

PETUNJUK PRAKTIKUM EKOTOKSIKOLOGI



Disusun oleh:
Sukiya
Rizka Apriani Putri

PROGRAM STUDI BIOLOGI
JURUSAN PENDIDIKAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI YOGYAKARTA
2014

PETUNJUK PRAKTIKUM EKOTOKSIKOLOGI

ACARA 1. UJI PENDAHULUAN

Uji pendahuluan pada uji toksisitas dimaksudkan untuk mendapatkan kisaran kadar suatu zat toksik yang akan digunakan pada uji akut (uji toksisitas atau uji definitif). Hasil uji pendahuluan akan diperoleh kisaran kadar pada uji definitif yaitu kadar di antara LC_{100} -24 jam, dan kadar LC_0 -48 jam.

LC_{100} -24 jam = ambang atas kadar, adalah kadar suatu zat toksik yang menyebabkan 100% kematian pada sejumlah biota uji (hewan/tumbuhan/mikroorganisme).

LC_0 -48 jam = ambang bawah kadar, adalah kadar suatu zat toksik yang menyebabkan 0% kematian (100% hidup) pada sejumlah biota uji (hewan/tumbuhan/mikroorganisme).

Perlakuan uji pada uji pendahuluan adalah dengan uji statik, maksudnya pada durasi uji tidak dilakukan penambahan larutan, aerasi, maupun pakan.

Alat:

1. Bak plastik ukuran 30 x 20 cm 15 buah
2. Gelas ukur 5cc, 10cc, 50cc, 100cc, masing-masing satu buah.
3. Beker glass 1000cc, 3 buah.
4. Pipet ukur 1cc, satu buah.
5. Ember, dan gayung air.

Bahan:

1. Bibit ikan tombro/nila ukuran 2-3cm, sebanyak 150 ekor.
Ukuran ikan yang digunakan didasarkan pada bobot ikan dan volume air (cairan) perlakuan, dengan ketentuan: 0,8 – 1 gram bobot ikan per 1 (satu) liter air.
2. Insektisida Sipermetrin, 100cc.
3. Air sumur, 150 liter.
4. Kertas label, dan alat tulis.

Cara kerja:

1. Bibit ikan untuk uji pendahuluan, diaklimasi di laboratorium selama 7-10 hari sebelum digunakan.
2. Sehari (24 jam) sebelum perlakuan, bibit ikan dipuaskan (tidak diberi makan).
3. Siapkan bak perlakuan, masing-masing 3 bak untuk setiap perlakuan, tempeli label sesuai dengan perlakuannya (kadar 10^{-2} , 10^{-1} , 10^0 , 10^{+1} , 10^{+2}).
4. Buat larutan stok insektisida Sipermetrin 0,1%, dengan mencampur 1cc Sipermetrin ke dalam 999cc air.
5. Buat larutan uji dengan kadar berbasis angka 10 (10^{-2} , 10^{-1} , 10^0 , 10^{+1} , 10^{+2}) dari insektisida Sipermetrin 1%. Masing-masing kadar sebanyak 3 bak @ 10 liter. Setiap bak untuk masing-masing kadar dibuat sebagai berikut:
Kadar 10^{+2} = 10cc Sipermetrin + 9.990cc air.
Kadar 10^{+1} = 100cc larutan stok + 9.900cc air.
Kadar 10^0 = 10cc larutan stok + 9.990cc air.
Kadar 10^{-1} = 1cc larutan stok + 9.999cc air.
Kadar 10^{-2} = 0,1cc larutan stok + 9.999,9cc air (atau 1cc kadar 10^{-1} + 9.999cc air).
6. Masukkan 10 ekor ikan uji ke dalam setiap bak, catat waktu saat memasukkan ikan uji tersebut. (Kelas B menggunakan bibit ikan tombro, kelas E menggunakan bibit ikan nila).

- Catat data respon kematian ikan dari setiap perlakuan pada jam ke 24 dan ke 48, masukkan data kematian tersebut ke dalam tabel.

Tabel Pengamatan Uji Pendahuluan Toksisitas Insektisida Sipermetrin terhadap Mortalitas Bibit Ikan Tombro/Nilu

Lama Perlakuan	Kadar Perlakuan														
	10 ⁻² (?)			10 ⁻¹ (?)			10 ⁰ (?)			10 ⁺¹ (?)			10 ⁺² (?)		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
24 jam															
Jumlah															
48 jam															
Jumlah															

- LC₁₀₀-24 jam = ambang atas kadar, LC₀-48 jam = ambang bawah kadar.
- Angka (kadar) yang diperoleh dari uji pendahuluan, digunakan untuk menentukan kisaran kadar pada uji toksisitas sesungguhnya.

