

KK  
TBR.04/05  
WIT  
2

# TESIS

## EFEK PEMAPARAN COPPER SULFAT ( $CuSO_4$ ) TERHADAP DAYA TETAS TELUR, PERUBAHAN HISTOPATOLOGIK INSANG DAN ABNORMALITAS LARVA IKAN ZEBRA ( *Brachydanio rerio* )

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS



INDRA WIRAWAN  
NIM : 090214780 M

PROGRAM STUDI ILMU BIOLOGI REPRODUKSI  
PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2005

MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA

# **TESIS**

## **EFEK PEMAPARAN COPPER SULFAT (CuSO<sub>4</sub>) TERHADAP DAYA TETAS TELUR, PERUBAHAN HISTOPATOLOGIK INSANG DAN ABNORMALITAS LARVA IKAN ZEBRA ( *Brachydanio rerio* )**

**Untuk Memperoleh Gelar Magister Dalam Program Studi  
Ilmu Biologi Reproduksi Pada Program Pascasarjana  
Universitas Airlangga**

**PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS**

**INDRA WIRAWAN  
NIM : 090214780 M**

**PROGRAM STUDI ILMU BIOLOGI REPRODUKSI  
PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2005**

# Lembar Pengesahan

**TESIS INI TELAH DISETUJUI UNTUK DIUJI**

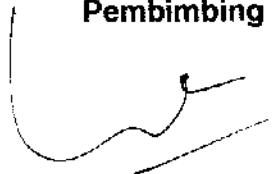
Oleh :

**Pembimbing Ketua**



**Dr. Hari Suprpto, M.Agr**  
NIP: 131 453 130

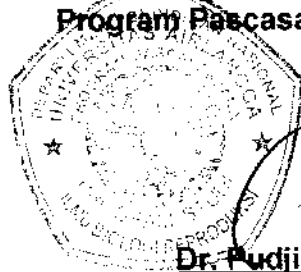
**Pembimbing**



**Dr. Bambang Poernomo S, MS., drh**  
NIP: 130 701 131

**Mengetahui**

**Ketua Program Studi Ilmu Biologi Reproduksi  
Program Pascasarjana Universitas Airlangga**



**Dr. Pudji Srianto, M.Kes., drh**  
NIP:131 570 349

## **PENETAPAN PANITIA PENGUJI**

**Tesis ini telah diuji dan dinilai  
oleh panitia penguji pada  
Program Pascasarjana universitas Airlangga  
Pada Tanggal : 10 Maret 2005**

### **Panitia Penguji,**

**Ketua : Prof. Dr. drh. H. Sarmanu, MS**  
**Anggota : Dr. Ir. Hari Suprpto, M.Agr**  
**Dr. Bambang Poernomo S, MS., drh**  
**Dr. Bambang Irawan, MSc**  
**Ors. Win Darmanto, Ph.D., MS**  
**Mas'ud Hariadi., M.Ph'i., Ph.D**

## Ucapan Terima Kasih

Puji syukur kehadiran Allah SWT, atas limpahan rahmat-Nya sehingga tesis ini dapat terselesaikan. Dalam proses penelitian sampai dengan penulisan tesis, banyak terjadi hambatan dan tantangan, namun berkat bimbingan dan dorongan semangat dari berbagai pihak, hambatan dan tantangan tersebut dapat diatasi. Oleh karena itu perkenankanlah penulis menyampaikan terima kasih yang tak terhingga kepada:

Dr. Ir. Hari Suprpto, M.Agr selaku pembimbing ketua yang dengan penuh perhatian dan kesabaran dalam memberikan bimbingan, dorongan semangat, saran dan koreksi sehingga tesis ini dapat diselesaikan.

Dr. Bambang Poernomo S., MS., drh. Selaku pembimbing yang juga dengan penuh pengertian, perhatian dan kesabaran telah memberikan dorongan, saran dan bimbingan sejak saya menempuh S2 sehingga membuka wawasan pemahaman untuk terus belajar dalam bidang teratologi.

Rektor dan Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga dan stafnya atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan untuk mengikuti program ini sampai selesai.

Ketua Program Studi Ilmu Biologi Reproduksi, drh. Mas'ud Hariadi. M.Phil., Ph.D beserta staf pengajar atas jasa dan bimbingannya selama menempuh studi lanjut S2.

Ketua Yayasan Pendidikan Cendekia Utama, Rektor dan Dekan Fakultas Pertanian Universitas Dr. Soetomo Surabaya atas pemberian ijin serta bantuan baik materil maupun moril, sehingga saya dapat menyelesaikan studi lanjut S2.

Para penguji atas masukan, saran dan koreksinya sehingga pelaksanaan dalam penelitian dan penyusunan tesis ini dapat selesai. Beliau adalah Dr. Ir. Hari Suprpto, M.Agr; Dr. Bambang Poernomo S., MS.,drh; Prof. Dr. H. Sarmanu. Drh., MS; Drs. Win Darmanto., Ph.D., MS; Dr. Ir. Bambang Irawan, MSc.

Gus Son Haji yang selalu memberi dorongan dan doa. Mas Mohtar W. Utomo .,MA, Mas Didik Budiyanto. Ir., MP; Muhajir SPi., M.Kes; Mas Yanto, dan teman-teman Jurusan Perikanan Unitomo. Teman satu angkatan IBR 2002: kepada Mbak Erma Safitri atas segala bantuannya selama ini yang tak pamrih, Mbak Gracia Gendarti, Wiwik Setyowati dan Dwirini Kartika Sari.

Ibunda Usfiah dan Ayahanda ( Almarhum ) Imam Slamet, terkasih yang telah mengasuh, mendidik dan membesarkan diri saya dengan kasih sayang, kesabaran dan tanggung jawab, selalu memberikan dukungan dan doa sehingga saya mampu menjalani kehidupan kedepan dengan semangat dan ketegaran. Adik Bachtiar Sufiyanto, Nurul Hidayati, Khairul Sasmito dan Rusdy Adi Widiyanto yang telah memberikan dorongan dan doanya.

Dewi Qiptiyah istri tercinta dan kedua anak saya tersayang Gladia Devanda Damayanti dan Andre Valiant Wirawan, yang penuh pengertian, pengorbanan dan kesabaran serta doa yang tak pernah henti sehingga saya dapat berkonsentrasi selama menyelesaikan studi S2.

Kepada mahasiswa jurusan Perikanan Unitomo yang telah membantu dalam persiapan dan pelaksanaan penelitian khususnya, Robin Imago, Monica dan Catur, dan mahasiswa lainnya yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

## RINGKASAN

### Effek Pemaparan Copper Sulfat ( $\text{CuSO}_4$ ) Terhadap Daya Tetas Telur, Perubahan Histopatologi Insang Dan Abnormalitas Larva Ikan Zebra (*Brachydanio rerio*)

Indra Wirawan

Air sebagai tempat berkembangnya berbagai kehidupan akuatik telah banyak mengalami pencemaran, baik yang berasal dari limbah rumah tangga maupun industri. Logam berat seperti copper (Cu) yang dibuang ke dalam badan air merupakan salah satu bahan pencemar yang dapat menimbulkan bahaya khususnya bagi ikan. Pengaruh tersebut bisa berupa pengaruh *lethal* maupun *sublethal*.

Copper dalam bentuk copper sulfat ( $\text{CuSO}_4$ ) adalah merupakan logam berat yang sampai saat ini masih digunakan dalam bidang pertanian (fungisida) dan dalam bidang perikanan khususnya budidaya ikan, yaitu sebagai algasida. Penggunaan copper sulfat yang berlebihan, dapat berdampak negatif terhadap populasi hewan akuatik.

Berkaitan dengan hal tersebut di atas maka penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui dan mempelajari tentang efek pemaparan copper sulfat terhadap: daya tetas, abnormalitas dan kondisi histopatologi insang pada ikan zebra (*Brachydanio rerio*).

Penelitian ini dilaksanakan secara ekperimental dengan menggunakan rancangan penelitian Rancangan Acak Lengkap dengan tiga perlakuan dan 6 kali ulangan. Dosis copper sulfat yang digunakan adalah 0,1 mg/l; 0,15 mg/l dan 0,3 mg/l.

Data yang diamati dalam penelitian ini adalah persentase daya tetas (*hatching rate*), abnormalitas (*malformation*) dan perubahan histopatologi insang larva ikan zebra. Analisis data menggunakan uji statistik *one way* (satu jalur) analisa varian (ANOVA) yang dilanjutkan dengan uji BNT taraf 5 %.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase daya tetas telur ikan zebra pada setiap perlakuan termasuk kontrol adalah sebagai berikut : dosis Kontrol (0,0 mg/l) 85,83 %; CU1 (0,1 mg/l) 65,833 %; CU2 (0,15 mg/l) 48,33% dan CU3 (0,3 mg/l) 30,00%.

Hasil penelitian terhadap perubahan histopatologi insang dianalisa secara deskriptif dan diperoleh gambaran sebagai berikut: pada kontrol tidak ditemukan adanya perubahan dan kelainan pada insang, lamella terletak pada proporsi yang baik. Pada dosis 0,1 mg/l menunjukkan terjadinya pembesaran epitel lamella yang disebabkan oleh terjadinya hipertropi akibat akumulasi konsentrasi copper sulfat. Kerusakan semakin meningkat pada dosis 0,15 mg/l dan 0,3 mg/l, yaitu epitelium berkembang menjadi hiperplasia. Selanjutnya terjadi nekrosis pada lamella.



Hasil penelitian terhadap persentase abnormalitas larva pada setiap perlakuan adalah sebagai berikut: Kontrol (1,66%); CU1 (12,66 %); CU2 (54,66%) dan CU3 (84,00 %). Sehubungan dengan abnormalitas juga diamati tipe abnormalitas pada larva ikan hasilnya yaitu: *Lordosis*, *scoliosis* dan *kyphosis* pada bagian vertebral memiliki persentase terbesar, kemudian diikuti cacat pada ekor, dan kepala.

Kesimpulan yang dihasilkan dari penelitian ini adalah: (1) Copper sulfat sebagai logam berat mempunyai efek dapat menurunkan daya tetas telur ikan zebra. Daya tetas telur terendah yaitu sebesar 30 % didapat pada perlakuan copper sulfat dengan dosis 0,3 mg/l, kemudian di ikuti dosis 0,15 mg/l dan 0,1 mg/l. (2) Copper sulfat mempunyai efek terhadap adanya perubahan pada insang ikan zebra. Epitelium mengalami kerusakan pada dosis 0,1 mg/l dan semakin meningkat kerusakannya dengan meningkatnya dosis. Pada dosis 0,3 mg/l yang ditandai dengan adanya nekrosis pada lamella. (3) Pemaparan copper sulfat dengan dosis 0,15 mg/l , dapat menyebabkan terjadinya abnormalitas pada larva ikan zebra. Pada dosis 0,3 mg/l persentase abnormalitas semakin meningkat. Tipe abnormalitas terdiri dari *Scoliosis*, *lordosis*, *kyphosis* pada *vertebral*, *cranial malformation* dan bagian ekor (*caudal region*). Persentase terbesar adalah cacat pada bagian vertebral.

## SUMMARY

### Effect of Copper Sulfate Exposure on Hatching Rate, Histopathological Changes of Gill and Malformations Of Zebra Fish (*Brachydanio rerio*) Larvae

Indra Wirawan

Water is place of the development of various aquatic life has been polluted by household and industrial waste. A heavy metals like copper thrown to body of water is one materials of pollution that can cause a danger, especially for fish. The impact of pollution is lethal and sublethal effect.

Copper in the form of copper sulphate ( $\text{CuSO}_4$ ) is heavy metal being used in the field of agriculture (fungicide) and in the field of fishery, especially in the fish culture as algacide. The frequent use as copper sulphate for preventing fungi and parasitic diseases in fish culture systems, can generate negative effects for aquatic organism.

Concerning the phenomnom above, the aim of this research was to understand the effect of copper sulphate toward: hatching rate, malformation, and the histopathological changes of zebra fish gill (*Brachydanio rerio*).

This research was conducted experimentally by using completely randomized design with three treatments and six times series. The dose of copper sulfate used was 0.1 mg/l; 0.15 mg/l and 0.3 mg/l.

The data observed is percentage of hatching rate, malformation and hystopathological change of gills of zebra fish larvae. Data analysis used was one way statistical examination, analysis of variant (ANAVA) followed by LSD examination at the level of 5 %.

The finding showed that the percentage of the hatching rate of zebra fish egg at every treatment including control was as follows: control dose (0.0 mg/l) is 85.83 %; CU1 (0.1 mg/l) is 65.833 %; CU2 (0.15 mg/l) is 48.33 %; and CU3 (0.3 mg/l) is 30.00 %.

The result toward the percentage of larva malformation at every treatment was follows: control ( 1.66 %); CU1 ( 12.66 %); CU2 ( 54.66 %), and CU3 ( 84.00 %). Related to malformation, it was also observed the type of malformation in larvae. The result was: Lordosis, scoliosis and kyphosis at the of vertebral that has the highest percentage, followed by the defect at tail and head.

The of research toward the histopathological change of gill with descriptive analysis, indicated as follows: there was no histopathological change in the fish gills for control. The dose 0,1 mg/l showed the enlargement of lamellae caused by hypertropy as the result of accumulation of the concentration of copper sulfat. The damage is

increasing at the dose 0,15 mg/l and 0,3 mg/l. In this case, epithelium develops hyperplasia.

The conclusion summarized as followed: copper sulfate on effect the of egg hatching rate. The lowest egg hatching is 30 % obtained from treatment in the dose 0,3 mg/l. (2) copper sulfate with the dose 0,15 can cause the malformation at zebra fish larvae, at the dose 0,3 mg/l the malformation persentage is increasing. The type malformation consist of scoliosis, lordosis, kyphosis at vertebral , cranial and caudal region malformation. (3) copper sulfat also effected on the changed gill of zebra fish. epithelium becomes damage at the dose 0,1 mg/l and the damage is increasing at the dose 0.3 mg/l indicated by necrosis at lamellae.

## ABSTRACT

### Effect of Copper Sulfate Exposure on Hatching Rate, Histopathological Changes of Gill and Malformations of Zebra Fish (*Brachydanio rerio*) Larvae

Indra Wirawan

Copper in the form copper sulphate ( $\text{CuSO}_4$ ) is heavy metal being used in the field of agriculture (fungicide) and in the field of fishery, especially in the fish culture as algicide. The frequent use as copper sulphate for preventing fungi and parasitic diseases in fish culture systems, can generate negative effects for aquatic organism.

Concerning the phenomenon above, the aim of this research is to understand the effect of copper sulphate toward: hatching rate, malformation, and the histopathology changes of zebra fish gill (*Brachydanio rerio*).

This research is conducted experimentally by using completely randomized design with three treatments and six times series. The dose of copper sulfate used is 0.1 mg/l; 0.15 mg/l and 0.3 mg/l.

The finding shows that the percentage of the hatching rate of zebra fish egg at every treatment including control is as follows: control dose (0.0 mg/l) is 85.83 %; CU1 (0.1 mg/l) is 65.833 %; CU2 (0.15 mg/l) is 48.33 %; and CU3 (0.3 mg/l) is 30.00 %.

The result toward the percentage of larva malformation at every treatment is follows: control ( 1.66 %); CU1 ( 12.66 %); CU2 ( 54.66 %), and CU3 ( 84.00 %). Related to malformation, it is also observed the type of malformation at larvae. The result is: Lordosis, scoliosis and kyphosis at the of vertebral that has the highest percentage, followed by the defect at tail and head.

The of research toward the change histopathology of gill indicates as follows: epithelia damage on dose 0,1 mg/l, in the dose 0,3 mg/l lamellar have necrosis.

**Key words:** zebra fish, copper sulphate, hatching rate, malformation, epithelia damage.

## DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Depan .....	i
Sampul Dalam.....	ii
Prasyarat Gelar.....	iii
Persetujuan.....	iv
Penetapan Panitia.....	v
Ucapan Terima Kasih.....	vi
RINGKASAN.....	ix
SUMMARY.....	xi
ABSTRACT.....	xiii
DAFTAR ISI.....	xiv
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xviii
BAB 1      PENDAHULUAN .....	1
1.1. Latar Belakang Masalah .....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	5
1.3. Tujuan Penelitian .....	5
1.4. Manfaat Penelitian .....	6
BAB 2      TINJAUAN PUSTAKA .....	7
2.1. Logam Berat .....	7
2.1.1. Tembaga (Cu) .....	11
2.2. Efek Tembaga Pada Ikan .....	13
2.2.1. Efek Fisiologis .....	13
2.2.2. Efek Pada Tingkah Laku .....	15
2.2.3. Toksisitas Akut Dan Kronik .....	15
2.3. Ikan Zebrafish ( <i>Brachydanio rerio</i> ) .....	17
2.3.1. Embriogenesis Zebrafish .....	19
2.4. Mekanisme Teratogenesis .....	26
BAB 3      KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS .....	29
3.1. Kerangka Konseptual .....	29
3.2. Hipotesis Penelitian .....	33
BAB 4      MATERI DAN METODE PENELITIAN .....	34
4.1. Rancangan Penelitian .....	34
4.2. Populasi dan Sampel .....	34

4.2.1. Populasi .....	34
4.2.2. Sampel .....	34
4.3. Variabel Penelitian .....	35
4.3.1. Klasifikasi Variabel .....	35
4.3.2. Definisi Variabel .....	35
4.4. Bahan Penelitian .....	36
4.5. Alat Penelitian .....	36
4.6. Metode Penelitian .....	37
4.6.1. Pembuatan Dosis Copper Sulfat (CuSO <sub>4</sub> ).....	37
4.6.2. Pemijahan Induk Zebrafish .....	37
4.6.3. Pengamatan .....	40
4.7. Analisa Data .....	41
4.8. Lokasi dan Waktu Penelitian .....	41
4.9. Kerangka Operasional Penelitian .....	41
 BAB 5	
ANALISIS HASIL PENELITIAN.....	43
5.1. Pengaruh Copper Sulfat Terhadap Daya Tetas Telur Ikan Zebra ( <i>Brachydanio rerio</i> ) .....	43
5.2. Pengaruh Copper Sulfat Terhadap Perubahan Histopatologik Insang Larva Ikan Zebra ( <i>Brachydanio rerio</i> ).....	45
5.3. Pengaruh Copper Sulfat Terhadap Abnormalitas Larva Ikan Zebra ( <i>Brachydanio rerio</i> ) .....	48
 BAB 6	
PEMBAHASAN .....	54
6.1. Pengaruh Copper Sulfat Terhadap Daya Tetas Telur Ikan Zebra ( <i>Brachydanio rerio</i> ) .....	54
6.2. Pengaruh Copper Sulfat Terhadap Perubahan Histopatologi Insang Larva Ikan Zebra ( <i>Brachydanio rerio</i> ) .....	56
6.3. Pengaruh Copper Sulfat Terhadap Abnormalitas Larva Ikan Zebra ( <i>Brachydanio rerio</i> ) .....	57
 BAB 7	
KESIMPULAN.....	61
7.1. Kesimpulan.....	61
7.2. Saran.....	62
 DAFTAR PUSTAKA.....	63
 LAMPIRAN .....	68

