



UNIVERSITAS INDONESIA

**BIOAKUMULASI MERKURI DAN METIL MERKURI OLEH
Oreochromis mossambicus MENGGUNAKAN APLIKASI
PERUNUT RADIOAKTIF : PENGARUH KONSENTRASI,
SALINITAS, PARTIKULAT, UKURAN IKAN DAN
KONTRIBUSI JALUR PAKAN**

DISERTASI

**HENY SUSENO
NPM 0706220890**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KIMIA
DEPOK
MEI 2011**



UNIVERSITAS INDONESIA

**BIOAKUMULASI MERKURI DAN METIL MERKURI OLEH
Oreochromis mossambicus MENGGUNAKAN APLIKASI
PERUNUT RADIOAKTIF : PENGARUH KONSENTRASI,
SALINITAS, PARTIKULAT, UKURAN IKAN DAN
KONTRIBUSI JALUR PAKAN**

DISERTASI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Doktor Sains
Kimia**

**HENY SUSENO
NPM 0706220890**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KIMIA
DEPOK
MEI 2011**

Universitas Indonesia

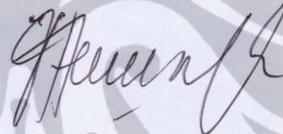
Bioakumulasi merkuri..., Heny Suseno, FMIPA UI, 2011.

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Disertasi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Heny Suseno

NPM : 0706220890

Tanda Tangan : 

Tanggal : 20 Mei 2011

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

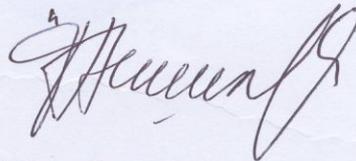
Nama : Heny Suseno
NPM : 0706220890
Program Studi : Doktor Ilmu Kimia
Departemen : Kimia
Fakultas : MIPA
Jenis karya : Disertasi
demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

Bioakumulasi Merkuri dan Metil Merkuri Oleh *Oreochromis mossambicus* Menggunakan Aplikasi Perunut Radioaktif: Pengaruh Konsentrasi, Salinitas, Partikulat, Ukuran Ikan dan Kontribusi Jalur Pakan

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok
Pada tanggal : 20 Mei 2011
Yang menyatakan



(Heny Suseno)

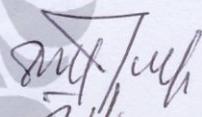
HALAMAN PENGESAHAN

Disertasi ini diajukan oleh :
Nama : Heny Suseno
NPM : 0706220890
Program Studi : Doktor Ilmu Kimia
Judul Disertasi : Bioakumulasi Merkuri dan Metil merkuri oleh *Oreochromiss mossambicus* Menggunakan Aplikasi Perunut Radioaktif: Pengaruh Konsentrasi, Salinitas, Partikulat, Ukuran Ikan dan Kontribusi Jalur Pakan

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Doktor pada Program Studi Doktor Ilmu Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

Promotor : Prof. Dr. Sumi Hudyono, PWS

()

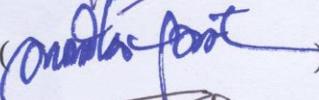
Kopromotor : Dr. rer.nat. Budiawan

()

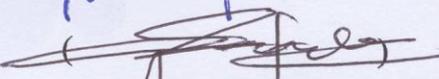
Dr. Ir. Djarot S Wisnubroto, M.Sc

()

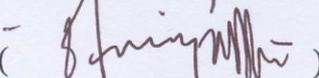
Penguji : Prof. Dr. Ir. Anondho Wijanarko, M.Eng

()

Dr. Asep Saefumillah, M.Si

()

Dr. Yoki Yulizar, M.Sc

()

Dr. Zainal Abidin

()

Ditetapkan di : Depok

Tanggal :

GLOSSARY

Kompartemen adalah ruang tempat zat bebas masuk dan bercampur secara homogen dan terjadi pertukaran zat dari luar ke dalam atau sebaliknya.

