

PENGARUH PEMAPARAN LOGAM BERAT Pb (TIMBAL) TERHADAP PERUBAHAN WARNA DAN PENINGKATAN PERSENTASE ANAKAN JANTAN *Daphnia* spp.

EFFECT OF HEAVY METAL Pb (LEAD) EXPOSURE TO THE COLOR CHANGE AND INCREASE THE PERCENTAGE OF MALE OFFSPRINGS OF *Daphnia* spp.

A. Shofy Mubarak, Akhsan Panna dan Yeni Dhamayanti

Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga
Kampus C Mulyorejo - Surabaya, 60115 Telp. 031-5911451

Abstract

Pb (lead) was a metal that does't regulated by water organisms so that the metal was constantly accumulated in organisms tissue. Currently, the pollution Pb in the waters of Indonesia have exceeded the maximum threshold of pollution defined by the government. *Daphnia* spp. is the organism that have been developed as a bioassay in some developed countries like U.S. and Japan because it has a rapid life cycle that is about three weeks, are sensitive to the chemical in the waters ecology and has an important role in the ecology of freshwater as the first of trophic level in the waters ecology. Target of this research is to obtain information about the concentration of heavy metals Pb that correlated with of *Daphnia* spp. color changes and increase of male offsprings of *Daphnia* spp.. This research was conducted on november 24th, 2008 until December 8th, 2008 in the Laboratory Education of fisheries, Faculty of Fisheries and Marine, Airlangga University.

This research use method of experimental design with Completely Randomized Design (RAL) with five treatments and four replicates. Treatment A (control), exposure of Pb in concentration 0 mg/L. Treatment B, Pb concentration 0.90 mg/L, Treatment C, Pb concentration 1.8 mg/L, Treatment D, Pb concentration 2.7 mg/L, and Treatment E with Pb concentration 3.63 mg/L. Collected data were analyzed using Analysis of Variance (ANOVA) with error rate or $\alpha = 0,05$, if there are a different, hence continued with *Duncan's Multiple Range Test*. Collected data were analyzed again using linear regression graph to estimate the enhanced in every treatment.

The results of research indicates that the heavy metal Pb exposure with different concentrations to the adult female *Daphnia* spp. did not showing significant different of the daphnia spp. color change. This is because the condition of Hypoxia (*oxygen deficiency*) more dominant than the increase of methyl farnesoate to influence increase of *Daphnia* spp.'s haemoglobin synthesis.

Besides, research also indicates that the heavy metals Pb exposure with different concentrations to the adult sex *Daphnia* spp. provide a very significant percentage of male *Daphnia* spp. offsprings. This happens due to the increase of methyl farnesoate in *Daphnia* spp. inhibit the formation of female sex of *Daphnia* spp. offsprings by adult *Daphnia* spp. that expossured by Pb. Result of processing data using linear regression is a formula $y = 18.76x + 3.104$. this formula can be used to estimate concentration of Pb in water based on percentage of male offsprings of *Daphnia* spp. Water quality during research showed the waters pH range between 8.2 - 8.5, dissolved oxygen (DO) ranged between 8.0 - 8.5 mg/L, waters temperature was 26°C and ammonia level was 0.03 mg/L. This Conditions of water quality was the optimal conditions to support *Daphnia* spp. life.

Key words : Pb (lead), color change, male offsprings, *Daphnia* spp.

Pendahuluan

Pb (timbal) merupakan salah satu logam berat dengan kandungan yang telah melebihi ambang batas di beberapa perairan di Indonesia. Pb merupakan logam yang dapat terakumulasi dalam jaringan organisme. Kandungannya dalam jaringan terus meningkat sesuai dengan kenaikan konsentrasi Pb dalam air dan lamanya organisme tersebut berada dalam perairan yang tercemar Pb. Hal ini disebabkan karena organisme air tidak mampu meregulasi logam berat Pb yang masuk kedalam tubuh organisme. Kadar maksimum Pb dalam air yang dapat digunakan untuk kegiatan perikanan adalah sebesar 0,03 mg/L (Alaerts dan Santika, 1987).

Daphnia spp. adalah organisme yang mulai dikembangkan sebagai *bioassay* toksisitas di beberapa negara maju seperti Amerika dan Jepang. *Daphnia* spp. dipilih karena memiliki siklus hidup cepat yaitu sekitar tiga minggu. Selain itu, *Daphnia* spp. bersifat sensitif terhadap kimia lingkungan dan memiliki peran penting dalam ekologi air tawar yaitu sebagai tingkat pertama *trophic level*.