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1.1. Sifat-sifat fisika kimia tembaga (Cu).....	12
Tabel 2.3.3. Tahap perkembangan embrionik ikan Zebra.....	25
Tabel 5.1a. Jumlah telur ikan Zebra yang menetas pada tiap perlakuan dan persentasenya.....	43
Tabel 5.1b. Rata-rata persentase daya tetas telur ikan Zebra karena pengaruh pemaparan copper sulfat.....	44
Tabel 5.3a. Jumlah larva abnormal yang menetas pada tiap perlakuan dan persentasenya.....	49
Tabel 5.2b. Rata-rata persentase abnormalitas larva ikan Zebra karena pengaruh pemaparan copper sulfat.....	46

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.3. Gambar ikan Zebra ( <i>Brachydan rerio</i> ).....	18
Gambar 2.3.3a. Gambar perkembangan embrio ikan Zebra dari 4 sel sampai terbentuknya somit .....	24
Gambar 2.3.3b. Gambar perkembangan embrio ikan Zebra seteah 5 hari.....	24
Gambar 3.1. Gambar skema kerangka konseptual rencana penelitian.....	32
Gambar 4.62. Gambar tata letak akuarium penelitian dan pemijahan.....	39
Gambar 4.9. Gambar bagan alur prosedur kerja penelitian.....	42
Gambar 5.2.a Gambar kondisi histologi insang ikan zebra pada perlakuan kontrol .....	46
Gambar 5.2.b Gambar kondisi histologi insang ikan zebra pada perlakuan dosis 0,1 mg/l .....	47
Gambar 5.2.c Gambar kondisi histologi insang ikan zebra pada perlakuan dosis 0,15 mg/l.....	47
Gambar 5.2.d Gambar kondisi histologi insang ikan zebra pada perlakuan dosis 0,3 mg/l kontrol .....	48
Gambar 5.3a. Gambar tipe abnormalitas larva ikan zebra yang terpapar copper sulfat umur 5 hari.....	52
Gambar 5.3b. Gambar perkembangan tipe abnormalitas ikan zebra setelah berumur 2 bulan.....	53



## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Skema prosedur pembuatan histopat insang ikan.....	68
Lampiran 2. Analisis varian satu arah persentase daya tetas telur ikan Zebra yang terpapar copper sulfat.....	69
Lampiran 3. Data hasil uji LSD rata-rata persentase daya tetas telur ikan Zebra yang terpapar coppe sulfat.....	71
Lampiran 4. Perbedaan notasi hasil uji LSD pada rata-rata persentase daya tetas telur ikan Zebra.....	72
Lampiran 5. Analisis varian satu arah persentase abnormalitas larva ikan zebra yang terpapar copper sulfat.....	73
Lampiran 6. Data hasil uji LSD rata-rata persentase daya tetas telur ikan zebra yang terpapar copper sulfat.....	75
Lampiran 7. Perbedaan notasi hasil uji LSD pada rata-rata persentase Abnormalitas larva ikan Zebra.....	76
Lampiran 8. Prevalensi dan tipe abnormalitas larva ikan zebra karena pengaruh pemaparan copper sulfat.....	77

**BAB I**  
**PENDAHULUAN**

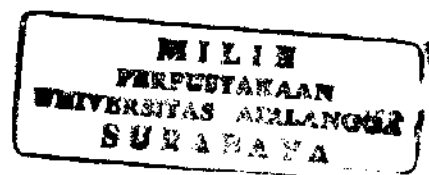
# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang Permasalahan

Masalah pencemaran perairan telah banyak terjadi di mana-mana, terutama di negara-negara berkembang. Pencemaran tersebut disebabkan masuknya zat asing ke dalam lingkungan, sebagai tindakan manusia yang merubah sifat-sifat fisik, kimia, dan biologis lingkungan. Pencemaran perairan pada umumnya terjadi karena adanya pemusatan aktivitas penduduk dan industrialisasi, pada daerah aliran sungai atau daerah-daerah lain yang membuang limbahnya ke badan air. Pengaruh bahan pencemar yang berasal dari limbah industri yang banyak mengandung logam berat seperti *Cadmium* (Cd), *Copper* (Cu), *Mercury* (Hg) dan kelompok *organochlorine* (OC) serta logam berat lainnya, dapat menyebabkan gangguan kehidupan biota akuatik (Darmono, 2001).

Ketchum (1971) menyatakan bahwa pengaruh bahan pencemar terhadap ikan dapat bersifat langsung maupun tidak langsung. Pengaruh langsung berarti langsung mempengaruhi ikan yang terkena bahan pencemar tersebut. Sedangkan pengaruh tidak langsung adalah pengaruh yang tidak langsung mematikan, tetapi baru diketahui dalam waktu yang cukup lama. Pengaruh ini lebih berbahaya dari pada pengaruh langsung. Salah satu pengaruh tidak langsung adalah perubahan keanekaragaman populasi alam.



Supriharyono (2000) menyatakan bahwa organisme yang terpapar logam berat dengan konsentrasi rendah dalam jangka waktu yang lama biasanya tidak mengalami kematian, akan tetapi akan mengalami pengaruh *sublethal*, yaitu suatu pengaruh yang terjadi pada organisme tanpa mengakibatkan kematian pada organisme tersebut tetapi dapat mempengaruhi terhadap tingkah laku reproduksi, modifikasi dalam *breeding capability*, cacat atau kelainan morfologi (*malformation*) dan lain sebagainya.

Logam berat merupakan unsur kimia yang pada akhir-akhir ini sangat ramai dituding sebagai bahan penyebab pencemaran air. Ada 18 unsur logam yang dipertimbangkan dengan masalah pencemaran air, walaupun merupakan unsur yang esensial bagi kehidupan organisme. Logam-logam seperti Ag, Hg, Cu, Cd dan Pb, merupakan unsur esensial bagi kehidupan organisme, sedangkan pada jumlah yang tinggi akan bersifat racun dan biasanya menghambat kerja enzim dengan membentuk "*mercaptides*" dengan kelompok "*sulphydryl*" yang bertanggung jawab pada aktivitas katalistik. Logam berat yang masuk kedalam perairan dapat berasal dari berbagai macam sumber umumnya yang paling banyak berasal dari industri. Beberapa jenis industri yang menghasilkan logam berat antara lain pulp, pabrik kertas, industri kimia, petrokimia, pupuk, pabrik kulit, pabrik tekstil dan lain sebagainya.

Terjadinya peningkatan kegiatan industri dan pertanian telah meningkatkan prevalensi dari logam berat dalam perairan. Logam berat seperti, Al, Pb, Zn, Cd, Hg, Cu, dan lain sebagainya, mempunyai efek merugikan pada populasi hewan akuatik (Darmono, 2001). Rowe, *et al.*

(1998) menyatakan bahwa logam berat tersebut dapat meningkatkan terjadinya cacat (*deformities*) bagian mulut, peningkatan laju metabolik dan menurunkan tingkat kelangsungan hidup dari larva American bullfrog (*Rana catesbeiana*).

Seringkali tembaga dalam bentuk *copper sulfate* ( $\text{CuSO}_4$ ) digunakan dalam upaya pemberantasan hama dan penyakit dalam usaha budidaya ikan yang secara umum dapat berdampak negatif pada ikan yang dipelihara. Konsentrasi copper sulfat yang diaplikasikan biasanya 0,3 – 2,0 mg/L (Kaur and Virk. 1980). Pande and Shukla (1992) menemukan bahwa *copper sulfate* dapat menyebabkan kemungkinan timbulnya perubahan dalam metabolisme lipid dan dapat mengubah morfologi dari insang dan hati pada ikan Indian catfish (*Mystus seenghala*).

Darmono (2001) menyatakan bahwa terjadinya perubahan struktur morfologi insang disebabkan karena ikan mengalami hipoksia (karena kesulitan mengambil oksigen dari dalam air) sehingga terjadi penebalan pada sel epitel insang, yang menyebabkan ikan kurang mampu berenang. Disamping itu terlihat adanya hiperplasia pada bagian lamella dan interlamela epitel filamen.

Jeziarska, *et al.* ( 2000 ) melaporkan hasil penelitiannya bahwa logam berat Cu dan Pb pada kadar 0,02 mg/l dapat menyebabkan terjadinya penurunan daya tetas telur dan timbulnya cacat pada larva ikan mas (*Cyprinus carpio*). Persentase kejadian cacat pada bagian *vertebral* dapat mencapai 80 %, sedangkan sisanya pada bagian *cranial* dan kantong kuning telur.

Kotwani (1995) menyatakan ikan dan amphibi pada fase embrio-larva merupakan suatu model yang sederhana dan efektif dalam penelitian teratogenesis. Selanjutnya dikatakan bahwa vertebrata tingkat rendah seperti ikan zebra (*Brachydanio rerio*), medaka (*Oryzias latipes*) dan minnow (*Phoxinus phoxinus*) mungkin merupakan hewan yang layak untuk dijadikan system pengujian dalam bidang teratologi.

Ikan Zebra (*Brachydanio rerio*), merupakan golongan ikan teleostei berukuran kecil (3-5 cm) yang sampai saat ini banyak dipelihara sebagai ikan hias. Ikan ini banyak direkomendasikan sebagai model dalam studi biologi perkembangan. Hal ini karena adanya keunggulan yang dimiliki antara lain: perkembangan embrio ikan zebra terjadi diluar tubuh induk betina dengan keadaan telur yang transparan sehingga memudahkan dalam pengamatan atau visualisasi terhadap keadaan jaringan dan organ tubuhnya. Proses organogenesis berjalan sangat cepat setelah 5 – 6 hari sejak terjadinya fertilisasi keseluruhan organ tubuh telah lengkap. Ikan Zebra mampu menghasilkan ratusan telur perminggu, dan mudah dikembangkan dalam skala laboratorium (Rubinstein, 2003).

Dari uraian di atas, maka sangatlah penting untuk mengkaji efek *copper sulfate* ( $\text{CuSO}_4$ ) terhadap daya tetas telur, perubahan morfologi insang dan abnormalitas larva ikan zebra (*Brachydanio rerio*). Penelitian ini merupakan penelitian terapan yang dikerjakan secara eksperimental laboratorik dengan menggunakan hewan coba ikan zebra sebagai model.

## 1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut diatas, maka dapat dikemukakan rumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah *copper sulfate* ( $\text{CuSO}_4$ ) dapat mempengaruhi daya tetas telur ikan zebra (*Brachydanio rerio*) ?.
2. Apakah *copper sulfate* ( $\text{CuSO}_4$ ) dapat menyebabkan terjadinya perubahan histopatologik insang pada larva ikan zebra (*Brachydanio rerio*) ?.
3. Apakah *copper sulfate* ( $\text{CuSO}_4$ ) dapat menyebabkan terjadinya abnormalitas (*malformation*) pada larva ikan zebra (*Brachydanio rerio*) ?.

## 1.3. Tujuan

### 1.3.1. Tujuan Umum

Penelitian ini didesain untuk mengetahui dan mempelajari pengaruh *copper sulfate* ( $\text{CuSO}_4$ ) terhadap larva ikan zebra (*Brachydanio rerio*).

### 1.3.2. Tujuan Khusus

1. Mengetahui pengaruh *copper sulfate* ( $\text{CuSO}_4$ ) terhadap daya tetas telur ikan zebra (*Brachydanio rerio*).
2. Mengetahui pengaruh *copper sulfate* ( $\text{CuSO}_4$ ) terhadap terjadinya perubahan histopatologik insang pada larva ikan zebra (*Brachydanio rerio*).
3. Mengetahui pengaruh *copper sulfate* ( $\text{CuSO}_4$ ) terhadap terjadinya abnormalitas (*malformation*) pada larva ikan zebra (*Brachydanio rerio*).

#### **1.4. Manfaat Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang pengaruh logam berat pada organisme air, khususnya pengaruh *sublethal* dari *copper sulfate* ( $\text{CuSO}_4$ ) terhadap perkembangan larva ikan zebra (*Brachydanio rerio*). Selain itu diharapkan pula dapat memberikan kontribusi bagi pihak-pihak terkait dalam penyusunan pedoman pembuangan limbah berupa logam berat ke dalam perairan.



## **BAB 2**

# **TINJAUAN PUSTAKA**

## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Logam Berat

Logam berat adalah unsur-unsur kimia dengan bobot jenis lebih besar dari  $5 \text{ g/cm}^3$ , terletak di sudut kanan bawah system periodik, mempunyai afinitas yang tinggi terhadap unsur S dan biasanya bernomor atom 22 sampai 92 dari perioda 4 sampai 7 (Mittinen, 1977). Sebagian logam berat seperti timbal (Pb), kadmium (Cd) dan merkuri (Hg) merupakan zat pencemar yang berbahaya. Afinitas yang tinggi terhadap unsur S menyebabkan logam ini menyerang ikatan belerang dalam enzim, sehingga enzim bersangkutan menjadi tidak aktif. Gugus karboksilat (-COOH) dan amina (-NH<sub>2</sub>) juga bereaksi dengan logam berat. Kadmium, timbal dan tembaga (Cu) terikat pada sel-sel membran yang menghambat proses transformasi melalui dinding sel. Logam berat juga mengendapkan senyawa fosfat biologis atau mengkatalisis penguraiannya (Manahan, 1977)

Berdasarkan sifat kimia dan fisiknya, maka tingkat atau daya racun logam berat terhadap hewan air dapat diurutkan (dari tinggi ke rendah) sebagai berikut: merkuri (Hg), kadmium (Cd), seng (Zn) timah hitam (Pb), krom (Cr), nikel (Ni) dan kobalt (Co) (Sutamiharjda dkk, 1982).

Supriharyono (2000) melaporkan hasil penelitian mengenai tingkatan kekuatan daya racun beberapa logam berat terhadap spesies organisme yang sama dalam hal ini digunakan ikan air tawar, fathead minnow (*Pimephales promelas*) dari penelitian tersebut diperoleh

urutan daya racun logam berat dari yang kuat sampai ke yang lemah adalah sebagai berikut: Cu>Cd>Be>Sb>Ni>V>Pb>Ti>U>Zr>Mo. Sedangkan menurut Kementrian Negara Kependudukan dan Lingkungan Hidup (1990) sifat toksisitas logam berat dapat dikelompokkan ke dalam 3 kelompok, yaitu bersifat toksik tinggi yang terdiri dari atas unsur Hg, Cd, Pb, Cu, dan Zn. Bersifat toksik sedang terdiri dari unsur Cr, Ni dan Co, sedangkan bersifat toksik rendah terdiri atas unsur Mn dan Fe.

Adanya logam berat di perairan, dapat berbahaya baik secara langsung terhadap kehidupan organisme, maupun efeknya secara tidak langsung terhadap kesehatan manusia. Hal ini berkaitan dengan sifat logam berat (Sutamihardja. dkk, 1982) yaitu:

1. Sulit didegradasi, sehingga mudah terakumulasi dalam lingkungan perairan dan keberadaannya secara alami sulit terurai (dihilangkan).
2. Dapat terakumulasi dalam organisme termasuk kerang dan ikan, dan akan membahayakan kesehatan manusia yang mengkonsumsi organisme tersebut.
3. Mudah terakumulasi di sedimen, sehingga konsentrasinya selalu lebih tinggi dari konsentrasi logam dalam air. Disamping itu sedimen mudah tersuspensi karena pergerakan masa air yang akan melarutkan kembali logam yang dikandungnya ke dalam air, sehingga sedimen menjadi sumber pencemar potensial dalam skala waktu tertentu.

Menurut Supriharyono ( 2000 ) Logam berat yang masuk kedalam perairan akan mengalami paling tidak tiga proses, yaitu pengendapan,

adsorpsi dan absorpsi oleh organisme-organisme perairan. Apabila konsentrasi logam lebih besar dari daya larut terendah komponen yang terbentuk antara logam dan anion yang ada dalam air seperti *carbonat*, *hidroksil* atau *chlorida*, maka logam tersebut akan diendapkan. Kebanyakan logam – logam berat mempunyai daya larut yang tinggi (kecuali Fe yang sangat mudah mengendap). Tingginya daya larut kebanyakan logam inilah yang sangat membahayakan kehidupan organisme perairan.

Selain diendapkan logam berat dapat pula dipindahkan dari badan air melalui proses adsorpsi (ikatan). Partikel-partikel bahan tertentu seperti *hydrates ferric oxide*, *hydrated mangane oxyde*, *clay mineral*, dan bahan-bahan organik yang terkandung dalam perairan dapat mengadsorpsi (mengikat) logam-logam berat. Logam berat yang berbentuk ion lebih bersifat toksik dibandingkan bentuk lainnya. Logam berat dalam air dapat pula dipindahkan dari badan air melalui absorpsi (penyerapan) oleh organisme air, baik secara langsung maupun tidak langsung melalui rantai makanan. Absorpsi secara langsung biasanya melalui bagian-bagian tubuh seperti insang, dan dinding usus adalah lebih berbahaya dibandingkan melalui rantai makanan. Di dalam rantai makanan, mikroorganisme ini akan dimakan oleh para pemangsanya (ikan-ikan kecil), dan ikan-ikan ini akan dimakan oleh ikan yang lebih besar atau konsumen tingkatan yang lebih tinggi dan seterusnya, termasuk manusia yang memakan ikan. Kondisi ini akan memungkinkan terjadinya penumpukan logam berat di dalam jaringan tubuh organisme pada setiap tropik level.

Organisme akuatik pada tingkat tropik level rendah seperti alga, phytoplankton, dan invertebrata yang bersifat filter-feeding, akumulasi logam berat berasal dari dalam kolom air. Sedangkan spesies yang berada pada tingkat tropik level yang tinggi seperti ikan akumulasi logam berat berasal dari dua sumber yaitu: berasal dari bioakumulasi dari jaringan tubuh organisme yang dimakan dan penyerapan secara langsung dari dalam kolom air.

Eisler (1997) menyatakan secara umum ikan yang besar dan dewasa memiliki kadar logam berat dalam tubuhnya lebih tinggi, hal ini disebabkan mereka merupakan spesies yang besar dengan tingkat tropik level yang tinggi pula. Namun demikian kadar konsentrasi logam berat dalam jaringan tubuh ikan berbeda dalam setiap spesies dan tergantung pula pada perbedaan jenis pakan, laju metabolik dan laju pertumbuhannya.