Bioakumulasi adalah peningkatan konsentrasi secara progresif suatu jenis senyawaan dalam suatu organisme yang disebabkan oleh laju pengambilan senyawaan tersebut lebih besar dibandingkan pelepasannya

Perunut radioaktif adalah zat radioaktif ($\text{CH}_3^{203}\text{Hg}^+$ dan $^{203}\text{Hg}^{2+}$) yang digunakan sebagai perunut untuk mempelajari bioakumulasi. Kuantitas perunut radioaktif yang ditambahkan dapat diabaikan atau tidak mempengaruhi konsentrasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} dalam air atau ikan

Kondisi *steady state* (Tunak) kondisi dimana kuantitas pengambilan CH_3Hg^+ atau Hg^{2+} dari lingkungan ke dalam tubuh = kuantitas pelepasan CH_3Hg^+ atau Hg^{2+} dari dalam tubuh keluar.

CF adalah Faktor Konsentrasi yang merupakan rasio konsentrasi CH_3Hg^+ atau Hg^{2+} di dalam tubuh ikan terhadap konsentrasi CH_3Hg^+ atau Hg^{2+} di dalam air

CF_{ss} adalah CF pada kondisi tunak yang merepresentasikan kemampuan bioakumulasi melalui jalur air

k_u (hari^{-1}) adalah konstanta laju pengambilan yang dihitung berdasarkan slope dari kurva CF_t terhadap t (dari $t=0$ sampai dengan t pada kondisi tunak)

k_e (hari^{-1}) adalah konstanta laju pelepasan n yang dihitung berdasarkan slope dari kurva persentase fraksi tertahan dalam tubuh ikan terhadap t

BCF adalah faktor bioakumulasi konsentrasi yang nilai CF_{ss} atau beberapa peneliti menghitung nilai BCF menggunakan persamaan $\text{BCF} = \frac{k_u}{k_e}$

I ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) adalah influks atau laju masuk kontaminan ke dalam tubuh ikan yang dihitung berdasarkan konsentrasi CH_3Hg^+ atau Hg^{2+} di dalam air dengan nilai k_u

AE (%) adalah Efisiensi asimilasi yang merupakan efisiensi pengambilan CH_3Hg^+ atau Hg^{2+} melalui pencernaan pakan yang terkontaminasi CH_3Hg^+ atau Hg^{2+} .

IR(% \cdot Hari $^{-1}$) adalah konstanta memangsa laju memangsa pakan yang dihitung berdasarkan persentase berat badan hewan. Asumsi yang digunakan 1 – 5% hari $^{-1}$

BAF adalah faktor bioakumulasi yang merupakan kontribusi akumulasi dari jalur air maupun pakan.

t (hari) adalah lamanya *O. mossambicus* terpapar CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} atau lamanya *O. mossambicus* melepas kontaminan

$t_{1/2b}$ (hari) adalah lamanya CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} berada dalam tubuh *O. mossambicus* sehingga konsentrasinya setengah dari konsentrasi mula-mula setelah paparan kedua kontaminan tersebut dihentikan

X (%) adalah fraksi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} yang tertahan di dalam tubuh *O. mossambicus*

TTF adalah *Thropic Transfers Factor* atau factor perpindahan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} pada jejaring makanan yang merepresentasikan terjadinya biomagnifikasi. Nilai $\text{TTF} \geq 1$ mengindikasikan terjadinya biomagnifikasi



