH	pH 6.0			pH 6.5			pH 7.0		
	0.010	0.015	0.020	0.010	0.015	0.020	0.010	0.015	0.020
Cu dalam ug/l	12	9	12	10	9	7	15	11	11
	13	11	8	11	8	8	13	13	9
	11	10	110	9	7	9	14	12	10

pH 6.0		pH 6.5		pH 7.0	
Y	Rank	Y	Rank	Y	Rank
13	4	11	11	15	1
12	7	10	15.5	14	2
12	7	9	20	13	4
11	11	9	20	13	4
11	11	9	20	12	7
10	15.5	8	24	11	11
10	15.5	8	24	11	11
9	20	7	26.5	10	15.5
8	24	7	26.5	9	20
n_i					
$\{\sum R\} 1$	115		187.5		75.5

$$H = \left[\frac{12}{a} \frac{\sum (\sum R_i)^2}{n_i} \right] - 3 \left[\frac{\sum n_i + 1}{a} \right]$$

$$= 11.38$$

t_j	3	3	3	5	5	4	2
T_j	24	24	24	120	120	60	6

$\sum T_j$ 378

$$D = 1 - \frac{\sum_{j=1}^m T_j}{(\sum_{i=1}^a n_i - 1) \sum_{i=1}^a n_i (\sum_{i=1}^a n_i + 1)}$$

$$= 0.981$$

$$\text{Adjusted } H = \frac{H}{D} = \frac{11.38}{0.981} = 11.600$$

$$X^2_{0.05}(2) = 7.352$$

H_0 ditolak : varian berbeda antar ketiga pH

Lampiran 9: Wilcoxon-rank sum test untuk jumlah anak ikan perinduk

PERLAKUAN	NILAI AWAL (NOMINAL)		NILAI RANKING		Nilai Us	Kesimpulan
	Y1	Y2	Y1	Y2		
Y1=pH6/0.01						
Y2=pH6.5/0.01	12	10	5	2		
	13	11	6	3.5		
	11	9	3.5	1		
		Total Rank	14.5	6.5		8.5 beda lokasi ranking
Y3=pH6/0.01	12	15	2	6		
Y4=pH7/0.01	13	13	3.5	3.5		
	11	14	1	5		
		Total Rank	6.5	14.5		8 beda lokasi ranking
Y5=pH6.5/0.01	10	15	2	6		
Y6=pH7/0.01	11	13	3	5		
	9	14	1	4		
		Total Rank	6	15		9 beda lokasi ranking
X1=pH6/0.015	9	9	3.5	3.5		
X2=pH6.5/0.015	11	8	6	2		
	10	7	5	1		
		Total Rank	14.5	6.5		8 beda lokasi ranking
X3=pH6/0.015	9	11	1	3.5		
X4=pH7/0.015	11	13	3.5	6		
	10	12	2	5		
		Total Rank	6.5	14.5		8 beda lokasi ranking
X3=pH6.5/0.015	9	11	3	4		
X4=pH7/0.015	8	13	2	6		
	7	12	1	5		
		Total Rank	6	15		9 beda lokasi ranking
X3=pH7/0.01	15	11	6	1		
X4=pH7/0.015	13	13	3.5	3.5		
	14	12	5	2		
		Total Rank	14.5	6.5		8.5 beda lokasi ranking
X3=pH7/0.01	15	11	6	3		
X4=pH7/0.02	13	9	4	1		
	14	10	5	2		
		Total Rank	15	6		9 beda lokasi ranking

=> U 0.05 (3,3) sebesar 8 (two-tailed test)

Lampiran 10. Jumlah anak per induk dengan perlakuan Cu pada induk umur 3 bulan dengan metode Kruskal-Wallis.