Supriharyono (2000) menyatakan secara umum pengaruh logam berat, atas dasar daya racunnya terhadap organisme air ( ikan, udang-udangan, kerang ) dapat dibagi menjadi dua, yaitu pengaruh racun yang bersifat *lethal* atau mematikan dan pengaruh *sublethal*. Pengaruh yang bersifat mematikan (*lethal*) biasanya diekspresikan sebagai "*median lethal concentration*" atau  $LC_{50}$ , yaitu konsentrasi yang dibutuhkan untuk membunuh 50 % dari pada organisme uji dalam kurun waktu tertentu, seperti 24, 48 atau 96 jam. Konsentrasi *lethal* tersebut berbeda untuk setiap organisme dan jenis logam berat. Sedangkan *sublethal*, yaitu pengaruh yang terjadi pada organisme tanpa mengakibatkan kematian pada organisme tersebut. Pengaruh *sublethal* ini dapat dibedakan atas

tiga macam yaitu : 1) menghambat pertumbuhan , perkembangan, dan reproduksi; 2) menyebabkan terjadinya perubahan morfologi; dan 3) mengubah tingkah laku dari organisme.

### 2.1.1. Tembaga (Cu)

Birge and Black (1979) menyatakan tembaga (Cu) merupakan salah satu elemen mikro yang esensial bagi tumbuhan dan hewan, yang dibutuhkan dalam sintesa klorofil (*a photosynthetic pigment in plants*) dan sintesa hemoglobin (*a respiratory blood pigment*). Tembaga juga membantu mengikat oksigen dalam *haemocyanin* pada golongan moluska dan invertebrata lainnya. Tembaga sering ditemukan dalam bentuk yang bervariasi, dari hasil deposit mineral di perairan laut kadar tembaga dapat berkisar antara 0,005 sampai 29,2 µg/l. Tembaga ini biasanya masuk ke dalam lingkungan perairan berasal dari limbah industri, limbah perkotaan dan kegiatan pertanian.

Penggunaan Tembaga dan senyawanya telah digunakan oleh manusia sejak zaman prasejarah, hal tersebut terlihat dari berbagai macam properti dan kegiatan seperti *malleability, ductility, conductivity*, anti karat, campuran logam dan kegiatan lainnya. Pada saat sekarang penggunaan tembaga semakin luas antara lain kegiatan elektronik, konstruksi, *plumbing* dan industri otomotif. Industri elektronika menggunakan tembaga sebagai material utama hampir lebih dari 50 % dari total produksinya. Kegiatan konstruksi dan plumbing menempati urutan kedua sebagai pengguna tembaga antara lain dalam kegiatan

pembuatan pipa dan industri peleburan tembaga (*bronze, brass*) ( Moore and Ramamoorthy, 1984).

Tembaga dapat diklasifikasikan ke dalam logam mulia seperti perak (*silver*) dan emas (*gold*), yang secara rinci sifat-sifat fisika dan kimia dari tembaga seperti tertera pada table 1.

**Tabel 2.1.1. Sifat-Sifat Fisika dan Kimia Tembaga (Cu)**

Nama Logam	Tembaga (Cu)
Berat molekul	63,546
Warna	Kemerah-merahan
Bentuk fisik	Padat
Titik Lebur ( <i>Melting Point</i> ) °C	1083,4
Titik Didih ( <i>Boiling Point</i> ) °C	2567
Density g/cm <sup>3</sup>	8.92
Bau ( <i>Odour</i> )	Tidak Berbau
Rasa ( <i>Taste</i> )	Tidak ada data
Solubility	
Water (g/100ml)	Insoluble (CuSO <sub>4</sub> @ 0°C)
Organic Solvent	"(CuSO <sub>4</sub> soluble in methanol)

Sumber : Alberta Environmental Protection. 1996

Beberapa dari senyawa tembaga (*copper*) banyak digunakan secara luas dalam bidang pertanian sebagai pembasmi hama, proteksi dari hama tanaman dan sebagai mikronutrien. Senyawa dari tembaga juga digunakan dalam bidang ilmu kedokteran, ilmu kedokteran hewan serta perikanan (*algaside*). Senyawa kompleks dari tembaga dengan ammonia (*copper ammonia*) {Cu (NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>} digunakan untuk mengontrol ectoparasit pada ikan. Efek toksik dari *copper* lebih kuat jika terdapat pada air yang lunak (*soft water*), sedangkan pada perairan yang keras (*hard water*) sebagian dari *copper* akan terikat, menjadi bentuk *copper carbonat* atau *hidrocarbonat* (Metelev, et al. 1971)



*Copper sulfate* atau tembaga sulfat, adalah merupakan padatan kristal biru dengan rumus kimia  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ . Pada skala industri senyawa ini dibuat dengan memompakan udara melalui campuran tembaga panas dengan asam sulfat encer. Tembaga sulfat mempunyai banyak kegunaan dalam bidang industri, antara lain untuk membuat campuran *Bordeaux* (suatu fungisida) dan senyawa tembaga lainnya. Senyawa ini juga digunakan dalam penyepuhan dan pewarnaan tekstil serta sebagai bahan pengawet kayu. Tembaga sulfat juga dikenal sebagai vitrol biru (Daintith, 1999).

## 2.2. Efek Tembaga Pada Ikan

### 2.2.1. Efek fisiologis

Tembaga berpengaruh pada karakteristik darah pada ikan. Pada ikan Rainbow trout dengan pemaparan Cu sampai 2 mg/l dapat meningkatkan gula darah dan enzim plasma (Nemesok and Hughes, 1988). Jumlah eritrosit dan hemoglobin secara umum meningkat, sebaliknya leukosit dan limposit menurun pada ikan brook trout (*Salvenilus fontinalis*), rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) dan karper (*Cyprinus carpio*) (McKim et al. 1970). Cyriac et al, (1989) melaporkan ikan tilapia yang terekspos dengan tembaga menunjukkan adanya tanda-tanda terjadinya *haemodilution* yaitu: kadar hemoglobin yang rendah demikian juga dengan kadar haemotokrit, dan eritrositnya mengalami penggembungan jika dibandingkan dengan ikan yang tidak terekspos oleh tembaga.



Pada ikan Asian catfish (*Saccobranchus fossilis*) pemaparan tembaga sebesar 0,05 mg/l secara signifikan dapat menurunkan kadar *haemoglobin* dan *haematocrit*, jumlah sel darah merah dan sel darah putih rendah dan selanjutnya terus mengalami penurunan secara gradual (Khangarot and Tripathi, 1991).

Pada ikan Zebra (*Brachydanio rerio*) yang terpapar tembaga akan menyebabkan terjadinya *Hemorrhagi* pada bagian lambung dan bagian pangkal sirip dengan skala yang luas, dan menyebabkan warna tubuh ikan menjadi gelap atau hitam (Weinstein, 1978). Sedangkan pada ikan karper dapat menyebabkan terjadinya produksi lendir pada bagian kulit dan insang, warna insang akan menjadi coklat kemerahan dengan pendarahan yang cukup berat (Svobodova, *et al.* 1994).

Pemaparan tembaga dapat menyebabkan terganggunya regulasi ion dalam tubuh rainbow trout (Wilson and Taylor, 1993). Tembaga mempunyai efek yang kecil terhadap transportasi calcium pada insang rainbow trout, tetapi dapat menghambat masuknya sodium dan menstimulasi sodium keluar dari tubuh. Tingginya kadar alkalinitas dapat menurunkan efek tembaga terhadap sirkulasi sodium dalam tubuh atau permeabilitas dari membran insang (Lauren and Mc Donald, 1986). Tembaga juga menyebabkan terjadinya perubahan – perubahan histology pada organ olfaktori dan menyebabkan lesi pada sistem sensori pada ikan rainbow trout (Saucier, *et al.* 1991).

Respon imun ikan gurami (*Osphronemus gorami*) terhadap virus dan bakteri terpengaruh oleh adanya tembaga. Pada ikan coho salmon

( *Oncorhynchus kisutch* ) yang terpapar tembaga menyebabkan menurunnya kadar antibody terhadap serangan *Vibrio* (Stevens, 1977).

### 2.2.2 Efek Pada Tingkah Laku Ikan

Tingkah laku dalam mencari makan pada beberapa ikan terpengaruh oleh adanya tembaga, demikian pula akibat adanya tembaga dalam perairan dapat mempengaruhi kemampuan berenang dan menangkap makanan sehingga menyebabkan pertumbuhan menjadi terhambat (Beamont, *et al.* 1995).

Ikan Guppies (*Poecilia reticulata*) yang terpapar tembaga akan mengalami peningkatan frekuensi gerakan dari operkulum dan aktivitas renangnya serta terjadi kelainan tingkah laku dalam mengambil oksigen dari dalam air. Sedangkan ikan zebra secara umum memiliki respon yang lambat sampai terjadinya kehilangan keseimbangan (Weinstein, 1978).

Giattina and Garton (1983) mengatakan bahwa ikan memiliki tingkah laku untuk menghindar jika pada perairan tersebut terdapat tembaga. Ikan mulai menghindar jika konsentrasi tembaga berkisar antara 0,0001 sampai 0,07 mg/l. rangsangan ikan untuk menghindar juga dipengaruhi oleh temperatur dan tingginya kadar tembaga.

### 2.2.3. Toksisitas Akut dan Kronik

Benih ikan brook trout dan Chinook salmon ( *Oncorhynchus tshawtscha* ) pada stadia awal lebih mampu bertahan hidup terhadap pemaparan tembaga dibanding stadia yang lebih tua (Mc. Kim and Benoit, 1971; Chapman, 1978). Demikian juga ukuran ikan tampaknya

mempunyai efek yang berbeda terhadap toksisitas dari tembaga. Ikan yang mempunyai ukuran kecil lebih sensitif terhadap tembaga dibandingkan ikan yang besar dalam hal ini untuk spesies cutthroat trout (*Oncorhynchus clarki*) (Chakoumakis, et al. 1979), rainbow trout (Hoarth and Sprague, 1978).

Toksisitas tembaga meningkat dan daya toksiknya semakin cepat terhadap ikan pada perairan yang mempunyai suhu yang tinggi. Sedangkan pada perairan yang memiliki kesadahan yang tinggi daya toksik tembaga menurun dibandingkan perairan dengan perairan yang mempunyai nilai kesadahan yang rendah. Kesadahan air dapat menurunkan toksisitas tembaga pada beberapa spesies ikan antara lain: rainbow trout, fethead minnow (*Pimephales promelas*), karper, channel catfish (*Ictalurus punctatus*) dan salmon (Chapman and McCrady, 1977).

*Copper sulfate* ( $\text{CuSO}_4$ ) yang sering digunakan sebagai algasida, pada konsentrasi 0,143 mg/l tidak menyebabkan kematian pada ikan trout, sedangkan pada konsentrasi 0,33 mg/l dapat mematikan ikan mas (*Cyprinus carpio*). Konsentrasi 0,51 mg/l bersifat toksik pada telur ikan brown trout setelah 24 jam pemaparan, dan pada konsentrasi 0,25 mg/l bersifat toksik pada pemaparan selama 48 jam. Pada konsentrasi 2,0 mg/l bersifat *lethal* pada ikan Perch setelah 1,5 – 5,5 jam, tidak bersifat toksik pada konsentrasi 0,12 mg/l dalam 15 jam. Sedangkan pada konsentrasi 0,25 mg/l setelah 24 – 40 jam pemaparan ikan perch mati, selanjutnya pada konsentrasi 0,13 mg/l setelah 2 – 2 ½ hari, dan 0,1 mg/l setelah 3 hari pemaparan (Metelev., et al, 1971).

Toksisitas kronik tembaga terhadap ikan bervariasi. Daya tetas telur ikan fathead minnow tidak terpengaruh dengan adanya tembaga. Sedangkan kelangsungan hidup benih ikan mas terpengaruh oleh adanya tembaga dengan konsentrasi lebih dari 1,0 mg/l. Pada konsentrasi 0,018 mg/l dapat menghambat daya tetas telur beberapa jenis ikan (Kaur and Virk, 1980). Tembaga juga dapat menurunkan pertumbuhan dan perkembangan stadia awal dari ikan rainbow trout dan Asian catfish (Pande and Shukla, 1992).

Penggunaan *copper sulfate* ( $\text{CuSO}_4$ ) sebagai algasida untuk jangka waktu beberapa minggu pada konsentrasi 0,15 - 0,20 mg/l tidak bersifat racun pada ikan trout yang dipelihara sampai 3 tahun. Telur ikan trout dapat bertahan tanpa terjadi kerusakan pada konsentrasi 0,08 mg/l (Metelev., *et al.* 1971).

### **2.3. Ikan Zebra (*Brachydanio rerio* Hamilton-Buchanan, 1822)**

Ikan zebra (*Brachydanio rerio*) adalah merupakan golongan ikan *cyprinid* yang mempunyai ukuran tubuh kecil, yaitu antara 3-5 cm yang dipelihara sebagai ikan hias. Ikan Zebra tumbuh cepat pada perairan yang mempunyai suhu 29 °C, dan dapat hidup pada perairan baik yang lunak (*soft water*) maupun keras (*hard water*). Tingkat kematangan gonad dapat dicapai pada umur 3 bulan, dalam satu kali pemijahan dapat dihasilkan telur berkisar antara 100 – 200 butir (Nagel, 2002).

Klinge (2000) memasukkan ikan zebra kedalam taksonomi sebagai berikut:

Phylum	: Chordata
Subphylum	: Vertebrata
Class	: Osteichthyes
Subclass	: Actinopterygii
Ordo	: Cypriniformes
Suborder	: Cyprinoidei
Family	: Cyprinidae
Genus	: <i>Brachydanio</i>
Species	: <i><b>Brachydanio rerio</b></i>

Gambar ikan zebra *Brachydanio rerio*, seperti tertera pada Gambar 2.3.



**Gambar 2.3. Gambar Ikan Zebra (*Brachydanio rerio*)**

Sumber : <http://zfish.uoregon.edu>

Streisinger (1981) memberikan gambaran tentang keunggulan ikan zebra dibandingkan dengan ikan lainnya sebagai hewan coba dalam studi biologi perkembangan adalah sebagai berikut:

- Mempunyai fekunditas yang tinggi
- Betina matang gonad dapat memproduksi ratusan butir telur setiap minggu
- Waktu generasi menjadi dewasa 3-4 bulan
- Perkembangannya cepat
- Fertilisasi secara eksternal
- Perkembangan embrio mudah diamati (*Translucent embryo*)
- Penanganan dan pemeliharaannya mudah

### **2.3.1. Embriogenesis Ikan Zebra (*Brachydanio rerio*)**

Tang dan Affandi (2001) menyatakan bahwa embrio adalah makhluk yang sedang berkembang sebelum makhluk tersebut mencapai bentuk definitif seperti bentuk makhluk dewasa. Selanjutnya dikatakan bahwa perkembangan makhluk hidup dalam embriologi dibedakan dalam tiga tahap perkembangan yaitu: 1) *Progenase*, dimulai dari perkembangan sel kelamin sampai menjadi zygote, 2) *Embriogenase*, merupakan proses perkembangan zygote, pembelahan zygote, blastulasi, gastrulasi dan neurulasi dan 3) *Organogenase*, merupakan proses perkembangan alat-alat tubuh seperti jantung, paru-paru, ginjal, otak dan sebagainya.

Pembelahan zygot adalah rangkaian mitosis yang berlangsung berturut-turut segera setelah terjadinya pembuahan. Pembelahan zygot berlangsung cepat sehingga sel anak tidak sempat tumbuh, sehingga besar sel anak makin lama makin kecil, sesuai dengan tingkat pembelahan. Akibatnya pembelahan menghasilkan kelompok sel anak yang disebut morula dan sel anak disebut blastomer. Blastomer melekat satu sama lain oleh kekuatan saling melekat yang disebut tigmotaksis.

Pembelahan pada telur ikan bergantung pada macam telurnya *homolechital (isolechital)* atau *telolechital*. Pembelahan pada telur *homolechital (isolechital)* disebut pembelahan *holoblastic*, yaitu meridional yang menyebabkan telur membelah menjadi dua buah sel yang sama besarnya, setelah selesai pembelahan pertama diikuti pembelahan kedua yang juga meridian tetapi arahnya tegak lurus dengan pertama sehingga terbentuk empat buah sel. Pembelahan ketiga equatorial tegak lurus dengan pembelahan pertama dan kedua dan terbentuk delapan buah sel. Pembelahan berikutnya ada dua dan sejajar dengan pembelahan ketiga sehingga apabila selesai akan terbentuk 16 sel. Selanjutnya pada pembelahan berikutnya akan terbentuk 32, 64 sel dan seterusnya. Pembelahan pada telur *telolecithal* disebut *meroblastic* dimana kuning telurnya tidak ikut membelah. Jadi yang membelah hanya keping protoplasmanya saja yang terdapat pada kutub anima (Effendi, 1997). Telur ikan Zebra tergolong telur *telolechithal* sehingga pembelahan termasuk pembelahan *meroblastic* (Stresinger, 1981)

Menurut Lagier (1972) menyebutkan bahwa pembelahan pertama pada telur *telolechithal* akan membagi blastodisk menjadi dua bagian yang

selanjutnya masing-masing bagian akan membelah lagi menjadi 4, 8, 16, dan 32 sel. Pembelahan sel ini akan menghasilkan *blastoderm* yang makin lama makin menebal. Tahap pembelahan sel berakhir setelah terbentuknya rongga *blastocoel* yang terletak antara *blastoderm* dan jaringan *periblast* yang menempel pada kuning telur. Pada tahap ini disebut stadium blastula awal.

Menurut Effendi (1997) setelah stadia blastula awal sebagai kelanjutannya adalah stadium blastula dimana sel-selnya terus mengadakan pembelahan dengan aktif sehingga ukuran sel-selnya semakin kecil. Pada stadium blastula ini terdapat dua macam sel yaitu sel formatif dan non formatif. Sel formatif masuk ke dalam komposisi tubuh embrionik sedangkan sel nonformatif sebagai *tropoblast* yang ada hubungannya dengan nutrisi embrio. Sel *blastoderm* yang kelak akan menjadi bagian depan embrio, lapisannya lebih tebal. Sel-sel bagian pinggir *blastoderm* yang dekat kuning telur juga lapisannya menjadi tebal yang dinamakan cincin kecambah. Pada saat stadium blastula terdapat daerah sel yang dapat diperkirakan atau dipetakan menjadi lapisan *ectoderm (epiblast)*, *entoderm (hypoblast)* dan *mesoderm (mesoblast)*.

Stadia gastrula dimulai saat terjadi proses konversi satu lapis pada blastula menjadi dua lapis, yaitu bilaminar atau gastrula dedermik. Pada proses *gastrula* terjadi perpindahan ektoderm, mesoderm, endoderm dan *notochorda* menuju tempat definitif. Ektoderm adalah lapisan terluar dari gastrula, disebut juga ektoblast atau epiblast; endoderm adalah lapisan sel-sel terdalam pada gastrula, sedangkan mesoderm atau mesoblast adalah lapisan sel lembaga yang terletak di tengah antara ektoderm dan



endoderm. Gastrulasi erat kaitannya dengan pembentukan susunan syaraf (*neurulasi*), penjelmaan bentuk primitif dan merupakan periode kritis perkembangan. Seperti pada umumnya ikan teleostei mula-mula terjadi penebalan di seluruh tepi blastodisk, dengan demikian terbentuk suatu lingkaran seperti cincin yang disebut cincin kecambah (*germ ring*). Di tepi kaudal cakram kecambah, penebalan cincin lebih menonjol dan meluas ke arah dalam menuju pusat cakram kecambah. Cincin kecambah posterior yang keadaannya lebih tebal disebut perisai cincin kecambah (*embryonic shield*) (Tang dan Affandi, 2001).