Kualitas lingkungan yang tidak optimal dapat memicu organ mandibular *Crustacea decapoda* untuk menghasilkan *methyl farnesoate*. Peningkatan konsentrasi methyl farnesoate dalam tubuh *Daphnia* spp. dapat memacu sintesa hemoglobin, sehingga terjadi akumulasi hemoglobin yang dapat merubah warna *Daphnia*

spp. menjadi kemerahan. *Methyl farnesoate* juga dapat mempengaruhi peningkatan persentase anakan jantan *Daphnia* spp. pada induk *Daphnia* spp. dewasa kelamin. *Methyl farnesoate* akan mempengaruhi perkembangan oosit menjadi organisme jantan (Olmsted and LebBlanc, 2002).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan informasi mengenai konsentrasi logam berat timbal (Pb) yang berkaitan dengan perubahan warna dan peningkatan persentase anakan jantan *Daphnia* spp.

Hasil penelitian ini memberikan informasi mengenai data dasar pengembangan penggunaan *Daphnia* spp. sebagai *bioassay* toksisitas Pb di perairan air tawar.

Materi dan Metode Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pendidikan Perikanan Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Airlangga Surabaya pada tanggal 24 Nopember sampai 8 Desember 2008. Penelitian ini menggunakan 400 ekor *Daphnia* spp. betina dewasa kelamin yang dibagi secara acak ke dalam 5 perlakuan, masing-masing perlakuan diulang sebanyak 4 kali. Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu logam berat Pb, akuades, dan dedak. Sedangkan alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu timbangan, akuarium, aerator, selang dan kran aerasi, mikroskop, pipet, bak plastik, saringan, termometer, amoniak *test kit*, DO meter dan kertas pH.

Penelitian ini diawali dengan produksi telur *Daphnia* spp. yang disebut *ephippia*. Selanjutnya dilakukan penelitian untuk mencari LC50 Pb terhadap *Daphnia* spp. Penelitian utama dilakukan setelah didapatkan konsentrasi LC50 Pb terhadap *Daphnia* spp. Pada penelitian utama, *Daphnia* spp. betina dewasa kelamin diberi perlakuan dengan pemaparan logam berat Pb yang terdiri dari 5 perlakuan dengan dosis yang berbeda pada setiap perlakuan. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 4 kali. Dosis Pb pada penelitian ini antara lain : perlakuan A, dosis : 0 mg/L (kontrol), perlakuan B, dosis : 0,90 mg/L, perlakuan C, dosis : 1,8 mg/L, perlakuan D, dosis : 2,7 mg/L, perlakuan E, dosis : 3,63 mg/L.

Perubahan warna diamati setelah waktu 48 jam dengan metode *scoring* warna menggunakan indikator pada kertas pH yang dianalogikan dengan metode *scoring* warna menurut Deken (2005). Setiap ulangan diambil

sebanyak lima ekor sampel, kemudian dilakukan *scoring* sesuai perubahan yang terjadi. Pengamatan jumlah anakan jantan dilakukan pada hari ke-4 dengan mengamati seluruh anakan *Daphnia* spp. yang dihasilkan pada setiap perlakuan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 100x. Selanjutnya dilakukan penghitungan persentase anakan jantan *Daphnia* spp.

Data penelitian perubahan warna *Daphnia* spp. dianalisa secara statistik dengan uji *Kruskal - Walls* (Hasan, 2006), sedangkan data hasil pengamatan anakan jantan *Daphnia* spp. akan dianalisis secara statistik dengan menggunakan ANAVA. Apabila pada data yang dihasilkan terdapat perbedaan maka akan dilakukan uji lanjutan. Uji lanjutan yang digunakan adalah Uji Jarak Berganda Duncan (*Duncan' Multiple Range Test*) (Kusriningrum, 2008), untuk mengetahui perbedaan diantara perlakuan.

Hasil dan Pembahasan

Rata-rata Rata-rata *scoring* perubahan warna tubuh *Daphnia* spp. hasil pengamatan ditampilkan pada Tabel 1. berikut :

Tabel 1. Rata-rata *scoring* perubahan warna tubuh *Daphnia* spp. setelah pemaparan logam berat Pb selama 48 jam

Perlakuan pemaparan konsentrasi logam berat Pb	Rata-rata persentase jumlah anakan jantan <i>Daphnia</i> spp.
A (kontrol)	1,10
B (0,90 mg/l)	1,10
C (1,8 mg/l)	1,20
D (2,7 mg/l)	1,30
E (3,63 mg/l)	1,35

Keterangan : a, b, c superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan persentase jumlah anakan jantan *Daphnia* spp. yang berbeda nyata ($p < 0,05$)

Hasil uji *Kruskal - Walls* terhadap data perubahan warna *Daphnia* spp. menunjukkan bahwa H hitung terkoreksi < H tabel 0,05. Hasil ini menunjukkan bahwa pemaparan logam berat Pb dengan konsentrasi yang berbeda terhadap *Daphnia* spp. dewasa kelamin tidak menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap perubahan warna *Daphnia* spp.