----- 0 -----

ACARA 2. UJI TOKSISITAS (UJI AKUT/UJI DEFINITIF)

Uji toksisitas dimaksudkan untuk mendapatkan kadar suatu zat toksik yang menyebabkan kematian 50% biota uji (hewan/tumbuhan/mikroorganisme) dalam durasi perlakuan 48 jam (LC_{50} -48 jam). Kadar uji dimaksud 10% nya adalah kadar yang digunakan pada perlakuan kadar aman. Perlakuan kadar aman adalah untuk memastikan apakah zat toksik dimaksud sudah betul-betul aman, sehingga tidak akan menimbulkan dampak fisiologik maupun morfologik terhadap biota uji.

Uji toksisitas juga dimaksudkan untuk mendapatkan gambaran daya toksik suatu zat yang didasarkan pada LC_{50} -96 jam, dan angka kadar ini dirujuk ke tabel Tingkat Toksisitas dari Loomis.

Perlakuan pada uji toksisitas adalah dengan uji statik, maksudnya pada durasi uji tidak dilakukan penambahan larutan, aerasi, maupun pakan.

Alat:

1. Bak plastik ukuran 30 x 20 cm 18 buah
2. Gelas ukur 5cc, 10cc, 50cc, 100cc, masing-masing satu buah.
3. Beker glass 1000cc, 3 buah.
4. Pipet ukur 1cc, satu buah.
5. Ember, dan gayung air.

Bahan:

1. Bibit ikan tombro/nila ukuran 2-3cm, sebanyak 150 ekor.
2. Larutan stok insektisida Sipermetrin, 100cc (kadar larutan stok = kadar LC_{100} -24 jam = ambang atas kadar).
3. Air sumur, 150 liter.
4. Kertas label, dan alat tulis.

Cara kerja:

1. Bibit ikan untuk uji toksisitas, diaklimasi di laboratorium selama 7-10 hari sebelum digunakan.
2. Sehari (24 jam) sebelum perlakuan, bibit ikan dipuasakan (tidak diberi makan).
3. Siapkan bak perlakuan, masing-masing 3 bak untuk 5 macam perlakuan, tempeli label sesuai dengan perlakuannya. Penentuan kadar perlakuan mengacu pada Skala Logaritmik dari Komisi Pestisida DEPTAN 1983, dengan rumus:

$$\log N/n = k (\log a/n)$$

Keterangan: N = kadar ambang atas

n = kadar ambang bawah

k = jumlah kadar yang diujikan

a = kadar terendah dalam skala logaritmik yang dicobakan

Contoh: Jika N = 100%, n = 10%, k = 5.

maka "a" adalah: $\log 100/10 = 5 (\log a/10)$

$$2 - 1 = 5 \log a - (5)(1)$$

$$6 = 5 \log a$$

$$10^6 = a^5$$

$$a = 10^{5/6} \text{ ----> } a = 15,85.$$

Untuk 4 kadar lain yang lebih tinggi adalah: $a/n = b/a = c/b = d/c = e/d$.

Maka diperoleh kadar "b" = 25,12%; "c" = 39,81%; "d" = 63,08%, dan "e" = 100%.

Tiga bak yang lain digunakan untuk kontrol, masing-masing bak diisi air sumur 10 liter dan bibit ikan 10 ekor.

Cara lain untuk menentukan kadar uji pada uji toksisitas bisa mengacu pada tabel logaritmik pada Skala Duodoroff.

Cara memakainya dengan memilih angka pada skala tersebut (angka tersebut menunjukkan kadar/konsentrasi) sebanyak variasi konsentrasi perlakuan (biasanya 5 atau 7 variasi).

Misalnya untuk keperluan praktikum ini dipilih konsentrasi 1,55; 2,4; 4,2; 5,5; dan 8,7.