Menurut Effendi (1997) terdapat dua macam pergerakan sel dalam stadium gastrula yaitu : (1) *Epiboly* ialah suatu pergerakan sel-sel yang dianggap akan menjadi epidermis dan daerah persyarafan. Dengan adanya gerak epiboli ini akan terjadi penutupan kuning telur, kecuali di tempat yang dinamakan blastopore. (2) *Emboly* ialah pergerakan sel yang arahnya menuju bagian dalam terutama di ujung sumbu bakal embryo. Dalam gerak emboly dikenal istilah involusi, invaginasi dan delaminasi. Involusi adalah pergerakan sel dengan rotasi menuju ke bagian dalam di daerah pinggir blastopore. Dalam proses ini sel-sel di pinggir blastopore akan masuk menjadi lapisan di bawahnya. Invaginasi ialah proses mendalamnya lapisan sel yang akan membentuk suatu lekukan dimana pinggirnya terdapat penonjolan. Deliminasi ialah pemisahan beberapa kelompok sel; terutama lapisan endoderm kemudian membuat lapisan baru yaitu mesoderm. *Gastrulasi* berakhir apabila kuning telur sudah tertutup oleh lapisan sel, dan beberapa jaringan mesoderm yang berada

sepanjang kedua sisi *notochorda* disusun menjadi segmen-segmen yang disebut somit, yaitu ruas yang terdapat pada embrio.

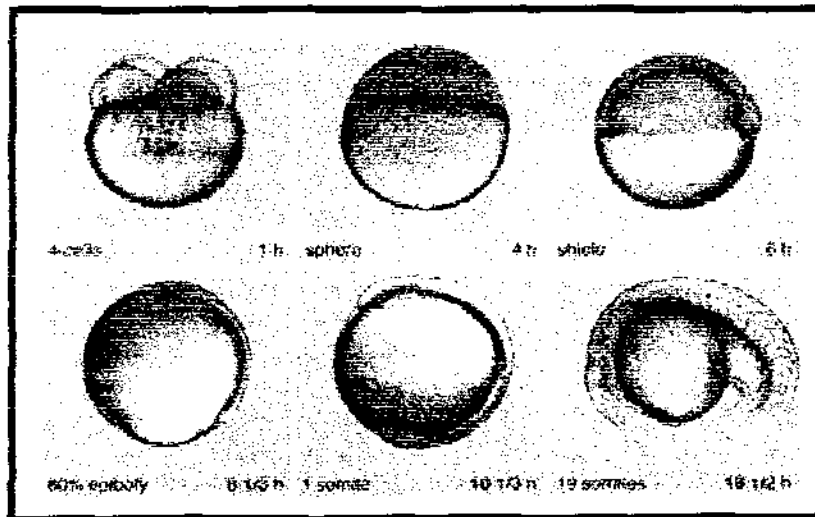
*Organogenesis* adalah proses pembentukan organ-organ tubuh makhluk hidup yang sedang berkembang. Proses organogenesis terbentuk bakal organ antara lain syaraf, *notochorda*, mata somit, rongga kuffer, kantong olfaktori, rongga ginjal, usus, tulang sub*notochord*, *linea lateralis*, jantung aorta, insang infundibulum dan lipatan-lipatan sirip. Organ-organ tersebut berasal dari ectoderm, endoderm dan mesoderm. Dari ectoderm akan terbentuk organ-organ susunan syaraf dan epidermis kulit. Dari endoderm akan terbentuk saluran pencernaan dan alat pernafasan, sedangkan dari mesoderm akan muncul rangka otot, alat-alat peredaran darah, alat ekskresi, alat reproduksi dan korum kulit ( Effendie, 1997).

Dari ectoderm selanjutnya akan muncul lapisan luar gigi, epitelium olfaktoris, syaraf, lensa mata dan telinga dalam. Mesoderm terbagi menjadi bagian dorsal, intermediet dan lateral. Mesoderm dorsal terbagi menjadi dua kelompok somit. Tiap somit terbagi menjadi menjadi tiga bagian yaitu skeleroton, miotom dan dermaton. *Skeleroton* membentuk rangka aksial. Miotom berkembang menjadi otot tubuh rangka apendiklar, sirip dan otot-ototnya. *Dermaton* berkembang menjadi jaringan-jaringan ikat dermis kulit dan derivat kulit termasuk kulit (Tang dan Effandi, 2001).

Mesoderm lateral menjadi lapisan dalam dan luar yang membungkus ruang coelom. Pelapis ruang pericardium, peritoneum, jantung, saluran darah, tubuh dan lapisan usus. Endoderm memasuki sel-

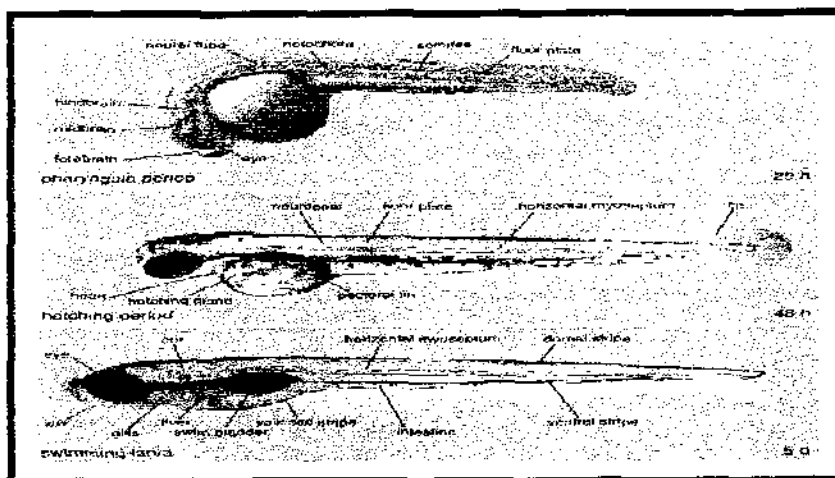
sel kelamin primer dan membentuk lapisan epitelium dalam dan saluran alat pencernaan dan kelenjar-kelenjarnya (Lagler, *et al.* 1977).

Tahap perkembangan embrio ikan zebra (*Brachydanio rerio*) disajikan pada Gambar 2.3.3a. Sedangkan perkembangan ikan zebra setelah 29 jam sampai 5 hari tertera pada Gambar 2.3.3b.



Gambar 2.3.3a: Perkembangan embrio ikan Zebrafish *Brachydanio rerio* dari 4 sel (1 jam setelah fertilisasi) sampai terbentuknya somit (10 1/3 – 18 1/2 jam setelah fertilisasi).

Sumber : Kimmel *et al.*, (1995)



Gambar 2.3.3b: Perkembangan Embrio zebrafish *Brachydanio rerio* setelah 29 jam sampai umur 5 hari.

Sumber : Kimmel *et al.*, 1995.

Secara rinci tahap perkembangan embrionik dari ikan zebra (*Brachydanio rerio*) seperti tertera pada Tabel 2.3.1.

**Tabel 2.3.1 : Tahap Perkembangan Embrionik Ikan Zebra (*Brachydanio rerio*) Pada Suhu 26 + 1<sup>o</sup>C.**

Time (h)	Stage	Characterisation (after Kimmel et al., 1995)	
0	Fertilisation	Zygote	
0	Zygote period	Cytoplasm accumulates at the animal pole, one-cell stage	
0,75	Cleavage period	Discoidal partial cleavage	
1		1. median vertical division: two-cell-stage	
1.25		2. Vertical division: four cell-stage	
1.5		3. Vertical and parallel to the plane of the first: eight-cell-stage	
2		4. Vertical and parallel to the second plane of division: 16-cell-stage	
2	Blastula period	Start of blastula stage	
3		Late cleavage; blastodisc contains approximately 256 blastomers	
4	Gastrula period	Flat interface between blastoderm and yolk	
5.25		50 % of epibolic movements; blastoderms thins and interface between periblast and blastoderm become curved	
8		75 % of epibolic movement	
10		epibolic movement ends, blastopore is nearly closed	
10.5		Segmentation period	first somit furrow
12		somite are developed undifferentiated mesodermal component of the early trunk, tail segment or metamere"	
20	muscular twitches; sacculus; tail well extended		
22	site to side flexures; otoliths		
24	Pharyngula period	phylogenic stage; spontaneous movement, tail is detached from the yolk; early pigmentation	
30		reduced spontaneous movement; retina pigmented, cellular degeneration of the tail end; circulation in the aortic arch 1	
36		tail pigmentation; strong circulation; single aortic arch pair; early motility; heart beating start	
72-96		Hatching period	heart-beat regular; yolk extension beginning to taper; dorsal and ventral stripes meet at tail; segmental blood vessel; thickened sacculus with two chambers; foregut development, neuromasts

Sumber : Kimmel, et al. 1995.

#### 2.4. Mekanisme Teratogenesis

Menurut Poernomo (1999) ada enam prinsip tentang teratogenesis, yaitu: *Pertama*, kepekaan terhadap zat teratogen tergantung pada genotip dan pola teratogenesis yang berinteraksi dengan faktor-faktor lingkungan. Saat perkembangan awal organisme, faktor gen dan lingkungan berpengaruh pada terjadinya teratogenesis. Perbedaan dalam hal reaksi terhadap zat teratogenik tergantung susunan morfologi atau biokimia yang ditentukan oleh gen.

*Kedua*, kepekaan terhadap zat teratogenik tergantung fase kebuntingan saat terjadinya pemaparan. Tingkat kepekaan akan meningkat seiring dengan bertambahnya usia kebuntingan. Semakin tua maka semakin tidak peka terhadap zat teratogenik. Sebaliknya semakin muda kebuntingan maka semakin peka terhadap perubahan. Organ tertentu dapat dibuat tidak normal dengan cara memberikan zat teratogen selama tahap pembentukan organ yang umumnya disebut periode dengan periode kritis. Periode organogenesis merupakan saat yang peka terhadap zat teratogenik karena pada saat ini terjadi pemisahan kelompok sel dan jaringan untuk membentuk organ. Histogenesis dimulai sebelum organogenesis selesai dan dilanjutkan dengan fase pertumbuhan yang dimulai oleh sebagian besar organ. Pengaruh yang berbahaya selama histogenesis tidak akan menyebabkan terjadinya malformasi tetapi berakibat pada kerusakan struktural pada tingkat mikroskopis.

*Ketiga* setiap zat-zat teratogenik mempunyai mekanisme tersendiri dalam mempengaruhi pertumbuhan sel dan jaringan untuk mengawali

terjadinya embriogenesis yang abnormal. Setiap zat teratogenik mempunyai pengaruh jenis malformasi yang spesifik dan sekarang telah diketahui bahwa zat yang berbeda dapat menghasilkan beberapa kerusakan yang sama atau berbeda. Hal ini tergantung pada saat pemaparan diberikan. Embriogenesis dapat dikatakan abnormal bila pada sel dan jaringan terdapat kerusakan.

*Keempat*, manifestasi akhir dari perkembangan abnormal adalah kematian, malformasi, lambat pertumbuhan dan gangguan fungsional. Kelambatan pertumbuhan dapat terjadi jika pemaparan dilakukan pada periode fetus. Efek-efek tertentu dari gangguan fungsional dapat terlihat selama masa pertumbuhan atau masa kecil. Kematian organisme bisa terjadi pada tahap embrio. Hal ini mungkin disebabkan karena malformasi yang parah, penghentian pertumbuhan secara keseluruhan atau kerusakan umum pada fungsi yang penting. Kelambatan pertumbuhan awalnya diperkirakan berhubungan dengan proliferasi yang lambat karena metabolisme yang kompleks dan transportasi yang penting untuk mendukung pertumbuhan yang normal kurang berjalan dengan baik. Fungsional yang normal bergantung pada keutuhan struktural sehingga kegagalan yang dialami oleh suatu bagian akan mengakibatkan kerusakan pada bagian lain.

*Kelima*, pengaruh dari lingkungan yang merugikan atau mempengaruhi pertumbuhan jaringan tergantung dari sifat dasar pengaruh zat teratogen tersebut. Bahan-bahan dari lingkungan dapat masuk dan mempengaruhi perkembangan jaringan di dalam uterus .

*Keenam*, Peningkatan kejadian pertumbuhan yang abnormal akan bertambah jika dosis makin tinggi. Pada prinsip ini ditekankan efek dosis Secara umum. Dalam penelitian tentang teratologi, kematian intrauterine dan malformasi merupakan kriteria untuk efek bahan teratogenik. Pertumbuhan yang abnormal mulai ditunjukkan ketika dosis yang digunakan melebihi ambang batas. Ketika dosis dalam rentangan yang rendah, tidak ada efek-efek embriotoksik atau ada efek embriotoksik dalam tipe yang berbeda walaupun disebabkan oleh bahan yang sama.

**BAB 3**  
**KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS**



## BAB 3

### KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

#### 3.1. Kerangka Konseptual

Pencemaran air, pada tahun-tahun terakhir ini telah menjadi masalah serius yang dihadapi oleh berbagai negara. Dengan meningkatnya kegiatan pembangunan khususnya di bidang industri serta meningkatnya jumlah penduduk, telah menyebabkan berbagai macam perairan mengalami pencemaran.

Pembuangan limbah industri, erosi pupuk kimia dan serpihan pasca panen dan komponen biotik - abiotik lainnya kedalam suatu perairan, akan menimbulkan pengaruh terhadap organisme air. Secara ekologis komponen tersebut akan mengalami daur ulang. Jika arus masuk komponen lebih cepat dari proses daur ulang, maka kehadiran komponen tersebut dapat menimbulkan gangguan terhadap keseimbangan ekosistem, terlebih lagi jika komponen tersebut bersifat toksik. Akibat adanya limbah yang masuk ke dalam perairan maka akan menyebabkan terjadinya penyesuaian bagi setiap biota air. Kemampuan setiap organisme dalam menyesuaikan terhadap perubahan lingkungan dan bahan pencemar berbeda-beda, dan setiap spesies organisme mempunyai reaksi yang khas terhadap adanya limbah.

Pengaruh bahan pencemar yang berasal dari limbah industri yang banyak mengandung logam berat seperti Cadmium (Cd) Tembaga (Cu) mercury (Hg) serta logam berat lainnya dapat menyebabkan

terganggunya kehidupan biota akuatik. Organisme yang terpapar logam berat dengan konsentrasi yang rendah dalam jangka waktu yang lama biasanya tidak mengalami kematian, akan tetapi akan mengalami pengaruh *sublethal*, yaitu suatu pengaruh yang terjadi pada organisme tanpa mengakibatkan kematian pada organisme tersebut, tetapi dapat mempengaruhi dalam hal antara lain: tingkah laku reproduksi, tingkah laku makan (*feeding*), pengenalan (*learning*), modifikasi dalam *breeding capability*, laju pertumbuhan dan cacat pada organ tubuh (*malformation*).

Tembaga (Cu) adalah merupakan salah satu logam berat yang pada satu sisi merupakan unsur mikro esensial bagi kehidupan organisme air dalam kadar yang rendah, tetapi pada sisi lainnya sangat berbahaya bagi organisme itu sendiri jika dalam jumlah yang besar.

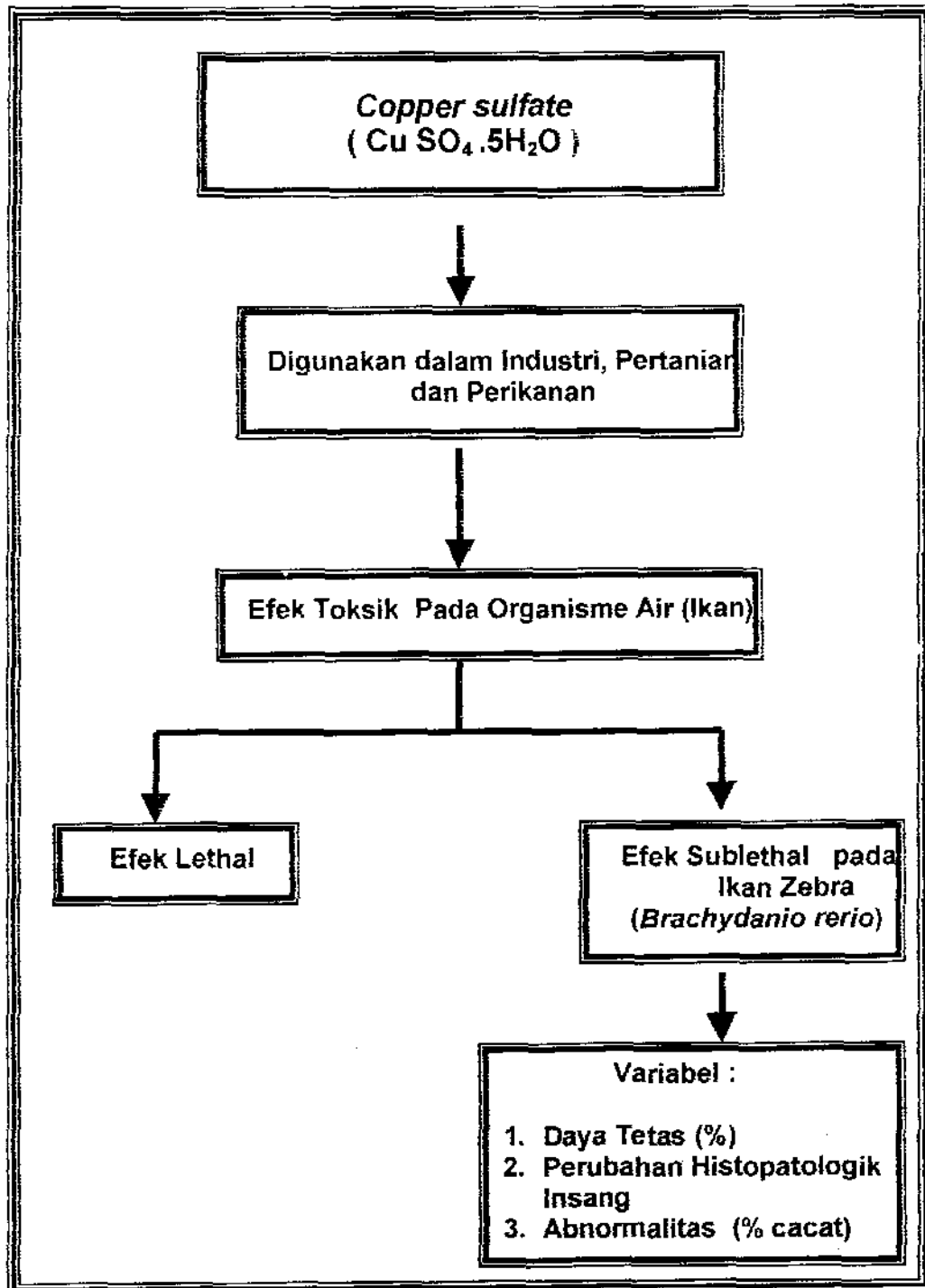
Tembaga tersebut antara lain dapat mempengaruhi terhadap daya tetas telur dan perubahan histopatologik pada insang serta dapat menyebabkan timbulnya penyimpangan perkembangan pada salah satu struktur atau fungsional dasar dari ikan (*teratogenicity*).