Hasil pengamatan persentase jumlah anakan jantan dari induk *Daphnia* spp. yang terpapar logam berat Pb dengan konsentrasi berbeda ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata persentase jumlah anakan jantan *Daphnia* spp. dari induk *Daphnia* spp. yang terpapar logam berat Pb dengan konsentrasi berbeda

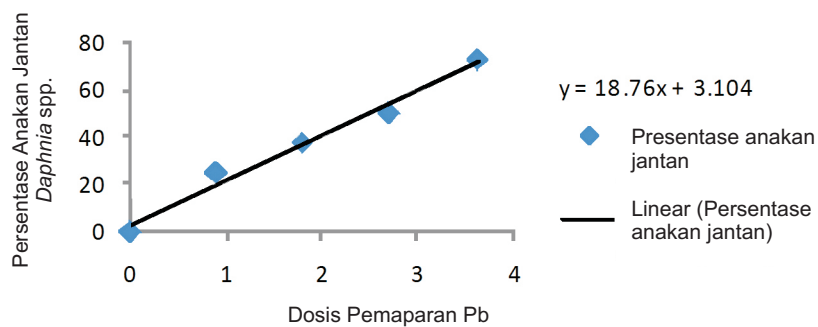
Perlakuan pemaparan konsentrasi logam berat Pb	Rata-rata persentase jumlah anakan jantan <i>Daphnia</i> spp.
A (kontrol)	0 ^e
B (0,90 mg/l)	25 ^d
C (1,8 mg/l)	37.5
D (2,7 mg/l)	50 ^b
E (3,63 mg/l)	72.5 ^a

Keterangan : a, b, c superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan persentase jumlah anakan jantan *Daphnia* spp. yang berbeda nyata ($p < 0,05$)

Hasil uji menggunakan Analisis Varian (ANOVA) menunjukkan perlakuan pemaparan logam berat Pb dengan konsentrasi berbeda terhadap *Daphnia* spp. dewasa kelamin selama 96 jam memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap persentase jumlah anakan jantan *Daphnia* spp. Hasil uji lanjutan menggunakan uji jarak berganda Duncan menunjukkan taraf perbedaan yang sangat nyata antara setiap perlakuan. Persentase jumlah anakan jantan *Daphnia* spp. tertinggi terdapat pada perlakuan E (dosis 3,63 mg/L) yang berbeda sangat nyata dengan perlakuan lainnya. Sedangkan persentase jumlah anakan jantan *Daphnia* spp. terendah terdapat pada perlakuan A (kontrol) yaitu pemaparan logam berat Pb dengan dosis 0 mg/L. Pengolahan data menggunakan regresi linear menghasilkan rumus $y = 18.76x + 3.104$ (Gambar 1).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemaparan logam berat Pb dengan konsentrasi yang berbeda terhadap *Daphnia* spp. dewasa kelamin tidak menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap perubahan warna *Daphnia* spp. Hal ini disebabkan karena dalam kondisi oksigen terlarut (DO) tinggi yaitu 8,5 – 9,0 mg/L, *methyl farnesoate* tidak mampu menginduksi produksi hemoglobin *Daphnia* spp. sehingga pencemaran Pb pada media pemeliharaan *Daphnia* spp. tidak dapat menyebabkan perubahan warna tubuh *Daphnia* spp. Hal ini dapat disebabkan karena kondisi *hypoxia* (kekurangan oksigen) lebih dominan dibandingkan peningkatan *methyl farnesoate* dalam mempengaruhi peningkatan sintesa hemoglobin oleh *Daphnia* spp. Menurut Ebert (2005), *Daphnia* spp. akan membentuk hemoglobin untuk membantu pendistribusian oksigen dalam tubuhnya sebagai adaptasi terhadap kondisi perairan dengan kandungan oksigen terlarut yang rendah. Sehingga ketika oksigen tinggi, sintesa hemoglobin bukan merupakan suatu kebutuhan.