Tabel Logaritmik Skala Duodoroff

Kolom 1	Kolom 2	Kolom 3	Kolom 4	Kolom 5
10	-	-	-	-
-	-	-	-	8,7
-	-	-	7,5	-
-	-	-	-	6,5
-	-	5,6	-	-
-	-	-	-	4,9
-	-	-	4,2	-
-	-	-	-	3,7
-	3,6	-	-	-
-	-	-	-	2,8
-	-	-	2,4	-
-	-	-	-	2,1
-	-	1,8	-	-
-	-	-	-	1,55
-	-	-	1,35	-

4. Buat larutan stok insektisida Sipermetrin (10 x dari kadar LC_{100-24} jam).
5. Buat larutan uji dengan kadar pada no. 3 di atas. Masing-masing kadar sebanyak 3 bak @ 10 liter (ingat, kadar perlakuan adalah di antara LC_{100-24} jam dan LC_{0-48} jam).
6. Masukkan 10 ekor ikan uji ke dalam setiap bak, catat waktu saat memasukkan ikan uji tersebut. (Kelas B menggunakan bibit ikan tombro, kelas E menggunakan bibit ikan nila).
Catat data respon kematian ikan dari setiap perlakuan pada jam ke 24, jam ke 48, jam ke 72, dan jam ke 96, masukkan data kematian tersebut ke dalam tabel.
7. Data dianalisis menggunakan analisis probit dari program SPSS, untuk mencari kadar LC_{50-48} jam dan LC_{50-96} jam.
8. Angka (kadar) yang diperoleh dari LC_{50-48} jam, digunakan untuk menentukan kadar pada uji kadar aman. Uji kadar aman adalah menggunakan kadar 10% LC_{50-48} jam.
Kadar uji dari LC_{50-96} jam digunakan untuk menentukan tingkat toksisitas (daya racun) dari insektisida Sipermetrin dengan mengacu pada skala Loomis.

Tabel Pengamatan Uji Toksisitas Insektisida Sipermetrin terhadap Mortalitas Bibit Ikan Tombro/Nila

Lama Perlakuan	Kadar Perlakuan																		
	Kontrol			K1 (?)			K2 (?)			K3 (?)			K4 (?)			K5 (?)			
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	
24 jam																			
Jumlah																			
48 jam																			
Jumlah																			
72 jam																			
Jumlah																			
96 jam																			
Jumlah																			

Tingkat Toksisitas Suatu Bahan Toksik Berdasarkan Skala Loomis

<i>Kadar (LC₅₀-96 jam dalam mg/liter)</i>	<i>Tingkat Toksisitas (Daya Racun)</i>
6. 1 mg/liter atau kurang	Luar biasa toksik
5. 1 – 50 mg/liter	Sangat toksik
4. 50 – 500 mg/liter	Cukup toksik
3. 0,5 – 5 gr/liter	Sedikit toksik
2. 5 – 15 mg/liter	Relatif kurang berbahaya
1. >15 gr/liter	Praktis tidak toksik

9. Buatlah laporan hasil praktikum Anda, dengan format:

Judul

Pendahuluan (Latar belakang, permasalahan, tujuan)

Metode (bahan, alat, cara kerja)

Hasil Praktikum dan Pembahasan

Simpulan

Daftar Pustaka

----- 0 -----

ACARA 3. UJI KADAR AMAN (UJI LANJUT)

Uji kadar aman dimaksudkan untuk mengetahui apakah kadar 10% LC₅₀-48 jam (kadar aman) yang diperoleh dari hasil uji toksisitas memang benar-benar aman terhadap biota uji tertentu (aman terhadap kelangsungan hidup, pertumbuhan, maupun reproduksi). Kadar aman harus dimaknai bahwa konsentrasi zat dimaksud memang aman, tetapi hanya sebatas pada spesies biota uji, dan tidak berlaku secara umum. Kadar aman seharusnya tidak menimbulkan gangguan fisiologik maupun morfologik organ tubuh biota uji pada sistem reproduksi, respirasi, digesti, ekskresi, skeleti, otot, maupun sistem saraf.

Durasi uji pada kadar aman setidaknya 8 minggu atau lebih, dengan pakan dan aerasi cukup, serta volume air perlakuan tidak berkurang oleh karena penguapan.

Alat:

1. Bak plastik ukuran 30 x 20 cm 5 buah
2. Gelas ukur 5cc, 10cc, 50cc, 100cc, masing-masing satu buah.
3. Beker glass 1000cc, 3 buah.
4. Pipet ukur 1cc, satu buah.
5. Ember, gayung air, dan aerator.
6. Mikroskop cahaya, timbangan analitik, dan alat ukur panjang.
7. Alat-alat lain yang diperlukan sesuai dengan tujuan uji yang ingin dicapai (misalnya alat bedah, dan alat pembuat preparat histologik).