DAFTAR KARYA TULIS ILMIAH YANG DIPUBLIKASI

1. Heny Suseno, Sumi Hudyono PWS, Budiawan, Djarod.S.Wisnubroto, Effects of Concentration, Body Size and Food Type on the Bioaccumulation of Hg in Farmed tilapia *Oreochromis mossambicus*, *Aust J. Bas. Appl. Sci*, 4(5): 792-799, 2010
2. Heny Suseno, Sumi Hudyono PWS, Budiawan, Djarot S Wisnubroto (2010),. Effect of Particulates Content on the Bioaccumulation of Hg in *Oreochromis mossambicus* Using Radiotracer. *Proceeding of The Third International Conference on Mathematics and Natural Sciences (ICMNS) 2010*. Institut Teknologi Bandung November 23 - 25, 2010
3. Heny Suseno, Sumi Hudyono PWS, Budiawan, Djarot S Wisnubroto (2010), Bioakumulasi merkuri anorganik dan metil merkuri oleh *Oreochromis mossambicus* : Pengaruh konsentrasi merkuri anorganik dan metil merkuri dalam air , *Jurnal Tek. Pengelolaan Limbah* 13(1): 49-62
4. Heny Suseno, Sumi Hudyono PWS, Budiawan, Djarot S Wisnubroto (2008). Study of Bioaccumulation Hg by *Oreochromis mossambicus* Using Radiotracer Techniques, *Proceed of The WM 2009 Conference*, Phoenix Arizona March 1 – 5 , 2009
5. Heny Suseno, Sumi Hudyono PWS, Budiawan, Djarot S Wisnubroto (2008), Preliminary Study of Mercury Biokinetic in *Mozambique tilapia*, *The Second International Conference on Mathematics and Natural Sciences (ICMNS) 2008*. Institut Teknologi Bandung October 28 - 30, 2008

ACKNOWLEDGMENT

Dalam penyusunan disertasi ini penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada berbagai pihak yang telah member masukan baik sebagai pembimbing, penguji maupun nara sumber. Terimakasih kepada Prof.Dr.Sumi Hudyono PWS selaku promotor Dr.rer.nat.Budiawan dan Dr. Djarot S Wisnubroto selaku ko promotor dalam hal penyempurnaan ide, implementasi pelaksanaan penelitian dan penyempurnaan tulisan. Ucapan terimakasih juga disampaikan kepada para penguji dimulai dari seminar proposal sampai dengan ujian disertasi yaitu: Dr. Endang Saefudin, Prof.Dr. Soleh Kosela, Prof.Dr.Usman Sumo Tambunan, Dr. Widayanti Wibowo, Prof. Dr. Wahyudi P Suwarsio, , Dr. Asep Saefummilah, Dr. Yoki Yulizar, Dr.Yuni K Krisnandi, Prof.Dr.Ir. Anondho Wijanarko,M.Eng dan Dr. Zaenal Abidin. Terimakasih disampaikan kepada Dr. Scott W Fowler, Dr. Fanny Houlbreque, Dr. Ross Jefrfy dan Mr. Jean Louis Teyssie dari Marine Environment Laboratory atas berbagai diskusi yang konstruktif sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan.



KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT, karena atas berkat dan rahmat-Nya, penulis dapat menyelesaikan disertasi ini. Penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada **Prof. Dr. Sumi Hudyono PWS** selaku promotor **Dr.rer.nat Budiawan** dan **Dr. Djarot S Wisnubroto** selaku kopromotor yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan dalam penyusunan disertasi ini. Ucapan terimakasih juga disampaikan kepada **Dr. Endang Saefudin** selaku pimpinan Program Pascasarja Ilmu Kimia, **Dr. Ridla Bakri** selaku Ketua Departemen Kimia FMIPA UI yang banyak membantu selama studi. Terimakasih kepada **Prof.Dr. Soleh Kosela** selaku mantan coordinator S3 Kimia UI yang telah menerima penulis sebagai mahasiswa S3 Kimia UI. Kepada seluruh Dosen Departemen Kimia UI yang penulis hormati dan selalu dibanggakan khususnya **Prof. Dr. Endang Asijati, Prof. Dr. Usman Sumo Tambunan, Dr. Jarnuzi Gunlazuardi, Dr. Widayanti Wibowo, Prof. Dr. Wahyudi P Suwarsio, Dr. Ridla Bakri, Dr. Asep Saefummilah, Dr. Yoki Yulizar dan Dr.Yuni K Krisnandi** yang telah memberikan banyak kontribusi baik sebagai dosen maupun penguji selama proses penyusunan disertasi ini. **Kedua orang tua dan mertua, Marisa Suseno istriku dan Annisa Nuraini Suseno anaku** terimakasih atas dorongan dan pengetiannya. Pada kesempatan ini izinkan penulis menyampaikan terimakasih kepada:

1. Kantor Kementrian Riset dan Teknologi yang telah memberikan beasiswa S3 melalui Program Rintisan Gelar
2. Pimpinan Badan Tenaga Nuklir Nasional yang memberikan izin tugas belajar
3. Kepala Pusat Teknologi Limbah Radioaktif BATAN, **Drs. R. Heru Umbara** yang memberikan izin serta rekomendasinya untuk mengikuti program S3
4. Mitrakerja dan sahabat di Bidang Radioekologi Kelautan, Wahyu Retno P, S.Si, Chevy Cahyana, S.Si dan Sdr. Budi hari yang banyak membantu pelaksanaan penelitian ini.
5. Para sahabat antara lain Marlina Antariksawan, Dr. Anhar Riza

Antariksawan, Mulya Juarsa, S.Si, M.Eng.Sc, Dwi Erla, Ivo, Dr. Sahat Panggabean, M.Si, Asep Suheri, S.T, M.T, Dr. Ir. Budi Setiawan, M.Eng, Dr. Iwan Sumirat, M.Eng dan Eddy Marzuki, ST yang member motivasi.

6. Teman-teman mahasiswa S3 Kimia UI, Cholik, Ibu Uli, Edward, Sasmito, Nuki , Irma, Nirwan Syarif dan lainnya
7. Dr. Scott S Fowler, Dr. Ross Jeffry, Dr. Fanny Houlbreque, Dr. Miche Warneu dan Mr. Jean Louis Teyssie – Marine Environment Laboratoy Monaco yang memberikan berbagai wawasan dalam riset bioakumulasi.
8. Semua pihak yang telah membantu khususnya mahasiswi dari Universitas Pakuan dan Universitas Erlangga

Semoga Allah SWT berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Penulis sangat menyadari Gelar Akademik Doktor bukanlah sekedar kebanggan semu tetapi merupakan amanah dan beban yang harus ditanggung agar senantiasa berupaya memperoleh prestasi di bidang ilmiah. Semoga disertasi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu.

Depok Mei 2011

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRAK	vi
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL	xii
GLOSSARY	xiii
DAFTAR KARYA TULIS ILMIAH YANG DIBUPLIKASI	xiii
<i>ACKNOWLEDGMENT</i>	xix
1. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan masalah	4
1.3. Hipotesis	6
1.4. Tujuan penelitian	7
2. TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1. Merkuri dan senyawanya	9
2.1.1. Merkuri di dalam Kompartemen Lingkungan Hidup	9
2.1.2. Pembentukan metal merkuri	10
2.2. Spesiasi Merkuri dalam Lingkungan Perairan	12
2.3. Bioakumulasi merkuri	13
2.4. Biokinetik proses bioakumulasi	15
2.5. Respon enzimatik Pada Proses Bioakumulasi	21
2.6. Teknik Nuklir Untuk Mempelajari Mekanisme Bioakumulasi	24
3. METODOLOGI	27
3.1. Metodologi	27
3.1.1. Metodologi melalui jalur air	27
3.1.2. Metodologi melalui jalur pakan.....	28
3.1.3. Pemodelan/Prediksi nilai Faktor bioakumulasi (BAF)	28
3.2. Bahan dan alat	29
3.3. Tata kerja	29
3.3.1. Persiapan	29
3.3.2. Bioakumulasi merkuri	31
3.2.3. Respon enzim antioksidan pada proses bioakumulasi	34
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	46
4.1. Bioakumulasi Senyawa Merkuri oleh <i>O. mossambicus</i> melalui jalur air	46
4.1.1. Bioakumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} pada berbagai gradien Konsentrasi	47
4.1.1.1. Prediksi Bioakumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} Melalui Jalur Air	53
4.1.1.2. Pengaruh Konsentrasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} Terhadap Faktor konsentrasi, Laju Pengambilan, Influk dan Laju Pelepasan	58
4.1.2. Pengaruh partikulat terhadap bioakumulasi Hg^{2+} dan	