Disisi lain, peningkatan konsentrasi logam berat Pb yang dipaparkan pada *Daphnia* spp. dewasa kelamin berbanding lurus dengan peningkatan persentase anakan jantan *Daphnia* spp. yang dihasilkan. Semakin tinggi konsentrasi logam berat Pb yang dipaparkan maka semakin besar pula persentase anakan jantan *Daphnia* spp. yang dihasilkan. Hal ini disebabkan karena pencemaran Pb pada media pemeliharaan *Daphnia* spp. mempengaruhi *Daphnia* spp. untuk menghasilkan *methyl farnesoate* yang merupakan *male sex determination* pada *Daphnia* spp. sehingga anakan yang dihasilkan merupakan anakan jantan. Selain itu, juga dapat diperkirakan konsentrasi Pb yang terdapat dalam air berdasarkan persentase anakan



Gambar 1. Grafik persentase anakan jantan *Daphnia* spp.

jantan *Daphnia* spp. yang dihasilkan yaitu dengan menggunakan rumus linear $y = 18.76x + 3.104$ seperti yang ditunjukkan pada grafik yang terdapat pada Gambar 1.

Daphnia spp. akan menghasilkan anakan jantan saat berada pada kondisi lingkungan yang abnormal. Pada perairan yang tercemar, *Daphnia* spp. akan merespon keberadaan bahan pencemar yang terdapat pada perairan dengan memproduksi *methyl farnesoate* melalui organ mandibular *Daphnia* spp. (Rider *et al.*, 2004). Selanjutnya, *methyl farnesoate* akan berikatan dengan RXR yang menyebabkan RXR tidak dapat berikatan dengan (E:EcR:RXR) yaitu transcription factor yang merupakan *female sex* determination (penentu kelamin betina). Akibatnya terjadi kegagalan pembentukan anakan betina *Daphnia* spp. dan anakan *Daphnia* spp. yang terbentuk merupakan anakan berkelamin jantan (Jones and Sharp, 1997). Hasil penelitian ini menunjukkan persentase anakan jantan *Daphnia* spp. semakin meningkat sesuai dengan peningkatan konsentrasi Pb pada perairan. Semakin besar konsentrasi Pb pada perairan, semakin besar pula anakan jantan *Daphnia* spp. yang dihasilkan. Dengan demikian, pencemaran Pb pada perairan dapat mempengaruhi *Daphnia* spp. untuk meningkatkan produksi *methyl farnesoate* sehingga menghasilkan anakan jantan.

Kualitas air selama penelitian yaitu pH berkisar antara 8,2 - 8,5, kandungan oksigen terlarut (DO) berkisar antara 8,0 - 8,5 mg/L, suhu 26°C dan amoniak 0,03 mg/L. Kondisi kualitas air ini masih berada dalam kondisi optimal untuk mendukung kehidupan *Daphnia* spp. Menurut Clare (2002), *Daphnia* spp. dapat tumbuh optimal pada lingkungan dengan pH 7,2-8,5 dan suhu 24-31°C. *Daphnia* spp. memiliki toleransi yang sangat baik terhadap kondisi oksigen terlarut rendah, sehingga dapat hidup pada kondisi perairan dengan kandungan oksigen terlarut yang mendekati 0 mg/L hingga kondisi supersaturasi. Kandungan oksigen terlarut yang baik untuk mendukung kehidupan *Daphnia* spp. yaitu di atas 5 mg/L (Mullins, 2007). Dengan demikian, kondisi stres hanya terjadi akibat pemaparan logam berat Pb.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah diuraikan sebelumnya dapat disimpulkan bahwa pemaparan logam berat Pb dengan konsentrasi berbeda tidak menyebabkan pengaruh yang berbeda terhadap tingkat perubahan warna *Daphnia* spp., peningkatan konsentrasi logam berat Pb yang

dipaparkan pada *Daphnia* spp. dewasa kelamin berbanding lurus dengan peningkatan persentase anakan jantan *Daphnia* spp. yang dihasilkan.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengembangkan penggunaan *Daphnia* spp. dalam mendeteksi pencemaran logam berat Pb pada perairan sebagai alternatif deteksi dini terhadap perubahan lingkungan (*early warning*) akibat pencemaran Pb pada perairan.