Cu dalam ug/l	0.010			0.015			0.020		
	a	b	c	a	b	c	a	b	c
	4	5	5	5	6	5	6	5	7
	4	3	6	6	7	4	7	6	5
	4	4	4	4	5	3	5	4	6

0.010		0.015		0.020	
Y	Rank	Y	Rank	Y	Rank
6	6.5	7	2	7	2
5	13.5	6	6.5	7	2
5	13.5	6	6.5	6	6.5
4	21.5	5	13.5	6	6.5
4	21.5	5	13.5	6	6.5
4	21.5	5	13.5	5	13.5
4	21.5	4	21.5	5	13.5
4	21.5	4	21.5	5	13.5
3	26.5	3	26.5	4	21.5
n_i					
$\{\sum R\} 1$	167.5		125		85.5

$$H = \left[\frac{12}{a(\sum n_i)(\sum n_i + 1)} \sum \frac{(\sum R)^2}{n_i} \right] - 3 \left[\sum \frac{n_i + 1}{a} \right]$$

$$= 5.93$$

t_j	3	6	8	8	2
T_j	24	210	504	504	6

$$\sum T_j 1248$$

$$D = 1 - \frac{\sum_{j=1}^m T_j}{(\sum_{i=1}^a n_i - 1) \sum_{i=1}^a n_i (\sum_{i=1}^a n_i + 1)}$$

$$= 0.937$$

$$\text{Adjusted H} = \frac{H}{D} = \frac{5.93}{0.937} = 6.329$$

$$\chi^2_{0.05}(2) = 7.352$$

H_0 diterima : varian tidak berbeda antar ketiga perlakuan Cu

Lampiran 11. Analisa data berat rerata anak umur 1 bulan dg Bartlett's Test

Sampel (a = 3)	df = ni - 1	Si ²	ln Si ²
1	2	0.000301	- 8.108400
2	2	0.000265333	- 8.234525
3	2	0.00012433	- 8.992571

$$S^2 = \frac{2(0.000301) + 2(0.000265333) + 2(0.00012433)}{6}$$

$$= 0.000230221$$

$$\ln 0.019312 = - 8.376471$$

$$\sum^a (ni - 1) \ln Si^2 = - 50.670992$$

$$X^2 = [\sum^a (ni - 1)] \ln S^2 - \sum^a (ni - 1) \ln Si^2 = 0.412166$$

$$C = 1 + \frac{1}{3(2-1)} \left[\frac{3}{2} - \frac{1}{6} \right]$$

$$= 1.777778$$

$$\text{Adjusted } X^2 = \frac{X^2}{C} = \frac{0.412166}{1.777778}$$

$$= 0.232$$

$X^2 [0.01, 8] = 9.210 \rightarrow$ Varians sama (homogen) pada ketiga sampel tersebut

Lampiran 12. Derajat akumulasi Cu pada jaringan tubuh ikan pada perlakuan konsentrasi Cu dengan metode Kruskal-Wallis.

PERLAKUAN					
Cu 0.010 ug/l		Cu 0.015 ug/l		Cu 0.020 ug/l	
Y	Ranking	Y	Ranking	Y	Ranking
120.3	1	30.76	4	30.63	5
29.42	6	19.94	9	22.59	8
30.90	3	37.52	2	23.81	7

$$H = \frac{12}{9(9+1)} \left[\frac{(45)^2}{9} \right] - 3(9+1)$$

$$H = \frac{12}{90} \times 195$$

$$= 26$$

$$X^2_{0.05}(2) = 7.352$$

→ Varians berbeda antara ketiga konsentrasi CU

Lampiran 13: Perhitungan koef.korelasi CuCO_3 vs Cu terakumulasi

[CuCO ₃] X	Akumulasi Cu Y	EX ²	EY ²	XY	
8.39E-11	29.42298	7.03082E-21	865.7118	2.47E-09	
1.06E-10	30.90244	1.11725E-20	954.9608	3.27E-09	
3.61E-11	30.758	1.30538E-21	946.0546	1.11E-09	
4.18E-11	19.942	1.74306E-21	397.6834	8.33E-10	
8.96E-11	37.52049	8.02637E-21	1407.787	3.36E-09	
1.57E-11	30.6289	2.45549E-22	938.1295	4.8E-10	
1.96E-11	22.5861	3.83768E-22	510.1319	4.42E-10	
2.10E-11	23.80788	4.39741E-22	566.8152	4.99E-10	
4.13E-10	225.56879	3.03472E-20	6587.274	1.25E-08	
1.71E-19	50881.27902				
	2.13469E-20	SSx	9E-21		9.487E-11
	6360.159878	SSy	227.1143		15.070313
	1.1652E-08	SPxy	8.08E-10		
	Koef.Korelasi	r	0.56547		