Ikan pada stadia embrio-larva merupakan suatu model yang sederhana dan efektif sebagai hewan coba untuk menguji efek toksisitas dari suatu senyawa kimia, limbah industri dan obat-obatan.

Salah satu jenis ikan yang telah banyak direkomendasikan oleh para peneliti sebagai hewan coba dalam menguji efek suatu senyawa kimia atau limbah adalah ikan Zebra (*Brachydanio rerio*). Hal tersebut mengingat ikan zebra memiliki keunggulan antara lain: perkembangan yang cepat, umur 3-4 bulan telah matang gonad, dalam sekali

peneluran mampu menghasilkan 100-200 butir tiap minggu. Ikan Zebra memiliki telur yang transparan, sehingga memudahkan dalam memvisualisasikan terhadap jaringan dan organ lainnya selama perkembangan embrio. Proses embriogenesis berakhir 72 jam setelah terjadinya fertilisasi, sedangkan terbentuknya organ dalam seperti system cardiovascular, usus, liver dan ginjal berkembang secara cepat pada 24-48 jam setelah fertilisasi.

Berkaitan dengan hal tersebut, maka perlu adanya suatu penelitian yang akan memberikan informasi tentang efek *copper sulfate* ( $\text{CuSO}_4$ ) terhadap daya tetas, perubahan histopatologik organ osmoregulasi dan abnormalitas pada larva ikan zebra (*Brachydanio rerio*). Secara skematis kerangka konseptual penelitian ini disajikan pada Gambar 3.1 di bawah ini.



Gambar 3.1. Skema Kerangka Konseptual Rencana Penelitian

### 3.2. Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini sebagai berikut:

1. Efek pemaparan *copper sulfate* ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) menurunkan persentase daya tetas telur ikan zebra (*Brachydanio rerio*).
2. Terdapat efek pemaparan *copper sulfate* ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) terhadap perubahan histopatologik insang pada larva ikan zebra (*Brachydanio rerio*).
3. Terdapat efek pemaparan *copper sulfate* ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) terhadap abnormalitas (*malformation*) pada larva ikan zebra (*Brachydanio rerio*).

**BAB 4**  
**MATERI DAN METODE PENELITIAN**

## BAB 4

### MATERI DAN METODE PENELITIAN

#### 4.1. Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini, adalah Rancangan Acak Lengkap dengan 3 (tiga) perlakuan dan 6 (enam) kali ulangan. Perlakuan tersebut meliputi :

Kontrol : Tanpa pemberian  $\text{CuSO}_4$

Perlakuan CU1 : Dosis ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) : 0,1 mg/l

Perlakuan CU2 : Dosis ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) : 0,15mg/l

Perlakuan CU3 : Dosis ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) : 0,3 mg/l

#### 4.2. Populasi dan Sampel Penelitian

##### 4.2.1. Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah telur ikan Zebra (*Brachydanio rerio*) terfertilisasi yang diperoleh dari hasil pemijahan dua pasang induk. Pemijahan induk dilakukan di Laboratorium Reproduksi Universitas Dr. Soetomo Surabaya.

##### 4.2.2. Sampel

Sampel diambil secara acak dari populasi telur yang terfertilisasi sebanyak 500 butir. Sampel ini dibagi secara acak dengan jumlah yang sama pada masing-masing satuan percobaan termasuk kontrol, sehingga

setiap satuan percobaan diberi telur sebanyak 20 butir / liter (Anonimous , 2001).

### 4.3. Variabel Penelitian

#### 4.3.1. Klasifikasi Variabel

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Variabel Bebas (*Independent Variable*) yaitu: Berbagai dosis *copper sulfate* ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )
- b. Variabel Tergantung (*Dependent Variable*) yaitu: Persentase daya tetas telur, perubahan histopatologik insang dan persentase abnormalitas larva ikan Zebra.
- c. Variabel Kendali meliputi: Suhu air ( $^{\circ}\text{C}$ ), Oksigen terlarut (ppm), pH air, pakan.

#### 4.3.2. Definisi Operasional

- a. Dosis *Copper sulfate* ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) adalah: 0 mg/l; 0,1mg/l; 0,15mg/l; 0,3mg/l .
- b. Daya Tetas adalah jumlah telur yang menetas sampai menjadi larva akibat adanya perlakuan (dalam persen).
- c. Perubahan histopatologik insang: adalah kelainan yang terjadi pada bagian insang.
- d. Persentase abnormalitas adalah jumlah larva menetas yang cacat pada bagian tubuh meliputi: *lordosis*, *scoliosis*, *kyphosis*, cacat pada kepala dan sirip.



e. Kualitas air media yang digunakan selama penelitian

- Suhu air 27-28 °C
- Oksigen terlarut 6 – 7 ppm
- Derajat keasaman (pH) 7,5 – 8 (Anonymous, 2001)

#### 4.4. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Senyawa tembaga berupa *Copper sulfate* ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ).
- b. Empat pasang induk ikan Zebra matang gonad yang dipijahkan secara alami dalam akuarium
- c. Telur yang dipakai dalam penelitian, adalah telur ikan Zebra yang terfertilisasi sebanyak 500 butir.
- d. Seluruh bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan preparat histologi insang ikan Zebra
- e. Pakan untuk induk dalam bentuk butiran ( merek Tetra) dan kutu air (*Daphnia sp*).

#### 4.5. Alat Penelitian

Peralatan penelitian yang digunakan terdiri dari :

- a. Alat untuk pemijahan berupa akuarium dengan ukuran 30 x 30 x 30 cm, yang dilengkapi dengan kotak penampung telur (*spawning boxes*) dan 24 unit akuarium percobaan yang dilengkapi dengan aerasi.

- b. Alat penelitian untuk objek uji berupa: serok telur, selang plastik, *aerator* dan kelengkapannya, akuarium percobaan kapasitas 2 liter (24 buah), timbangan analitik.
- c. Alat untuk pengamatan abnormalitas berupa mikroskop inverted, alat fotografi, dan scanner.
- d. Alat penelitian untuk kualitas air terdiri dari , termometer, termostat, oksigen meter, pH meter.

#### 4.6. Metode Penelitian

##### 4.6.1. Pembuatan Dosis *Copper Sulfat* ( $\text{CuSO}_4$ )

Dosis yang digunakan dalam penelitian ini adalah: 0,1 mg/l; 0,15 mg/l; 0,3 mg/l. Dosis tersebut merupakan 1/2, 1/4, 1/6 dari  $\text{LC}_{50}$  (*Lethal Concentration*) hasil uji pendahuluan pada telur ikan Zebra (*Brachydanio rerio*) yaitu 0,6 mg/l.

Pembuatan dosis ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) untuk masing-masing perlakuan dapat dibuat dengan cara menimbang ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) sebanyak 0,1 mg dan dilarutkan kedalam satu liter air ( perlakuan CU1 ). Demikian pula untuk perlakuan lainnya, yaitu menimbang ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) sebanyak 0,15 mg/l (perlakuan CU2) dan 0,3 mg/l (perlakuan CU3). Untuk kontrol (dosis 0 mg/l) tidak diberikan perlakuan .

##### 4.6.2. Pemijahan Induk Ikan Zebra (*Brachydanio rerio*)

Untuk memperoleh telur sebagai objek uji dalam penelitian ini, terlebih dahulu dilakukan pemijahan terhadap empat pasang induk ikan

zebra dalam akuarium terpisah. Ukuran akuarium 30 x 30 x 30 cm yang dilengkapi dengan aerasi, lampu dan termostat. Karena ikan zebrafish tidak mempunyai sifat mengasuh (*parental care*) terhadap telur dan larvanya dan cenderung bersifat kanibal terhadap telurnya maka dalam akuarium pemijahan dilengkapi dengan kotak penampung telur (*spawning box*) dan bagian atasnya diberi kasa dengan ukuran 3 – 4 mm. Kasa ini dijadikan sebagai penghalang induk agar tidak memakan telur setelah terjadinya pemijahan.

Empat pasang Induk dimasukkan kedalam akuarium pemijahan secara terpisah dengan perbandingan jantan betina 1 : 1 tiap akuarium pemijahan . Kadar oksigen dipertahankan pada kadar 6 – 7 ppm, suhu air 27 - 28 ° C, pH air 7,5 - 8. Kualitas air pada akuarium pemijahan dipertahankan dengan pemberian internal filter. Ikan diberi pakan dalam bentuk butiran merk Tetra Feed, dan kutu air (*Daphnia sp*) sampai tak terbatas (*ad libitum*) (Anonimous. 2003).

Pemijahan biasanya terjadi pada malam hari sampai menjelang pagi. Selanjutnya setelah pemijahan tempat penampungan telur diangkat, telur yang dibuahi (warna jernih transparan) diambil untuk dijadikan telur uji dalam penelitian ini, sedangkan yang tidak dibuahi (warna putih keruh) dibuang. Unit penelitian dan perlengkapan pemijahan tertera pada Gambar .4.6.2.



**Gambar .4.6.2. Gambar Tata Letak Aquarium Penelitian dan Pemijahan**

Keterangan :

1. Aquarium Penetasan (Perlakuan Penelitian)
2. Aquarium Induk
3. Aquarium Pemijahan
4. Aquarium induk jantan
5. Filter

#### 4.6.3. Pengamatan

Pengamatan terhadap daya tetas telur ikan Zebra dilakukan dengan cara menghitung jumlah telur yang menetas pada setiap satuan percobaan setelah pemaparan 72 jam, dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$S = Nt / No \times 100\%$$

keterangan :

S = daya tetas telur zebrafish

Nt = Jumlah telur yang menetas setelah 72 jam

No = Jumlah telur pada awal penelitian

Pengamatan persentase abnormalitas terhadap larva ikan zebra dilakukan setelah larva berumur 5 hari dan setelah berumur 2 bulan sejak menetas dengan menggunakan mikroskop inverted. Selanjutnya nilai abnormalitas dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Abnormalitas (\%)} = \frac{\text{Jml larva cacat}}{\text{Jml telur menetas}} \times 100 \%$$

Pengamatan mikroanatomi terhadap perubahan insang dilakukan dengan metode paraffin, terhadap benih ikan yang hidup setelah berumur 15 hari. Prosedur pembuatan sediaan histopatogi insang tertera pada Lampiran 1.

#### **4.7. Analisis Data**

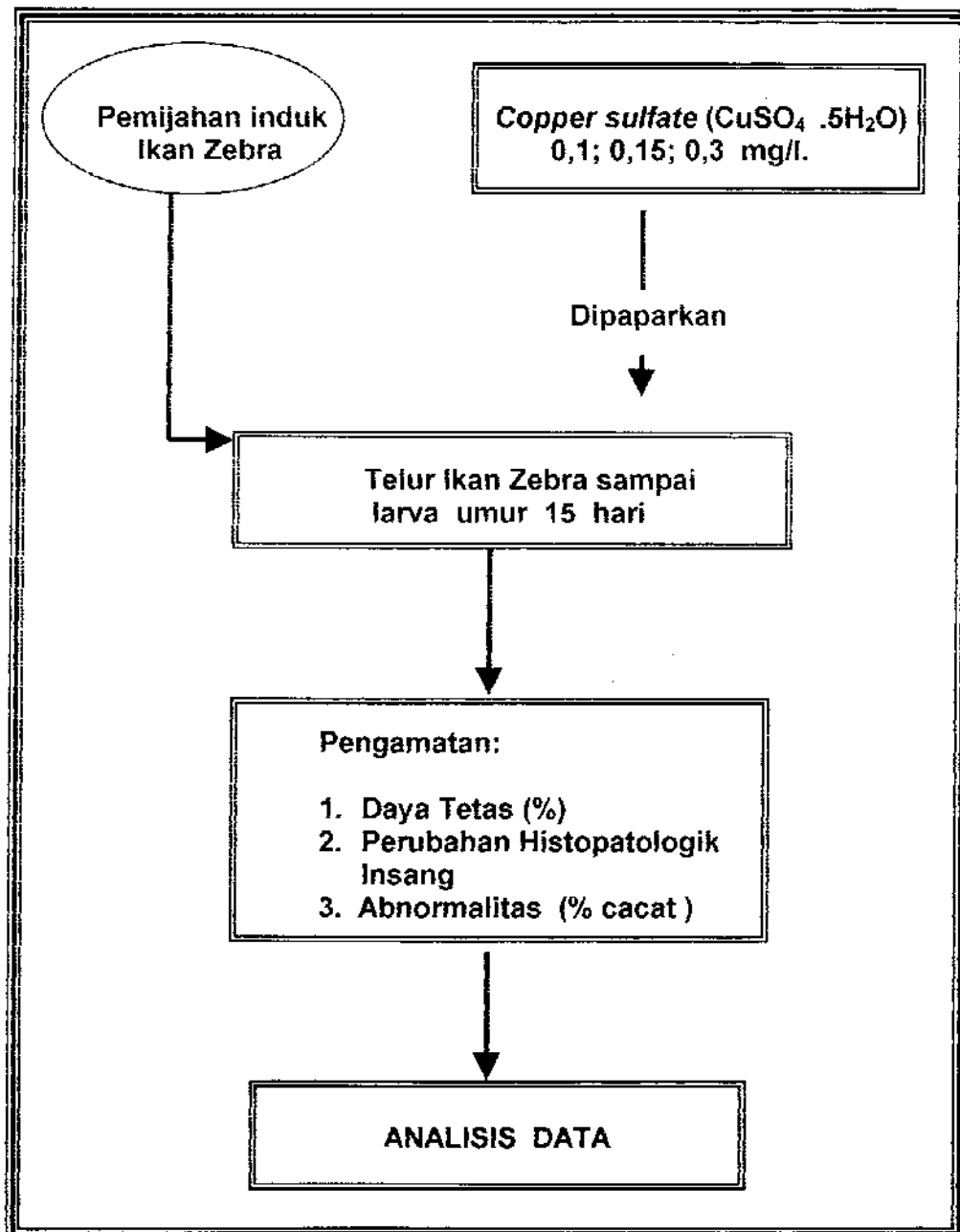
Data yang akan dianalisa adalah data tentang daya tetas telur, perubahan histopatologik insang dan abnormalitas larva ikan zebra. Abnormalitas larva yang diamati meliputi: *lordosis*, *scoliosis*, *kyposis* dan cacat pada bagian kepala dan ekor. Data persentase daya tetas dan abnormalitas larva selanjutnya ditabulasikan dan dianalisa secara statistik dengan menggunakan analisis varian (ANOVA) satu jalur. Apabila terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan, maka dilanjutkan dengan menggunakan uji BNT/LSD pada taraf 0,05 (Surachmad, 1987). Untuk memudahkan perhitungan statistik digunakan *Statistical Product and Service Solution* (SPSS) versi 10.0. Sedangkan untuk perubahan histopatologik insang dianalisis secara diskriptif

#### **4.8. Lokasi dan Waktu penelitian**

Penelitian dilakukan di Laboratorium Reproduksi Jurusan Perikanan Universitas Dr. Soetomo Surabaya, selama 3 bulan. Sedangkan pemeriksaan terhadap perubahan histopatologik insang dan abnormalitas larva dilakukan di laboratorium histopatologi Fakultas Kedokteran Hewan Unair.

#### **4.9. Kerangka Operasional Penelitian**

Guna mempermudah pelaksanaan penelitian, berikut disajikan tentang tahapan operasional penelitian, seperti tertera pada Gambar 4.9. berikut,



Gambar 4.9: Bagan Alur Prosedur Kerja Penelitian

**BAB 5**  
**ANALISIS HASIL PENELITIAN**



## BAB 5

### ANALISIS HASIL PENELITIAN

#### 5.1. Pengaruh Copper Sulfat ( $\text{CuSO}_4$ ) Terhadap Daya Tetas Telur Ikan Zebra (*Brachydanio rerio*)

Telur ikan zebra yang fertile berwarna transparan, berbentuk bulat dengan diameter 0,6 – 0,7 mm. Jumlah telur yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 20 butir untuk masing-masing perlakuan dan ulangan. Perhitungan terhadap daya tetas ikan Zebra dilakukan mulai 72 jam setelah fertilisasi. Hal tersebut karena telur ikan Zebra akan menetas sekitar 72 – 96 jam setelah fertilisasi pada suhu perairan 27 °C.

Hasil penelitian tentang efek pemaparan copper sulfat terhadap daya tetas telur ikan zebra, diperoleh hasil yang berbeda-beda pada setiap perlakuan. Lebih jelasnya data jumlah telur yang menetas dan persentasenya pada setiap unit percobaan disajikan pada tabel 5.1a. Sedangkan rata-rata persentase daya tetas telur ikan zebra akibat pemaparan copper sulfat tersaji pada Tabel 5.1b.

**Tabel 5.1a. Jumlah Telur Ikan Zebra yang Menetas Pada Tiap Perlakuan dan Persentasenya.**

Ulangan	Perlakuan							
	Kontrol		0,1 mg/l		0,15 mg/l		0,3 mg/l	
	$\Sigma$ telur menetas	%	$\Sigma$ telur menetas	%	$\Sigma$ telur menetas	%	$\Sigma$ telur menetas	%
1	17	85	14	70	10	50	7	35
2	15	75	15	75	12	60	6	30
3	18	90	12	60	10	50	6	30
4	17	85	12	60	9	45	5	25
5	18	90	13	65	7*	35	5	25
6	18	90	13	65	10	50	7	35

Dari Tabel 5.1a. di atas dapat dijelaskan bahwa pada perlakuan 0,3 mg/l adalah perlakuan yang menghasilkan daya tetas terendah dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Selanjutnya pada perlakuan 0,15 mg/l, ulangan kelima terdapat penurunan daya tetas yang agak tajam dibandingkan dengan ulangan lainnya. Keadaan ini dapat dijelaskan bahwa akuarium tersebut dalam penempatannya lebih sering terkena cahaya matahari (lingkungan kurang homogen) tetapi masih dalam batas kisaran yang wajar, dibandingkan dengan ulangan lainnya pada perlakuan tersebut.