Daftar Pustaka

- Alaerts, G dan S. S. Santika. 1987. Metoda Penelitian Air. Usaha Nasional. Surabaya.
- Anwar, K. 2005. Zainul dan Telur *Nyale* Untuk Mengukur Mutu Air Laut. Kompas : 5
- Araujo-Coutinho, C., R. Figueiro., A. P. Vivian., E. S. Nascimento and C. F. G. Cavados. 2005. Scientific Note – A Bioassay Method for Black Flies (Diptera: Simuliidae) Using Larvicides. Neotropical Entomology Journal. Rio de Janeiro. Brazil. 3 pp.
- Bat, Levent., Sabri. B and Mehmet. A. 2001. Individual and Combined Effect of Copper and Lead on the Marine Shrimp, *Palaemon adspersus* Rathke, 1837 (Decapoda: Palaemonidae). University of Ondokuz Mayıs. Sinop. Turkey. 15 pp.
- BPLHD (Badan Pengelolaan Lingkungan Hidup). 2009. Green & Smile Office. BPLHD Jawa Barat. www.rifamedia.co.cc. 19/09/2009. 8 hal.
- Breed, M. D. 2002. Juvenile Hormone. www.animalbehaviouronline.com. 11/03/2009. 2 pp.
- Chang, B. 2005. Developing an Aquatic Toxicity Biomarker using Hemoglobin Gene Expression. University of California-Berkeley. 11 p
- Clare, J. 2002. *Daphnia* : An Aquarist's Guide. www.Caudata.org. 21/05/2008. 13 pp.
- Van Nostrand, V. 1964. International Encyclopedia of Chemical Science. D. Van Nostrand Company. Inc. Princeton. New Jersey.
- Deken. A. 2005. Seeing Red : *Daphnia* and Hemoglobin : A Middle School Curriculum Unit Modeling Ecological Interaction and The Significance of Adaptations. Summer Research Fellowship for Science Teachers. Howard Hughes Medical Institute. Washington University Science Outreach. 35p.

- Devarakonda, S., J. M. Harp., Y. Kim., Andzej. O and F. Rastinejad. 2003. Structure of The Heterodimeric Ecdysone Receptor DNA-Binding Complex. European Molecular Biology Organization. www.embo.org. 23/03/2009. 29 pp.
- Dodson, S. I., C. M. Merritt., J. B. Shurin and K. G. Redman. 2000. *Daphnia* Reproductive Bioassay for testing toxicity of Aqueous Sample and Presence of an Endocrinic Disrupter. 7 p.
- Eisler, R. 1988. Lead Hazards to Fish, Wildlife and Invertebrates : A Synoptic Review. U.S. Fish and Wildlife Service. Patuxent Wildlife Research Center.
- Ebert, D. 2005. Ecology, Epidemiology, and Evolution of Parasitism in *Daphnia*. University of Basel. Switzerland. 9 p.
- Grosell, M., R. M Gerdes and K. V Brix. 2005. Chronic Toxicity of Lead to Three Freshwater Invertebrates – *Brachionus calyciflorus*, *Chironomus tentans* and *Lymnaea stagnalis*. Journal of Rosenstiel School of Marine and Atmospheric Sciences, University of Miami. 8p
- Hall, B and L., Thummell. C. S. 1998. The RXR Homolog Ultraspiracle is an Essential Component of The *Drosophila* Ecdysone Receptor. Howard Hughes Medical Institute. Utah. USA.
- Haryanto, B. 2007. Budi Haryanto's Blog. www.Staff.blog.ui.edu. 01/08/2008. 11 pp
- Hasan, I. 2006. Analisis Data Penelitian Dengan Statistik. PT. Bumi Aksara. Jakarta. 176-178.
- Heckmann, L.H., R. M. Sibly., R. Connon, H. L. Hooper., T. H. Hutchinson., S. J. Maund., C. J. Hill., A. Bouetard and A. Callaghan. 2008. Systems Biology Meets Stress Ecology: Linking Molecular and Organismal Stress Responses in *Daphnia magna*. BioMed Central Ltd. www.BioMed.com. 15/09/2008. 21 pp.
- Herman, D. Z. 2006. Tinjauan terhadap *tailing* mengandung unsur pencemar Arsen (As), Merkuri (Hg), Timbal (Pb), dan Kadmium (Cd) dari sisa pengolahan bijih logam. Pusat Sumber Daya Geologi. Bandung. Indonesia.
- Hughes, R. 2007. *Daphnia* Bioassay. University of Arizona. USA. 8 p.
- Jalius. 2006. Limbah Kimia dan Pengaruhnya Terhadap Reproduksi Hewan. Institut Pertanian Bogor.
- Jones, G and P. A. Sharp. 1997. Ultraspiracle : An Invertebrate Nuclear Receptor For Juvenile Hormones. University of Kentucky. USA. 5 p.