Lampiran 14: Perhitungan LC₅ ikan muda

Data terseleksi dari kurva hubungan log konsentrasi Cu(CO₃)⁰ dengan proporsi mortalitas ikan muda adalah sbb:

log konsentrasi Cu(CO ₃) ⁰ (X)	proporsi mortalitas ikan muda (Y)
-10,2941	0,4167
-9,8508	0,7500
-9,6655	0,9167
-9,5331	1,0000

Pada X = -10,2941 didapat Y = 41,67%

maka luas area di bawah kurva normal = 50% - 41,67% = 8,33% = 0,0833 dan didapat simpangan baku sebesar 0,21 dan unit probit = 5 - 0,21 = 4,79. Perhitungan yang sama untuk nilai X lainnya menghasilkan data sbb:

(X)	Unit probit (Y)
-10,2941	4,79
-9,8508	5,67
-9,6655	6,38
-9,5331	8,00

Dari data tersebut di atas diperoleh persamaan regresi linier $Y = 3,715X + 41,3325$

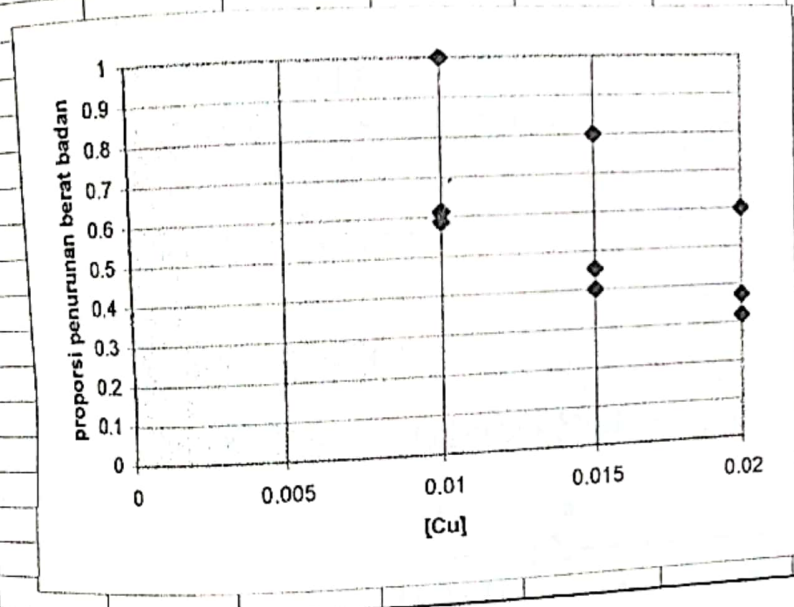
Area di bawah kurva normal untuk LC₅ adalah 50%-45% = 5% = 0,05 (pada 1,65 unit standar deviasi) dan unit probit adalah 5 - 1,65 = 3,35

Dengan substitusi $3,35 = 3,715X + 41,3325$ didapat $X = -10,606$ dan antilog $X = 2,48 \times 10^{-11}$ M. Dengan transformasi dari satuan M ke ug/L, didapat bahwa $2,48 \times 10^{-11}$ M Cu = 0,00158 ug/L.

pada pH 6,0 LC₅ untuk total Cu = $(100/33,82) \times 0,00158$ ug/L = 0,00467 ug/L
 pada pH 6,5 LC₅ untuk total Cu = $(100/76,86) \times 0,00158$ ug/L = 0,00206 ug/L
 pada pH 7,0 LC₅ untuk total Cu = $(100/91,38) \times 0,00158$ ug/L = 0,00173 ug/L