**Tabel 5.1b. Rata-rata Persentase Daya Tetas Telur Ikan Zebra Karena Pengaruh Pemaparan Copper Sulfat**

Perlakuan CuSO <sub>4</sub> (mg/l)	Persentase Daya Tetas		
	Ulangan	Rata-rata (%)	s-baku
Kontrol	6	85,8	5,8
CuSO <sub>4</sub> 0,1	6	65,8	5,8
CuSO <sub>4</sub> 0,15	6	48,3	8,1
CuSO <sub>4</sub> 0,3	6	30,0	4,4

Berdasarkan Tabel 5.1b. di atas, dapat dijelaskan bahwa perlakuan pemaparan copper sulfat dengan dosis 0,3 mg/l memberikan nilai terendah terhadap daya tetas telur ikan Zebra yakni 30,0 %, selanjutnya perlakuan dengan dosis 0,15 mg/l memberikan rata-rata persentase daya tetas 48,3 %. Pada perlakuan dengan dosis 0,1 mg/l memberikan nilai persentase daya tetas tertinggi yakni 65,8 %. Sedangkan untuk perlakuan kontrol diperoleh rata-rata persentase daya tetas sebesar 85,8 %.

Selanjutnya guna mengetahui apakah terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan maka dilakukan uji ANAVA satu jalur yang hasilnya dapat dilihat pada Lampiran 2.

Berdasarkan Lampiran 2, dapat dijelaskan bahwa pemaparan copper sulfat memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap persentase daya tetas telur ikan zebra dengan  $p < 0,05$ .

Selanjutnya untuk mengetahui tingkat perbedaan masing-masing perlakuan, maka dilakukan uji BNT/LSD taraf 5 %. Lampiran 3 menyajikan data hasil perhitungan uji LSD pada persentase daya tetas telur ikan zebra karena pengaruh pemaparan copper sulfat, sedangkan perbedaan notasi rata-ratanya dapat dilihat Lampiran 4.

Berdasarkan Lampiran 4, menunjukkan bahwa perlakuan dosis copper sulfat 0,3 mg/l berbeda nyata dengan perlakuan 0,15 mg/l, 0,1 mg/l dan (0 mg/l) kontrol. Selanjutnya Perlakuan dosis copper sulfat 0,15 mg/l berbeda nyata dengan perlakuan 0,1 mg/l dan kontrol. Demikian pula perlakuan 0,1 mg/l menunjukkan perbedaan yang nyata dengan kontrol terhadap daya tetas telur ikan zebra. Hal ini ditunjukkan dengan  $p < 0,05$ . Artinya semakin tinggi dosis copper sulfat yang dipaparkan, maka semakin rendah daya tetas telur ikan zebra.

## **5.2. Pengaruh Copper Sulfat ( $\text{CuSO}_4$ ) Terhadap Perubahan Histopatologik Insang Ikan Zebra**

Pengamatan kondisi histopatologi insang ikan zebra dilakukan setelah larva berumur 15 hari sejak menetas. Selanjutnya hasil pengamatan terhadap sediaan histologi insang ikan zebra yang terpapar copper sulfat dianalisis secara deskriptif. Secara umum menunjukkan

bahwa kerusakan lamella insang terjadi sejalan dengan semakin tingginya konsentrasi copper sulfat. Kerusakan yang terjadi mengakibatkan sistem respirasi ikan terhambat pada akhirnya dapat menyebabkan kematian. Untuk lebih jelasnya hasil pengamatan histopatologi pada masing-masing perlakuan dapat di lihat pada Gambar 5.2.a, b, c, d.



**Gambar 5.2.a** Kondisi histologi insang larva ikan zebra pada kontrol

**Keterangan:** → Epitelium

Kondisi histologi insang pada hasil pengamatan kontrol (0 mg/l) memperlihatkan lamella terletak pada proporsi yang baik, epitelium tidak mengalami kerusakan dan sel masih tersusun rapi.

Pemaparan copper sulfat dengan dosis 0,1 mg/l menunjukkan terjadinya pembesaran epitel. Hal ini diduga disebabkan oleh terjadinya hipertropi akibat akumulasi konsentrasi copper sulfat yang terikat pada epitel, akibatnya epitel rusak. Kerusakan tersebut dapat dilihat pada Gambar 5.2.b.

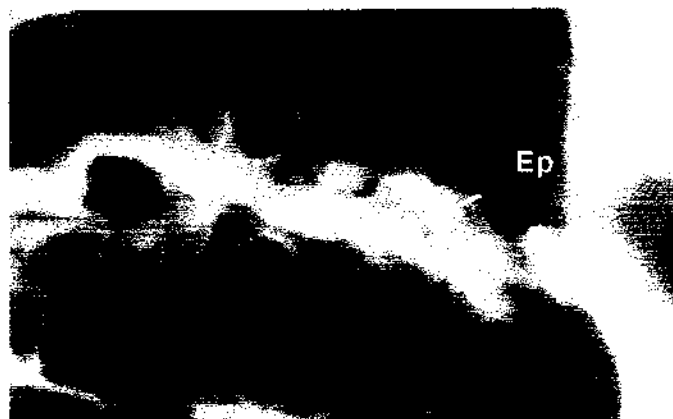


( 400 X )

**Gambar 5.2.b Kondisi histologi insang larva ikan zebra pada perlakuan dosis 0,1 mg/l**

**Keterangan : Ep (Epitelium)**

Pada perlakuan dosis 0,15 mg/l , kerusakan epitelium berkembang menjadi hiperplasia dan hipertropi yang nampak berupa pembesaran epitel dengan penambahan sejumlah selnya. Hal ini diasumsikan bahwa pada epitel terjadi pengikatan copper sulfat menjadi ligan yang berlangsung dengan kadar yang lebih besar sehingga menghambat fungsi epitel. Lebih jelasnya kondisi histologis insang tersebut tertera pada Gambar 5.2.c.

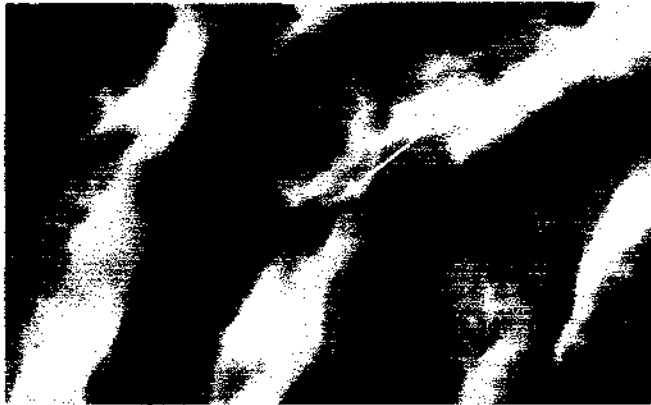


( 400 X )

**Gambar 5.2.c Kondisi histologi insang larva ikan zebra pada perlakuan dosis 0,15 mg/l**

**Keterangan: Ep (Epitelium)**

Akumulasi copper sulfat di dalam epitel lamella insang pada perlakuan 0,3 mg/l lebih tinggi sehingga menyebabkan hilangnya fungsi epitel, kerusakan epitel makin besar dan diikuti dengan capillary lumen yang buntu. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 5.2.d.



( 400 X )

**Gambar 5.2.d. Kondisi histology insang ikan zebra pada perlakuan dosis 0,3 mg/l**

**Keterangan: Ep ( Epitellum)**

### **5.3. Pengaruh Copper Sulfat ( $\text{CuSO}_4$ ) Terhadap Abnormalitas Larva Ikan Zebra (*Brachydanio rerio*)**

Berdasarkan hasil penelitian tentang efek pemaparan copper sulfat terhadap abnormalitas larva ikan zebra, diperoleh hasil yang berbeda-beda pada setiap unit percobaan. Untuk lebih jelasnya jumlah dan persentase larva abnormal pada setiap percobaan dan ulangan dapat dilihat pada tabel 5.3a. Sedangkan persentase rata-rata abnormalitas larva ikan zebra akibat pemaparan copper sulfat tersaji pada Tabel 5.3b.

**Tabel 5.3a. Jumlah Larva Abnormal Yang Menetas Pada Tiap Perlakuan dan Persentasenya.**

Ulangan	Perlakuan							
	Kontrol		0,1 mg/l		0,15 mg/l		0,3 mg/l	
	Σ telur menetas	%	Σ telur menetas	%	Σ telur menetas	%	Σ telur menetas	%
1	1	5,0	2	14	4	40	6	85
2	0	0,0	1	10	7	58	4	66
3	1	5,0	3	25	4	40	5	83
4	0	0,0	3	17	7	78	4	80
5	0	0,0	1	10	4	57	4	80
6	0	0,0	1	10	6	60	6	85

Dari tabel 5.3a, di atas terlihat bahwa semakin tinggi dosis copper sulfat, semakin tinggi pula jumlah larva yang abnormal atau cacat.

**Tabel 5.3b. Rata-rata Persentase Abnormalitas Ikan Zebra Karena Pengaruh Pemaparan Copper Sulfat**

Perlakuan CuSO <sub>4</sub> (mg/l)	Persentase Abnormalitas		
	Ulangan	Rata-rata (%)	s-baku
Kontrol	6	1,6	2,6
CuSO <sub>4</sub> 0,1	6	12,6	6,4
CuSO <sub>4</sub> 0,15	6	54,6	14,6
CuSO <sub>4</sub> 0,3	6	84,0	11,0

Berdasarkan Tabel 5.3b. di atas, dapat dijelaskan bahwa perlakuan pemaparan copper sulfat dengan dosis 0,3 mg/l memberikan persentase tertinggi terhadap abnormalitas larva ikan zebra yakni 84,0 %,

selanjutnya perlakuan dengan dosis 0,15 mg/l memberikan rata-rata persentase abnormalitas 54,6 %. Pada perlakuan dengan dosis 0,1 mg/l memberikan nilai persentase abnormalitas sebesar 12,6 %. Sedangkan untuk perlakuan kontrol (0 mg/l) diperoleh rata-rata abnormalitas 1,6 %.

Selanjutnya guna mengetahui apakah terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan maka dilakukan uji ANAVA satu jalur dan hasilnya tersaji pada lampiran 5.

Berdasarkan Lampiran 5, dapat dijelaskan bahwa pemaparan copper sulfat memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap persentase abnormalitas larva ikan zebra dengan  $p < 0,05$

Selanjutnya untuk mengetahui tingkat perbedaan masing-masing perlakuan, maka dilakukan uji BNT/LSD taraf 5 %. Lampiran 6. menyajikan data hasil perhitungan uji LSD pada persentase abnormalitas larva ikan zebra karena pengaruh pemaparan copper sulfat, sedangkan perbedaan notasi rata-ratanya dapat dilihat pada Lampiran 7.

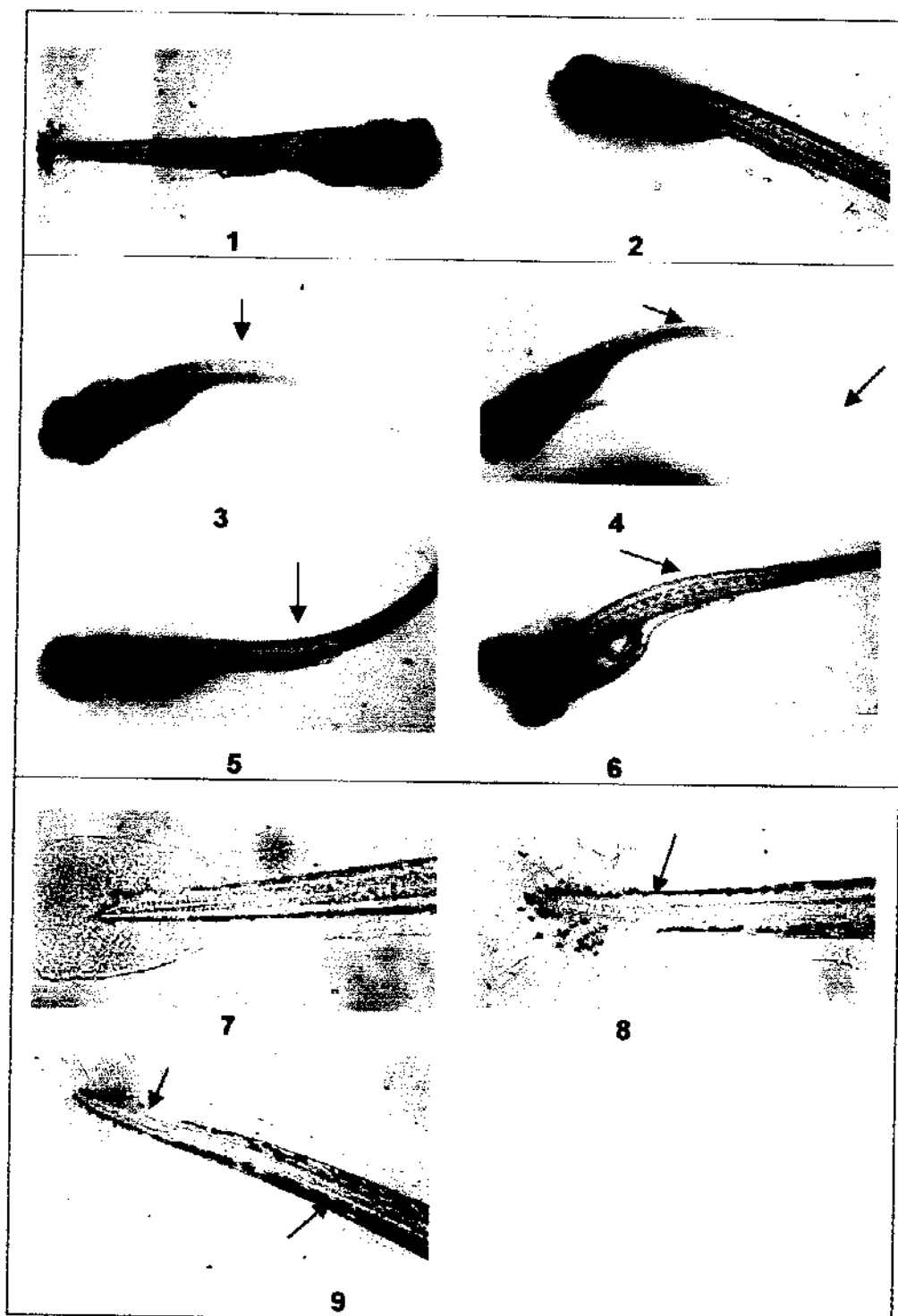
Dari Lampiran 7, menunjukkan bahwa perlakuan dosis copper sulfat 0 mg/l (kontrol) dan 0,1 mg/l berbeda nyata dengan perlakuan perlakuan dosis 0,15 mg/l dan 0,3 mg/l. Demikian pula perlakuan 0,15 mg/l berbeda nyata dengan perlakuan 0,3 mg/l. Sedangkan Perlakuan dosis 0,1 mg/l tidak berbeda nyata dengan perlakuan kontrol terhadap abnormalitas larva ikan zebra pada level 0,05.

Pada penelitian ini juga diamati tipe abnormalitas larva ikan zebra yang menetas umur 5 hari. Penentuan dan pengelompokan tipe abnormalitas terhadap larva ikan zebra menggunakan pedoman dari Lemly (1992) ;Jezierska., *et.al* (2000); Lugowska and Witeska (2004). Lampiran 8, menyajikan prevalensi dan tipe abnormalitas larva ikan zebra.



Berdasarkan lampiran 8, tersebut dapat dikatakan bahwa larva cacat sebagian besar terjadi pada bagian vertebral, dengan tipe abnormalitas *lordosis* 39 %, *scoliosis* 22,3 %, *kyphosis* 19,7 %, cacat pada bagian kepala (*cranial malformation*) 6 % dan cacat pada bagian ekor 10,5 %.

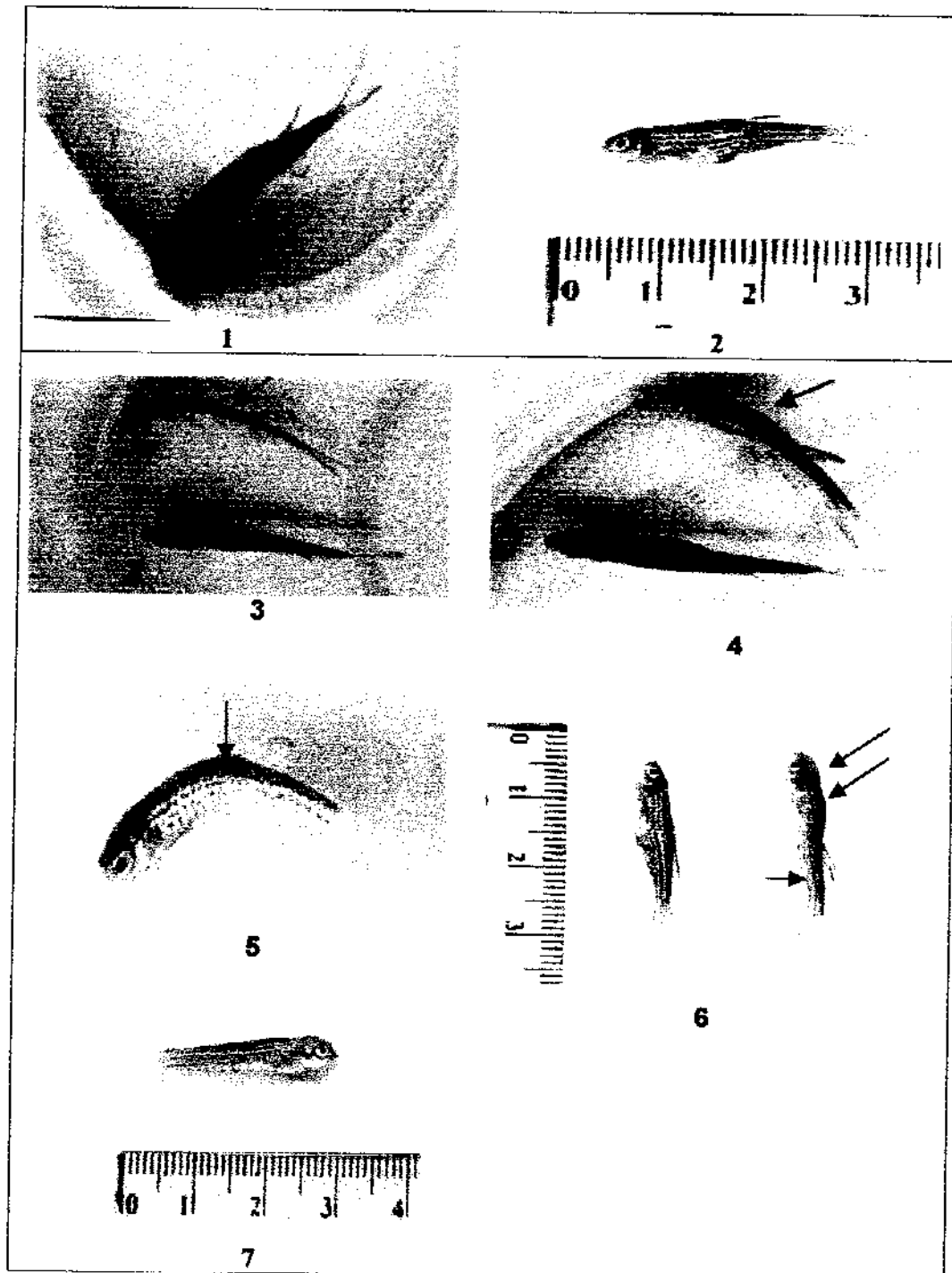
Berdasarkan hasil pengamatan dengan menggunakan mikroskop inverted, tipe abnormalitas pada bagian vertebral dan bagian ekor dari larva ikan zebra umur 5 hari dapat dilihat pada Gambar 5.3a. Sedangkan hasil pengamatan terhadap perkembangan abnormalitas setelah berumur 2 bulan dapat dilihat pada Gambar 5.3b.