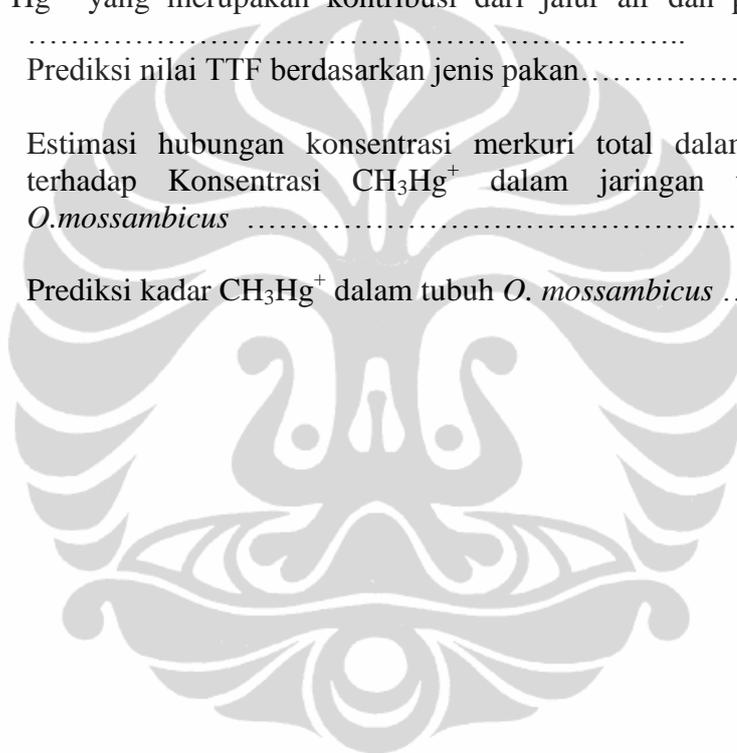
CH ₃ Hg ⁺	64
4.1.2.1. Prediksi Bioakumulasi CH ₃ Hg ⁺ dan Hg ²⁺ Melalui Partikulat	64
4.1.2.2. Pengaruh Konsentrasi Partikulat Terhadap Faktor Konsentrasi, Laju Pengambilan, Influk dan Laju Pelepasan	70
4.1.3. Pengaruh salinitas terhadap bioakumulasi Hg ²⁺ dan CH ₃ Hg ⁺	74
4.1.3.1. Prediksi Bioakumulasi CH ₃ Hg ⁺ dan Hg ²⁺ Pada Berbagai Kondisi Salinitas	74
4.1.3.2. Pengaruh Perubahan Salinitas Terhadap Faktor Konsentrasi, Laju Pengambilan, Influk dan Laju Pelepasan	79
4.1.4. Pengaruh ukuran terhadap bioakumulasi Hg ²⁺ dan CH ₃ Hg ⁺	83
4.1.4.1. Prediksi Bioakumulasi CH ₃ Hg ⁺ dan Hg ²⁺ Pada Berbagai Kondisi Salinitas	83
4.1.4.2. Pengaruh Perubahan Ukuran Ikan Terhadap Faktor Konsentrasi, Laju Pengambilan, Influk dan Laju Pelepasan	87
4.2. Bioakumulasi Hg ²⁺ dan CH ₃ Hg ⁺ melalui jalur pakan	91
4.3. Distribusi CH ₃ Hg ⁺ dan Hg ²⁺ diberbagai Organ <i>O. mossambicus</i> dan Respon Enzim Antioksidan pada Proses Bioakumulasi	94
4.3.1. Distribusi CH ₃ Hg ⁺ dan Hg ²⁺ diberbagai Organ <i>O. Mossambicus</i>	94
4.3.2. Respon Enzim Antioksidan pada Proses Bioakumulasi CH ₃ Hg ⁺ dan Hg ²⁺	95
4.4. Prediksi Metilasi Merkuri	101
4.3. Prediksi Bioakumulasi CH ₃ Hg ⁺ dan Hg ²⁺ oleh <i>O. Mossambicus</i>	103
5. SIMPULAN DAN SARAN	112
5.1. Simpulan	113
5.2. Saran	114
DAFTAR PUSTAKA	111
LAMPIRAN	125