Bahan:

1. Bibit ikan tombro/nila ukuran 2-3cm, sebanyak 50 ekor.
2. Larutan stok insektisida Sipermetrin, 5 liter (larutan stok = kadar LC₅₀-48 jam dari hasil uji toksisitas akut).
3. Air sumur, 50 liter, desinfektan KMnO₄.
4. Kertas label, kertas milimeter, alat tulis, dan alat-alat lain yang diperlukan sesuai dengan kebutuhan uji (misalnya formalin, albumen, parafin, alkohol, pewarna jaringan, Canada balsam).

Cara kerja:

1. Bibit ikan untuk uji pendahuluan, diaklimasi di laboratorium selama 7-10 hari sebelum digunakan.
2. Sehari (24 jam) sebelum perlakuan, bibit ikan dipuasakan (tidak diberi makan).
3. Siapkan 5 bak perlakuan, cuci bersih kemudian dibilas menggunakan desinfektan berupa larutan kalium permanganat (KMnO₄) 5%.
4. Setiap bak diisi 1 liter larutan stok ditambah 9 liter air.
5. Untuk uji terhadap pertumbuhan, setiap ikan sebelum diperlakukan (dipelihara) diukur bobot (gr), dan panjang total tubuhnya (mm). Panjang total tubuh adalah panjang tubuh yang diukur dari ujung rostrum sampai ujung pinna caudalis.
6. Masukkan 10 ekor ikan uji pada setiap bak.
7. Beri aerasi secukupnya,.
8. Pemberian pakan dilakukan pada hari ke 2 sampai berakhirnya perlakuan, sebanyak 5% bobot total ikan dari setiap bak, diberikan 2 kali, pagi, dan sore hari.
9. Data pertumbuhan relatif (pertambahan bobot relatif, dan pertambahan panjang relatif) diperoleh dari pengukuran bobot, dan panjang ikan di akhir perlakuan dikurangi dengan bobot, dan panjang awal. Masukkan data pengukuran ke dalam tabel pertumbuhan.
Data pertumbuhan juga bisa didasarkan pada nilai NVC (*nutrition value coefficient*, nilai kebugaran, atau nilai kegemukan) ikan uji, dengan rumus:

$$NVC = (w \times 100)/L^3$$

Keterangan: w = bobot ikan uji (gr).

L = panjang total ikan uji (cm).

NVC \geq 1,7 berarti gemuk, berarti pula bahwa perairan di mana ikan tersebut hidup (dipelihara) dimaknai "tidak" tercemar.

NVC $<$ 1,7 berarti kurus, berarti pula bahwa perairan di mana ikan tersebut hidup (dipelihara) dimaknai "tercemar".

Data kelangsungan hidup ditabulasi, kemudian dihitung berdasar rumus:

$$h = Nt_2/Nt_1 \times 100\%$$

Keterangan: h = kelangsungan hidup (%).

Nt₂ = cacah ikan hidup pada t₂ (akhir perlakuan).

Nt₁ = cacah ikan hidup pada t₁ (awal perlakuan).

100 = konstanta h dalam %.

Data lain yang diperlukan sangat bergantung pada tujuan uji yang dilakukan, misalnya data kerusakan histologik apakah terjadi *claudy swelling*, *hyperplasia*, atau terjadi tahapan *nekrosis* pada sistema tertunjuk, jika dibandingkan dengan sistema yang normal.

Jika dipermasalahkan: Apakah terjadi kerusakan pada sistem respirasi pada ikan uji?

Permasalahan ini bisa dijawab dengan data luas respiratorik. Cara menghitungnya adalah:

a. Panjang filamen (lamella primer) total (dlm μ)

$$= \Sigma \text{ satu sisi filamen pd 1 lembar insang} \times \text{pj filamen} \times 2 \times 4 \times 2 \text{ -----} = (A)$$

b. Σ lamella sekunder per 100 μ panjang filamen = (B)

c. Σ total lamella sekunder = (A)/100 x (B) = (C)

d. Luas permukaan satu lamella sekunder = (2 x pj x tg) + 2 x tg x tb) + (pj x tb) = (D)

e. Luas area respiratorik = [(C) x (D)] μ^2

Keterangan: tg = lebar, tb = tebal irisan (6 μ).

10. Analisis ragam dari rancangan acak lengkap digunakan untuk mengetahui tingkat signifikansi hasil uji kadar aman terhadap kelangsungan hidup, maupun pertumbuhan ikan uji.

----- o -----