**Gambar. 5.3a. Gambar tipe abnormalitas larva ikan zebra yang terpapar copper sulfat setelah berumur 5 (lima) hari sejak menetas.**

**Keterangan:**

1,2. larva normal; 3. scoliosis; 4. scoliosis pd abdominal dan ekor; 5. lordosis; 6. kyphosis; 7. ekor normal; 8. caudal curvature; 9. abdominal and caudal curvature.



**Gambar 5.3b . Gambar tipe abnormalitas dari perkembangan larva ikan Zebra setelah berumur 2 bulan**

**Keterangan: 1,2. Ikan normal; 3A. normal; 3B. scoliosis; 4. kyphosis; 5.kyphosis; 6. cranial malformation, kyphosis, lordosis; 7.cranial malformation**

## **BAB 6**

# **PEMBAHASAN**

## BAB 6

### PEMBAHASAN

#### 6.1. Pengaruh Pemaparan Copper Sulfat ( $\text{CuSO}_4$ ) Terhadap Daya Tetas Telur Ikan Zebra (*Brachydanio rerio*)

Perlakuan pemaparan copper sulfat dengan dosis 0 mg/l (kontrol), 0,1 mg/l, 0,15 mg/l dan 0,3 mg/l memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap persentase daya tetas telur ikan zebra pada masing-masing perlakuan. Secara berurutan rata-ratanya 85,8 %, 65,8%, 48,3 % dan 30,0 % (Tabel. 5.1b). Artinya semakin tinggi dosis copper sulfat, semakin rendah daya tetas telur, demikian sebaliknya.

Pemaparan copper sulfat dengan dosis yang semakin tinggi akan menyebabkan daya tetas telur semakin menurun, hal ini disebabkan dosis yang semakin tinggi akan lebih dominan diserap secara langsung oleh telur karena adanya perbedaan tekanan osmotik yang lebih besar melalui dinding sel sehingga akan mengganggu sintesis protein dalam jaringan syaraf, dan akan terjadi denaturasi protein plasma telur yang dapat menghambat perkembangan embrio. Hal senada disampaikan oleh Woynarovich dan Harvath (1980), denaturasi protein dalam telur oleh karena pemberian obat terlalu tinggi dapat menghambat proses metabolisme telur, sehingga telur banyak yang tidak berkembang lebih lanjut.

Lebih lanjut Kuo and Jong (2000), menyatakan bahwa copper sulfat adalah termasuk senyawa kimia yang dapat menghambat sistesis

protein di dalam jaringan syaraf (*neural tissue*) yang menyebabkan menurunkan daya tetas telur.

Pada perlakuan dosis copper sulfat 0,15 mg/l dan 0,3 mg/l daya tetas hanya 43 % dan 30 % daya tetas tersebut semakin menurun dibandingkan dengan perlakuan kontrol dan 0,1 mg/l. Senada dengan penelitian ini Jazierska, *et al.* (2000) melaporkan bahwa copper sulfat pada kadar 0,2 mg/l dapat menyebabkan terjadinya penurunan daya tetas (*hatching rate*) pada ikan mas sampai mencapai 52 %. Terkait dengan copper sulfat sebagai logam berat, Filenko (1988) menyatakan bahwa pada saat terjadi diferensiasi sel, akan terbentuk sel khusus yang nantinya menentukan bentuk dari organisme tersebut adalah suatu periode yang sensitif. Bila terjadi kerusakan pada periode ini akibat adanya induksi akan menyebabkan menurunnya daya tetas dan ketahanan hidup larva.

Kazlauskiene and Stasiunaite (1999) menyatakan bahwa secara umum sensitivitas ikan terhadap adanya logam berat adalah berbeda-beda tergantung pada tingkat perkembangannya dan waktu terjadinya pemaparan. Selanjutnya pemaparan logam berat dengan konsentrasi rendah dalam jangka waktu yang panjang (*long-term exposure*) secara signifikan akan menurunkan daya hidup telur dan larva serta menghambat proses metabolismenya.

## 6.2. Pengaruh Copper Sulfat Terhadap Kondisi Histologi Insang Ikan Zebra (*Brachydanio rerio*)

Kondisi histologi insang pada hasil pengamatan kontrol (0 mg/l) memperlihatkan bahwa lamella terletak pada proporsi yang baik. Pemaparan logam Cu terhadap larva ikan Zebra dengan konsentrasi 0,1 mg/l menunjukkan terjadinya pembesaran epitel lamella. Hal ini disebabkan oleh terjadinya hipertropi akibat akumulasi konsentrasi Cu yang terikat pada epitel. Kerusakan tersebut dapat dilihat pada Gambar 5.2b. Pada perlakuan 0,15 mg/l, epitelium mengalami hiperplasia yang nampak berupa pembesaran epitel dengan penambahan jumlah selnya. Hal ini diasumsikan bahwa pada epitel terjadi pengikatan Cu menjadi ligan yang berlangsung dengan kadar konsentrasi yang lebih besar sehingga menghambat fungsi epitel.

Akumulasi Cu di dalam epitel lamella insang pada perlakuan 0,3 mg/l lebih tinggi sehingga menyebabkan hilangnya fungsi epitel. Hal ini nampak berupa nekrosis pada lamella.

Darmono (2001) menyatakan bahwa logam Cu termasuk logam-logam yang lebih reaktif terhadap ikatan ligan. Apabila sel mengikat logam yang salah (*nonessensial*) maka akan menyebabkan rusaknya kemampuan katalis (*detoksikasi*) dari sel itu sendiri. Selanjutnya dikatakan bahwa Cu adalah termasuk logam klas B yang sangat reaktif terhadap ligan sulfur dan nitrogen, sehingga ikatan logam klas B tersebut sangat penting bagi fungsi normal mataloenzim dan juga metabolisme terhadap sel. Bila mataloenzim disubtitusi oleh logam yang bukan semestinya,

maka akan menyebabkan menurunnya kemampuan katalik enzim tersebut. Hal ini sering terjadi dalam sel epitel insang tempat beberapa macam logam kelas B terikat.

Enzim yang sangat berperan dalam insang ikan ialah enzim karbonik anhidrase dan transpor ATP ase. Karbonik anhidrase adalah enzim yang mengandung Zn dan berfungsi menghidrolisis  $\text{CO}_2$  menjadi asam karbonat. Apabila ikatan Zn diganti dengan logam lain, fungsi enzim karbonik anhidrase tersebut akan menurun.

Coleman (1967) menyatakan bahwa bila ikatan Zn tersebut diganti Cu dalam bentuk substansi molekul, maka fungsi enzim menurun menjadi kurang dari 40 %. Dengan demikian akan menurunkan fungsi insang sebagai alat respirasi. Kerusakan epitel tersebut terjadi akibat pengikatan lendir terhadap sejumlah Cu yang melewati lamella dan dengan komposisi yang lebih besar mampu menghalangi proses pertukaran gas-gas dan ion pada lamella sehingga sistem respirasi terhambat. Selain itu akibat rusaknya epitel akan menyebabkan terganggunya pembuangan metabolit ammonium karena hampir 90 % metabolit tersebut dibuang lewat insang.

### **6.3. Pengaruh Pemaparan Copper sulfat ( $\text{CuSO}_4$ ) Terhadap Abnormalitas Larva Ikan Zebra (*Brachydanio rerio*)**

Pemaparan copper sulfat terhadap abnormalitas dengan dosis 0 mg/l (kontrol) dan 0,1 mg/l berbeda nyata dengan dosis 0,15 mg/l dan 0,3 mg/l. Sedangkan perlakuan 0,1 mg/l tidak berbeda nyata dengan perlakuan 0 mg/l (kontrol) Secara berurutan rata-rata abnormalitasnya 1,6 %; 12,6 %; 54,6 % dan 84,0 % (Tabel 5.3b). Artinya semakin tinggi



dosis copper sulfat, semakin banyak larva ikan menetas yang cacat (abnormal), demikian pula sebaliknya. Hal ini disebabkan karena copper sulfat adalah termasuk bahan teratogen (Alberta, 1996).

Dari hasil pengamatan terhadap tipe abnormalitas sebagian besar larva cacat pada bagian vertebral, selanjutnya bagian kepala (cranial) dan ekor (*caudal*). Penelitian yang sama oleh Jezierska, *et.al.* (2000) menyatakan bahwa copper sulfat dengan dosis 0,2 mg/l dapat menyebabkan terjadinya malformasi pada larva ikan mas (*Cyprinus carpio*). Persentase malformasi yang terjadi pada bagian vertebral mencapai 80 % , dan hanya sebagian kecil malformasi tersebut terjadi pada bagian kepala (*craniofacial*), *cardiovascular* dan edema. Selanjutnya dikatakan bahwa pemaparan dengan copper akan menyebabkan terjadinya cacat (*malformation*) pada benih ikan jika pemaparan tersebut terjadi pada tahap awal perkembangan suatu organ.

Lugowska and Witeska (2004) menyatakan copper merupakan suatu bahan yang bersifat toksik terhadap embrio walaupun embrio tersebut dilindungi oleh kulit telur. Masuknya logam berat seperti copper ke dalam telur terutama terjadi beberapa saat setelah fertilisasi. Pada tahap selanjutnya embrio sangat rentan terhadap adanya bahan beracun dalam suatu lingkungan (*media*) pada saat mendekati periode penetasan dimana kulit telur mulai pecah, kemudian setelah menetas. Pada tahap ini akan menyebabkan tingginya mortalitas dan bertambahnya larva cacat yang baru.

Alberta (1996) menyebutkan bahwa beberapa data menunjukkan bahwa copper adalah merupakan bahan kimia yang dapat menyebabkan

kerusakan struktural dan mempengaruhi perkembangan suatu organisme (*teratogen*). Pemaparan copper pada telur ikan secara signifikan dapat menyebabkan larva cacat (*teratic larvae*). Selanjutnya Birge and Black (1979) menyebutkan bahwa efek teratogenik pada ikan rainbow semakin besar jika konsentrasi copper lebih besar dari 0,01 mg/l. Kerusakan pada bagian skeletal merupakan indikator adanya efek teratogenik.

Kaur and Virk (1980) menyatakan bahwa pada pemaparan copper sulfat dengan konsentrasi 3,5 mg/l pada telur ikan mas dapat menyebabkan 50 % larvanya abnormal. Abnormalitas tersebut terdiri dari cacat pada rangka (skeletal) dan bagian ekor yang melengkung. Sedangkan dari penelitian yang dilakukan Stouthart (1996) didapatkan bahwa efek teratogenik dari copper pada ikan mas dengan konsentrasi 0,051 mg/l pada pH 7,6 dapat menyebabkan terjadinya cacat pada bagian kepala, *spinal column*, rahang atas dan mengecilnya atau tidak adanya gelembung renang (*swim bladder*).

Kevan and Dixon (1995) menyatakan bahwa permeabilitas dari membran telur ikan akan mengalami perubahan 3 – 5 jam setelah fertilisasi. Sedangkan sensitivitas telur terhadap pemaparan logam berat berubah sesuai dengan tingkatan perkembangan embrio, yakni lebih sensitif pada stadia gastrula, awal organogenesis dan menetas.

Selanjutnya Poernomo (1999) menyatakan bahwa kerentanan terhadap agen teratogenik bergantung pada tingkat perkembangan pada saat terjadinya pemaparan. Organ spesifik akan menjadi tidak normal akibat adanya pemberian teratogen sejak dan sebelum tahap perkembangan suatu organ, yang secara umum dikenal sebagai periode

kritis dalam organogenesis. Jadi periode organogenesis merupakan suatu periode yang mudah mengalami kerusakan struktural pada organ atau sistem akibat adanya suatu induksi.

**BAB 7**  
**KESIMPULAN**

## BAB 7

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 7.1. Kesimpulan

Dari hasil penelitian tentang efek pemaparan copper sulfat terhadap daya tetas telur, perubahan histopatologik insang dan abnormalitas larva ikan Zebra (*Brachydanio rerio*) dapat diperoleh kesimpulan sebagai berikut.

1. Copper sulfat sebagai logam berat mempunyai efek dapat menurunkan daya tetas telur ikan zebra. Daya tetas telur terendah sebesar 30 % didapat pada perlakuan copper sulfat dengan dosis 0,3 mg/l, kemudian di ikuti dosis 0,15 mg/l dan 0,1 mg/l.
2. Copper sulfat mempunyai efek terhadap adanya perubahan pada insang ikan zebra. Epitelium mengalami kerusakan pada dosis 0,1 mg/l dan semakin kerusakannya semakin meningkat pada dosis 0,3 mg/l yang ditandai dengan adanya nekrosis pada lamella.
3. Pemaparan copper sulfat dosis 0,15 mg/l, dapat menyebabkan terjadinya abnormalitas pada larva ikan zebra. Pada dosis 0,3 mg/l persentase abnormalitas semakin meningkat rata-rata 84 %. Tipe abnormalitas terdiri dari *Scoliosis*, *lordosis*, *kyphosis* pada *vertebral*, *cranial malformation* dan bagian ekor (*caudal region*).

## 7.2. Saran

Saran yang dapat diberikan berdasarkan penelitian ini adalah :

1. Penggunaan copper sulfat untuk berbagai macam kegiatan baik industri, pertanian dan perikanan hendaknya dilakukan dengan hati-hati, karena dapat menyebabkan terjadinya kerusakan sumberdaya ikan.
2. Dosis copper sulfat yang diaplikasikan sebagai algasida sebaiknya kurang dari 0,1 mg/l.

## **DAFTAR PUSTAKA**

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonimous, 2001. Fish Embryo test with Zebra Fish *Danio rerio*. <http://www.bfa-fish.de/ifo/research/ecotox/embryo.html>. Akses 02 Maret 2004.
- Anonimous, 2003. The Zebra Fish Book: A Guide for the Laboratory use of Zebrafish *Danio rerio*. [http://www.zfish.uoregon.edu/zf\\_info/zfbook/zfbk.html](http://www.zfish.uoregon.edu/zf_info/zfbook/zfbk.html). Akses 25 Februari 2004.
- Alberta Environmental Protection. 1996. Protocol for Deriving Alberta Guidelines for the Protection of Freshwater Aquatic Life. Copper. Environmental Criteria Branch, Environmental Assessment Division. p. 44 .
- Beamont ,M.W., Butler.P.J., and Taylor. 1995. Exposure of Brown Trout, *Salmo trutta*, to Sub-lethal copper concentration in soft acidic Water and its Effects Upon Sustained Swimming Performance. *Aquat. Toxicol.* 33:45-63.
- Birge, W.J., and Black. J.A. 1979. Effects of Copper on Embryonic and Juvenil Stages of Aquatic Animals. *Environ. Contam. Toxicol.* 18:61-78.
- Chakoumakos,C., R.C. Russo, and R.V. Thurston. 1979. Toxicity of copper to cutthroat trout (*Salmo clarki*) Under Different Conditions of Alkalinity, pH, and Hardness. *Environ.Sci. Technol.* 13:213-219.
- Chapman, G.A., 1978. Toxicities of Cadmium, Copper and Zinc to Juvenile Stages of Chinook Salmon and Steelhead. *Trans.Am.Fish.Soc.* 107:814-847.
- Chapman , G.A., and McCrady. 1977. Copper Toxicity: Question of Form. Recent Advance in Fish Toxicology: a Symposium. U.S. EPA Rep. No. EPA 660/3-77/085.
- Coleman, J.E. 1967. Metal Ion Dependent Binding of Sulfonamide to Carbonic Anhidrase. *Nature (Lond)*, 214:193-194.
- Cyriac,P.J., A. Antony, and P.N.K. Nambisan. 1989. Hemoglobin and Hemocri Values in the Fish *Oreochromis mossambicus* (Peters) After Short-Term Exposure to Copper and Mercury. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 43:315-320.



- Daintith, 1999. Kamus Lengkap Kimia. Oxford. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Darmono. 2001. Lingkungan Hidup dan Pencemaran. Hubungan dengan Toksikologi Senyawa Logam. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta. hlm. 84-95.
- Effendi, M.I. 1997. Biologi Perikanan I. Studi Natural History. Fakultas Perikanan. Institut Pertanian Bogor. Bogor. Hal. 48-71.
- Eisler. R. 1997. Mercury Hazards to Fish, Wildlife and Invertebrates: A Synoptic Review. Biological Report 85. U.S. Fish and Wildlife Service. Patuxent Wildlife Research Centre.
- Filenko. O.F., 1988. Water Toxicology. Moscow.
- Giattina, J.D., and R.R. Garton ., 1983. A Review of the Preference-Avoidance Responses of Fishes to Aquatic Contaminants. Residue Review 87:43-90.
- Howarth, R.S., and J.B. Sprague. 1978. Copper Lethality to Rainbow Trout in Water of Various Hardness and pH. Water Res. 12:455-462.
- Jezierska.B., Lugowska. K., and Witeska. M., 2000. Malformation of Newly Hatched Common Carp Larvae. Electronic Journal of Polish Agricultural Universities. Volume 3, Issue 2, Series Fisheries.  
<http://www.ejpau.media.pl/series/volume3/issue2/fisheries.html>  
. Akses 11 September 2004.
- Kaur, K., and S.Virk. 1980. Toxicity Effect of Copper sulphate Residue in Water on the Development of the Eggs of Common Carp :*Cyprinids cardio* Linn. Ind. J.Ecol. 7:294-297.
- Kazlauskiene, N, and P. Stasiunaite. 1999. The Lethal and Sublethal effect of Heavy Metal Mixture on Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Early Stages of Development. Institute of Ecology.Akademijos 2, 2600, Lituania. Vol 9. numerus 2.
- Ketchum, B.H. 1971. Population , Natural Resources, and Biological Effects of Population of Estuaries and Costal Waters. Pp:59-79. Massachusetts Institute of Technology, Massachussetts.
- Kevan, S.D and D.G. Dixon (1995) The Acute Toxicity of Pulse Dosed Thiocyanate to Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Eggs before and after Hardening. Aqua Toxicol. 19 (2):113-122.