Lampiran 15: Penghitungan IC₂₅ Berat Badan Ikan Muda

X Cu	X-X	(X-X) ²	Y % berat	Y-Y	(Y-Y) ²	(X-X)(Y-Y)
0.01	-0.005	0.000025	0.613333	0.041481	0.001721	-0.0002074
0.01	-0.005	0.000025	1	0.428148	0.183311	-0.0021407
0.01	-0.005	0.000025	0.586667	0.014815	0.000219	-7.407E-05
0.015	0	0	0.453333	-0.11852	0.014047	0
0.015	0	0	0.8	0.228148	0.052052	0
0.015	0	0	0.4	-0.17185	0.029533	0
0.02	0.005	0.000025	0.373333	-0.19852	0.03941	-0.0009926
0.02	0.005	0.000025	0.32	-0.25185	0.063429	-0.0012593
0.02	0.005	0.000025	0.6	0.028148	0.000792	0.0001407
0.015		0.00015	0.571852			-0.0045333
slope	-30.2222					
intercept	1.025185					
persamaan	Y=1.025-30.22X					



Lampiran 16. Uji proporsi mortalitas ikan gupi dewasa pada perlakuan pH dan Cu dengan Bartlett's Test.

Sampel (a : 9)	df: ni - 1	Si ²	ln Si ²
1	1	0.017578	- 4.041107
2	1	0.03125	- 3.465736
3	1	0.01758	- 4.040993
4	1	0.01758	- 4.040993
5	1	0.00781	- 4.852350
6	1	0.00195	- 6.239926
7	1	0.00195	- 6.239926
8	1	0.0703	- 2.654983
9	1	0.007813	- 4.851966

$$S^2 = \frac{0.173811}{9} = 0.019312$$

$$\ln 0.019312 = - 3.947029$$

$$\sum^a (ni - 1) \ln Si^2 = - 40.42798$$

$$X^2 = [\sum^a (ni - 1)] \ln S^2 - \sum^a (ni - 1) \ln Si^2 = 4.904719$$

$$C = 1 + \frac{1}{3(9-1)} \left[\sum^a \frac{9}{9} - \frac{1}{9} \right]$$

$$= 0.925926$$

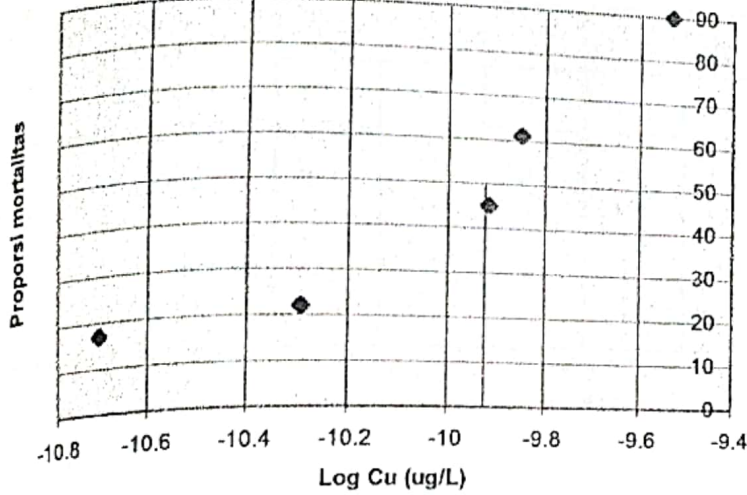
$$\text{Adjusted } X^2 = \frac{X^2}{C} = \frac{4.904719}{0.925926}$$

$$= 5.297$$

$X^2 [0.01, 8] = 20.090 \rightarrow$ Varians sama (homogen) pada kesembilan sampel

Lampiran 17: Penentuan LC-50 ikan dewasa

Diagram X-Y (data terseleksi) hubungan log [Cu] vs proporsi mortalitas ikan dewasa



Lamp 18: Data parameter kualitas air

Parameter	pH 6			pH 6,5			pH 7,0		
	0,010	0,015	0,020	0,010	0,015	0,020	0,010	0,015	0,020
Fosfat (mg/L)	1,37	1,45	1,15	1,05	1,00	1,09	1,03	0,99	1,04
DO	5,73	5,05	9,15	5,30	6,20	5,62	6,27	5,18	5,70
TDS (FTU)	8,0	20,7	17,7	73,0	2,3	79,0	1,0	2,2	8,0
Alkalinitas (10^{-3} mek/L)	173	200	214	38	53	28	33	4	51
Cu terukur (ug/L)	0,016	0,007	0,011	0,023	0,009	0,010	0,006	0,011	0,016