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Mekanisme sintesis metilmerkuri oleh bakteri SBR dalam sedimen laut	11
Gambar 2.2.	Diagram hidroksida dan kompleks klorohidroksida sebagai fungsi pH dan konsentrasi klorida	12
Gambar 2.3.	Konsep model interaksi logam dengan organisme	14
Gambar 2.4.	Model kompartemen tunggal	16
Gambar 2.5.	Skenario pengambilan pencemar pada proses bioakumulasi .	17
Gambar 2.6.	Metabolisme senyawaan polutan	23
Gambar 3.1.	Diagram alir penelitian	36
Gambar 3.2.	Diagram alir eksperimen bioakumulasi secara keseluruhan...	37
Gambar 3.3.	Diagram alir eksperimen pengaruh konsentrasi CH_3Hg^+ proses bioakumulasi.....	38
Gambar 3.4.	Diagram alir eksperimen pengaruh ukuran dan salinitas pada proses bioakumulasi CH_3Hg^+	34
Gambar 3.5.	Diagram alir eksperimen pengaruh partikulat pada proses bioakumulasi CH_3Hg^+	39
Gambar 3.6	Diagram alir eksperimen proses bioakumulasi CH_3Hg^+ melalui jalur i pakan alami.....	40
Gambar 3.7.	Diagram alir eksperimen pengaruh konsentrasi Hg^+ pada proses bioakumulasi	41
Gambar 3.8.	Diagram alir eksperimen pengaruh ukuran dan salinitas pada proses bioakumulasi Hg^+	42
Gambar 3.9.	Diagram alir eksperimen pengaruh partikulat pada proses bioakumulasi Hg^+	43
Gambar 3.10.	Diagram alir eksperimen proses bioakumulasi Hg^+ melalui jalur pakan alami.....	44
Gambar 4.1.	Pengambilan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} oleh <i>O. mossambicus</i> dari medium air	48
Gambar 4.2	Pengambilan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} oleh <i>O. mossambicus</i> dari medium air pada berbagai kadar.....	54
Gambar 4.3.	Pelepasan Hg dari tubuh <i>O. Mossambicus</i> setelah terpapar CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} selama 30 hari	57
Gambar 4.4.	Pengaruh konsentrasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} di dalam medium air terhadap kemampuan bioakumulasinya oleh <i>O. mosaambicus</i>	59
Gambar 4.5.	Pengaruh konsentrasi CH_3Hg^+ terhadap laju Pengambilan ...	61
Gambar 4.6.	Pengaruh konsentrasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} terhadap influks dalam tubuh <i>O. mossambicus</i>	62
Gambar 4.7.	Pengaruh konsentrasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} terhadap k_e	63
Gambar 4.8.	Pengambilan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} oleh <i>O. mossambicus</i> dari medium partikulat pada kisaran konsentrasi 20 -80 ppm	65
Gambar 4,9	Pengambilan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} oleh <i>O. mossambicus</i> dari medium air pada berbagai konsentrasi partikulat.	68