- Khengarot ,B.S., and D.M. Tripathi. 1991. Changes in Humoral and Cell mediated Immune Responses and Skin and Respiratory Surfaces of Catfish, *Saccobranchus fossilis*, Following Copper Exposure. *Ecotox. Environ . Safety* 22:291-308.
- Kuo .SY and Jong.KJ., 2000. Effect of Copper Sulfat on Ion Balance and Growth in Tilapia Larvae (*Oreochromis mossambicus*). Departemen of Aquatic Bioscience, National Chiayi University. Taiwan, Republic of China. <http://www.ncyu.edu.edu.tw>. Akses 11 September 2004.
- Kotwani.A., 1995. Methods for Teratogenicity Testing – Existing and Future Models. *Ind. J. Pharmacol.* 27:204-213.
- Kimmel, C.B., Ballard, W.W., Kimmel, S.R., Ullmann, B. and Schilling, T.F. 1995. Stages of Embryonic Development of the Zebrafish. *Development Dynamic* 203:253-310.
- Klinge. J. 2000. Zebra Danio , *Brachydanio rerio*. Biota Information System of New Mexico BISON. Bison Species Account 010190. <http://nrmnhp.unm.edu/bisonnm/BISONNM.CFM>. Akses 11 September 2004.
- Lagler, K.F. 1972. *Freshwater Fishery Biology*. WMC. Brow Co. Publ. USA.
- Lagler, K.F., J.E. Bardach and R.R. Miller. 1977. *Ichthyology*. John Willey and Sons. Inc. New York.
- Lauren, D.J. , and D.G. McDonald. 1986. Influence of Water Hardness, pH and Alkalinity on the Mechanisms of Copper Toxicity in Juvenile Rainbow Trout, *Salmo gairdneri*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 43:1488-1496.
- Lemly, D.A. 1992. Teratogenic Effect of Selenium in Natural Population of Freshwater Fish. Departmen of Fisheries and Wildlife Science. Virginia Tech University, Blackburg, Virginia. *Ecotox. and environ.* 26: 181-204.
- Lugowska. K., and Witeska. M. 2004. The Effect of Copper Exposure during Embryonic Development on Deformations of Newly Hatched Common Carp Larvae, and Further Consequences. *Electronic Journal of Polish Agricultural University*. Vol. 7. <http://www.ejpau.media.pl/series/volume7/issue2/fisheries.html> . Akses 11 September 2004.
- Manahan, S.E., 1997. *Environmental Chemistry*. Secon Ed. Williard Press. Boston.

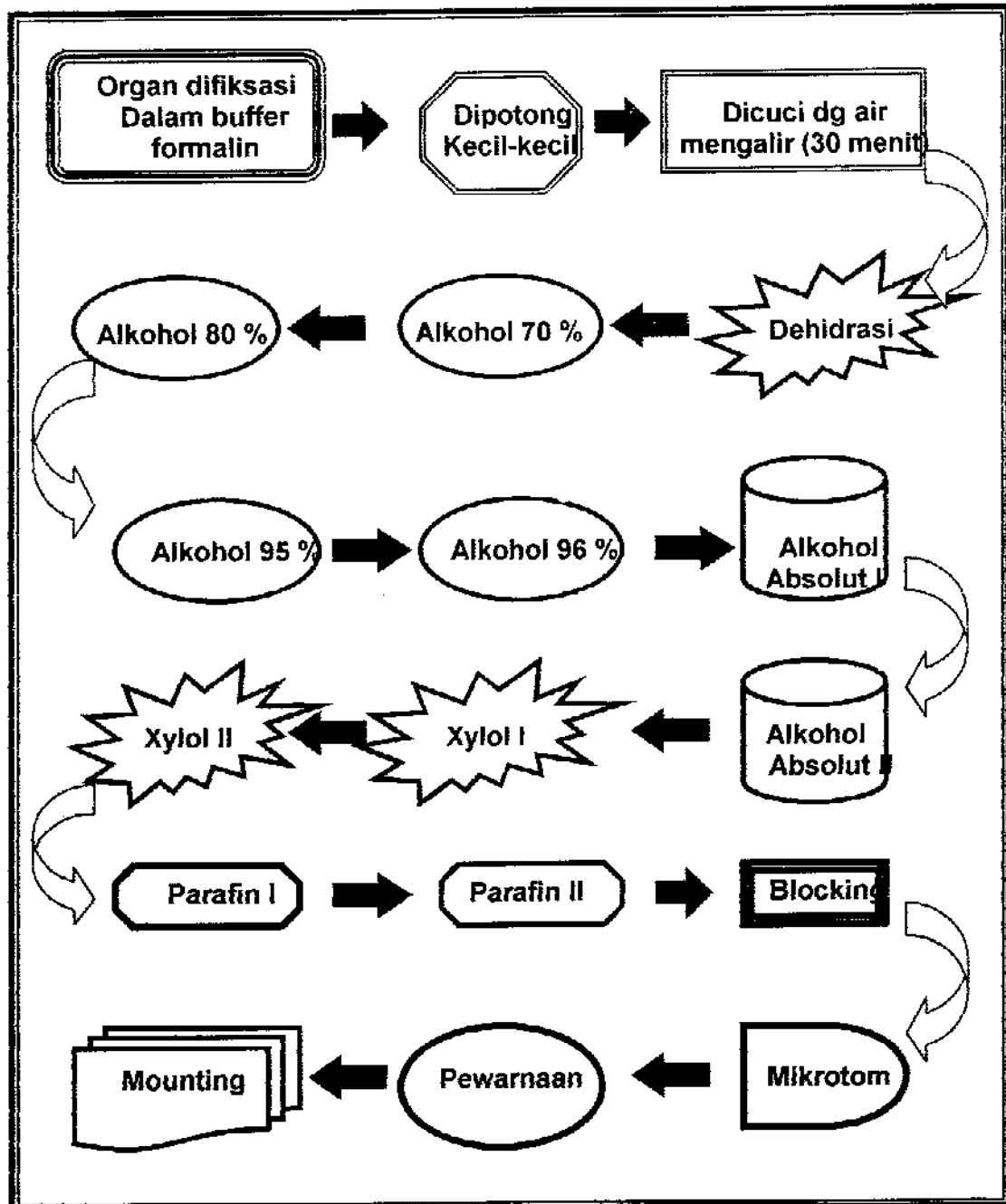
- McKim, J.M., and D.A. Benoit. 1971. Effect of Long Term Exposures to Copper on Survival, Growth, and Reproduction of Brook Trout (*Salvelinus fontinalis*). J. Fish. Res. Board Can. 28:655-662.
- Metelev, V.V., A.I. Kanaev., and N.G. Dzasokhova. 1971. Water Toxicology. Amerind Publishing. Co.Pvt. Ltd., New Delhi. pp 86-99.
- Mittinen, J.K., 1977. Inorganic Trace Element as Water Pollutan to Healt and Aquatic Biota. Forum Academic Press. New York.
- Moore , J.W. and S. Ramamoorthy. 1984. Heavy Metals in Natural Waters. Springer-Verlag. New York Inc.
- Nagel, R. 2002. *DarT: The Embryo Test with the Zebrafish , Danio rerio*. TU Dresden, Institut fur Hydrobiologie, D-Dresden. <http://www.res.urz.tu-dresden.de>. Akses 10 Mei 2004.
- Namesok, J.G., and G.M. Hughes., 1988. The Effect of Copper Sulphate on Some Biochemical Parameters of Rainbow Trout. Environ. Pollut. 49:77-85.
- Pande, R.K., and G.P. Shukla. 1992. Study of the Acute Toxicity Dose of Herbicides,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ; Agrochemical, NPK; and Chemotherapeutics Like Formalin and  $\text{KmnO}_4$  on *Mystus vittatus* and *Colisa fasciatus*. Zeits.fur Ang.Zool. 79:221-241.
- Poernomo.B., 1999. The Teratology Highlight. Post Graduate Programme. Airlangga University. Surabaya. p. 53.
- Rubinstein. A.L. 2003. Zebrafish: From Disease Modeling to Drug Discovery. Current Opinion in Drug Discovery & Development . 6 (2) 218-223.
- Rowe,C.L. , O.M. Kinney, and J.D. Congdon. 1998. Oral Deformities in Tadpoles of the Bullfrog (*Rana catesbeiana*) Caused by Conditions in a Polluted Habitat. <http://amphibiaweb.org/>. Akses 10 Oktober 2004.
- Saucier,D., L. Astic, and F. Godinot. 1991. Histopathological Changes in the Olfactory Organ of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Can.J.Zool. 69:2239-2245.
- Surachmad , W. 1987. Pengantar Penelitian Ilmiah. Dasar Metode Teknik. Penerbit Tarsito. Bandung. hlm. 25-26.
- Supriharyono. 2000. Pelestarian dan Pengelolaan Sumberdaya Alam di Wilayah Pesisir Tropis. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. hlm. 91-154.

- Sutamihadja, R.T.M. Adanan, K. dan Sanusi. 1982. Perairan Teluk Jakarta Ditinjau dari Tingkat Pencemarannya. Fakultas Pascasarjana, Jurusan PSL. IPB.
- Stevens, D.G. 1977. Survival and Immune Response of Coho Salmon Exposed to Copper. USEPA/600/02.
- Stouthart, X.J. 1996. Effect of Water pH on Copper Toxicity to Early Life Stage of the Common Carp (*Cyprinus carpio*). Environ. Toxicol. Chem 15:376-383.
- Stresinger, G. 1981. Production of Clones of Homozygous Diploid Fish, *Brachydanio rerio*. Nature 291:293-296.
- Svobodova, J.T., B. Vykusova, and J. Machova. 1994. The Effect of Pollutants on Selected Haematological and Biochemical Parameters in Fish. FAO. Blackwell Science Ltd.
- Tang dan Affandi., 2001. Biologi Reproduksi Ikan. P23KP2 – UNRI. ISBN: 979-95865-3-4.
- Weinstein, N.L. 1978. Multiple Toxicity Assessment for Mixtures of Aquatic Pollutants. M.Sc. Thesis. Dept. Biological Science, Concordia University, Montreal.
- Wilson, R.W., and E.W. Taylor. 1993. The Physiological Responses of Freshwater Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*, During Acutely Lethal Copper Exposure. J. Comp. Physiol. B. 163:38-47.
- Woyunorovich, E. and Harvath, L. 1980. The Artificial Propagation of Warmwater Finfishes. A Manual for Extension. FAO Fish. Roma. pp 287 – 288.

**LAMPIRAN**

## Lampiran 1

## Skema prosedur pembuatan sediaan histopat insang ikan Zebra



## Lampiran 2

### Analisis Varian satu jalur persentase daya tetas telur ikan zebra yang terpapar copper sulfat.

#### Summarize

##### Case Processing Summary

	Cases		Excluded	Total		
	Included	Percent		N	Percent	
DYTETAS * Dosis	24	100,0%	0	,0%	24	100,0%

a Limited to first 100 cases.

##### Case Summaries

Dosis	Kontrol			DYTETAS
		1		85,00
		2		75,00
		3		90,00
		4		85,00
		5		90,00
		6		90,00
		Total	N	6
	0,1 mg/l	1		70,00
		2		75,00
		3		60,00
		4		60,00
		5		65,00
		6		85,00
		Total	N	6
	0,15 mg/l	1		50,00
		2		60,00
		3		50,00
		4		45,00
		5		35,00
		6		50,00
		Total	N	6
	0,3 mg/l	1		35,00
		2		30,00
		3		30,00
		4		25,00
		5		25,00
		6		35,00
		Total	N	6
	Total	N		24

a Limited to first 100 cases.

**Oneway**

Descriptives  
 Daya Tetas

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95 % Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol (0 mg/l)	6	85,8333	5,8452	2,3863	79,6991	91,9675	75,00	90,00
0,1 mg/l	6	65,8333	5,8452	2,3863	59,6991	71,9675	60,00	75,00
0,15 mg/l	6	48,3333	8,1650	3,3333	39,7647	56,9019	35,00	60,00
0,3 mg/l	6	30,0000	4,4721	1,8257	25,3068	34,6932	25,00	35,00
Total	24	57,5000	21,9188	4,4742	48,2445	66,7555	25,00	90,00

ANOVA  
 Daya Tetas

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10275,000	3	3425,000	88,387	,000
Within Groups	775,000	20	38,750		
Total	11050,000	23			



### Lampiran 3

Data hasil uji LSD rata-rata persentase daya tetas telur ikan zebra yang terpapar copper sulfat.

### Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: DAYA TETAS

	(I) Dosis	(J) Dosis	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95 % Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	Kontrol (0 mg/l)	0,1 mg/l	20,0000*	3,5940	,000	12,5031	27,4969
		0,15 mg/l	37,5000*	3,5940	,000	30,0031	44,9969
		0,3 mg/l	55,8333*	3,5940	,000	48,3364	63,3302
	0,1 mg/l	Kontrol	-20,0000*	3,5940	,000	-27,4969	-12,5031
		0,15 mg/l	17,5000*	3,5940	,000	10,0031	24,9969
		0,3 mg/l	35,8333*	3,5940	,000	28,3364	43,3302
	0,15 mg/l	Kontrol	-37,5000*	3,5940	,000	-44,9969	-30,0031
		0,1 mg/l	-17,5000*	3,5940	,000	-24,9969	-10,0031
		0,3 mg/l	18,3333*	3,5940	,000	10,8364	25,8302
0,3 mg/l	Kontrol	-55,8333*	3,5940	,000	-63,3302	-48,3364	
	0,1 mg/l	-35,8333*	3,5940	,000	-43,3302	-28,3364	
	0,15 mg/l	-18,3333*	3,5940	,000	-25,8302	-10,8364	

- The mean difference is significant at the .05 level.

## Lampiran 4.

Perbedaan notasi hasil uji LSD pada rata-rata persentase daya tetas telur ikan Zebra karena pengaruh pemaparan copper sulfat.

Dosis	Ulangan	Daya Tetas			
		1	2	3	4
0,3 mg/l (CU3)	6	30,0000 <sup>a</sup>			
0,15 mg/l (CU2)	6		48,3333 <sup>b</sup>		
0,1 mg/l (CU1)	6			65,8333 <sup>c</sup>	
0 mg/l (kontrol)	6				85,8333 <sup>d</sup>
Sig		1,000	1,000	1,000	1,000

## Lampiran 5

**Analisis varian satu jalur persentase Abnormalitas larva ikan zebra yang menetas akibat terpapar copper sulfat.**

## Summarize

## Case Processing Summary

	Cases		Excluded		Total	
	Included	Percent	N	Percent	N	Percent
ABNORMAL * Dosis	24	100,0%	0	,0%	24	100,0%

a. Limited to first 100 cases.

## Case Summaries

Dosis			ABNORMAL
1,00	1		5,00
	2		,00
	3		5,00
	4		,00
	5		,00
	6		,00
	Total	N	6
2,00	1		14,00
	2		10,00
	3		25,00
	4		7,00
	5		10,00
	6		10,00
	Total	N	6
3,00	1		40,00
	2		60,00
	3		38,00
	4		78,00
	5		57,00
	6		55,00
	Total	N	6
4,00	1		85,00
	2		66,00
	3		88,00
	4		88,00
	5		80,00
	6		85,00
	Total	N	6
Total	N	24	

a. Limited to first 100 cases.

## Oneway

Descriptives  
ABNORMAL ITAS

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95 % Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol	6	1,6667	2,5820	1,0541	-1,0430	4,3763	,00	5,00
0,1 mg/l	6	14,3333	6,4395	2,6289	5,9089	19,4245	7,00	25,00
0,15 mg/l	6	54,6667	14,6379	5,9759	39,3052	70,0281	38,00	78,00
0,3 mg/l	6	82,0000	8,3666	3,4157	73,2198	90,7802	66,00	88,00
Total	24	37,7500	34,0808	6,9567	23,3589	52,1411	,00	88,00

ANOVA  
ABNORMAL ITAS

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	25052,500	3	8350,833	100,491	,000
Within Groups	1662,000	20	83,100		
Total	26714,500	23			

## Lampiran 6

Data hasil perhitungan uji LSD rata-rata persentase abnormalitas larva ikan zebra yang menetas akibat pemaparan copper sulfat

## Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: ABNORMALITAS

	(I) Dosis	(J) Dosis	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95 % Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	Kontrol	0,1 mg/l	-11,0000	5,2631	,050	-21,9786	-2,1410E-02
		0,15 mg/l	-53,0000*	5,2631	,000	-63,9786	-42,0214
		0,3 mg/l	-80,3333*	5,2631	,000	-91,3119	-69,3547
	0,1 mg/l	Kontrol	11,0000	5,2631	,050	2,141E-02	21,9786
		0,15 mg/l	-42,0000*	5,2631	,000	-52,9786	-31,0214
		0,3 mg/l	-69,3333*	5,2631	,000	-80,3119	-58,3547
	0,15 mg/l	Kontrol	53,0000*	5,2631	,000	42,0214	63,9786
		0,1 mg/l	42,0000*	5,2631	,000	31,0214	52,9786
		0,3 mg/l	-27,3333*	5,2631	,000	-38,3119	-16,3547
	0,3 mg/l	Kontrol	80,3333*	5,2631	,000	69,3547	91,3119
		0,1 mg/l	69,3333*	5,2631	,000	58,3547	80,3119
		0,15 mg/l	27,3333*	5,2631	,000	16,3547	38,3119

\* The mean difference is significant at the .05 level.

## Lampiran 7

Perbedaan notasi hasil uji LSD pada rata-rata persentase Abnormalitas ikan zebra karena pengaruh pemaparan copper sulfat.

Dosis	Ulangan	Abnormalitas		
		1	2	3
0 mg/l (kontrol)	6	1,6666 <sup>a</sup>		
0,1 mg/l (CU1)	6	12,6667 <sup>a</sup>		
0,15 mg/l (CU2)	6		54,6667 <sup>b</sup>	
0,3 mg/l (CU 3)	6			82,000 <sup>c</sup>
Sig.		0,190	1,000	1,000

## Lampiran 8.

Prevalensi dan tipe abnormalitas larva ikan zebra karena pengaruh pemaparan copper sulfat.

Perlakuan	Jml .Telur Menetas	Tipe Abnormalitas				
		Lordosis	Scoliosis	Kyphosis	Cacat kepala	Cacat Eor
<b>Kontrol</b>						
1	17	1	0	0	0	0
2	15	0	0	0	0	0
3	18	1	0	0	0	0
4	17	0	0	0	0	0
5	18	0	0	0	0	0
6	18	0	0	0	0	0
<b>0,1 mg/l</b>						
1	14	2	1	0	1	0
2	15	1	1	0	0	0
3	12	3	2	0	1	1
4	12	3	1	0	1	0
5	13	1	1	0	0	0
6	13	1	0	1	0	0
<b>0,15 mg/l</b>						
1	10	1	1	2	0	0
2	12	3	2	2	0	0
3	10	2	1	1	0	1
4	9	1	3	2	1	0
5	7	1	2	1	0	0
6	10	2	1	1	1	1
<b>0,3 mg/l</b>						
1	7	4	2	0	1	0
2	6	0	1	1	1	1
3	6	3	2	0	0	0
4	5	1	0	2	1	1
5	5	1	1	1	1	0
6	7	5	0	0	0	1
		30 39 %	17 22,3 %	15 19,7 %	6 7,8 %	8 10,5 %