Gambar 4.10.	Pelepasan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} dari tubuh <i>O. mossambicus</i> setelah terpapar melalui jalur partikulat	69
Gambar 4.11.	Pengaruh konsentrasi partikulat yang mengandung CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} terhadap kemampuan akumulasi	70
Gambar 4.12.	Pengaruh konsentrasi partikulat dalam air terhadap Laju Pengambilan	71
Gambar 4.13.	Perbandingan influk CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} yang berasal dari medium air dan partikulat ke dalam tubuh <i>O. Mossambicus</i>	72
Gambar 4.14	Laju pelepasan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} setelah terpapar kedua kontaminan tersebut dalam medium partikulat.....	74
Gambar 4.1.5	Pengambilan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} melalui jalur air oleh <i>O. mossambicus</i> pada salinitas medium air 22 - 30 ‰.....	75
Gambar 4.16.	Pengambilan Hg^{2+} maupun CH_3Hg^+ oleh <i>O. mossambicus</i> dari medium air salinitas 22 – 30 ‰.....	77
Gambar 4.17.	Pelepasan Hg dari tubuh <i>O. Mossambicus</i> setelah terpapar Hg^{2+} dan CH_3Hg^+ dalam berbagai medium salinitas selama 30 hari.....	78
Gambar 4.18.	Pengaruh salinitas terhadap kemampuan akumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} oleh <i>O. Mosaambicus</i>	79
Gambar 4.19.	Pengaruh salinitas medium air terhadap laju pengambilan (k_u)	80
Gambar 4.20.	Pengaruh salinitas medium air terhadap influks CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} ke dalam tubuh <i>O. Mossambicus</i>	81
Gambar 4.21.	Pengaruh salinitas medium air terhadap laju pelepasan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+}	83
Gambar 4.22.	Pengambilan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} oleh <i>O. mossambicus</i> berukuran 4,2 - 15,6 cm dari medium air	84
Gambar 4.23.	Pelepasan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} oleh <i>O. mossambicus</i> berukuran 4,2- 15,6 cm	85
Gambar 4.24.	Pengambilan Hg^{2+} maupun CH_3Hg^+ dari medium air oleh <i>O. mossambicus</i> pada ikan berukuran 4,2 cm – 15,3 cm.....	86
Gambar 4.25.	Pengaruh kenaikan ukuram tubuh <i>O. mossambicus</i> terhadap CF.....	88
Gambar 4.26.	Pengaruh ukuran <i>O.mossambicus</i> terhadap laju pengambilan Hg^{2+} dan CH_3Hg^+	89
Gambar 4.27.	Pengaruh ukuran <i>O.mossambicus</i> terhadap influks CH_3Hg^+ dan Hg^{2+}	90
Gambar 4.28.	Pengaruh ukuran <i>O. mossambicus</i> terhadap laju pelepasan ..	92
Gambar 4.29.	Fraksi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} yang tertahan dalam tubuh <i>O. mossambicus</i> setelah diberi pakan <i>artemia</i> dan makroalga.....	94

Gambar 4.30.	Distribusi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} pada beberapa organ tubuh setelah terpapar dari jalur air dan pakan	94
Gambar 4.31.	Pengaruh konsentrasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} terhadap aktifitas enzim antioksidan berbagai organ <i>O. Mossambicus</i>	98
Gambar 4.32.	Rasio aktivitas enzim SOD terhadap CAT dalam berbagai organ <i>O. mossambicus</i> . (a) setelah terpapar Hg^{2+} dari medium air	100
Gambar 4.33.	Prediksi persentase kontribusi Hg^{2+} terhadap bioakumulasi merkuri secara keseluruhan oleh <i>O. mossambicus</i>	102
Gambar 4.34.	Nilai CH_3Hg^+ yang merupakan kontribusi dari jalur air dan ikan	104
Gambar 4.35.	Hg^{2+} yang merupakan kontribusi dari jalur air dan pakan	106
Gambar 4.36.	Prediksi nilai TTF berdasarkan jenis pakan.....	107
Gambar 4.37.	Estimasi hubungan konsentrasi merkuri total dalam air terhadap Konsentrasi CH_3Hg^+ dalam jaringan tubuh <i>O.mossambicus</i>	109
Gambar 4.38.	Prediksi kadar CH_3Hg^+ dalam tubuh <i>O. mossambicus</i>	110



DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Nilai estimasi CF CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} hasil eksperimen bioakumulasi melalui jalur air pada berbagai biota.....	55
Tabel 4.2	Nilai estimasi k_e CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} hasil eksperimen bioakumulasi melalui jalur air.....	58
Tabel 4.3	Perbandingan nilai AE pada beberapa jenis ikan.....	92
Tabel 4.4	Rekapitulasi data-data yang digunakan untuk menghitung BAF.....	103
Tabel 4.5	Batasan konsumsi ikan berdasarkan kadar CH_3Hg^+ dalam tubuh ikan	110



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Sebagai salah satu zat pencemar, merkuri bersifat neutrotoksin dan masuk ke ekosistem akuatik melalui deposisi atmosferik maupun bersumber dari eksternalisasi limbah industri (WHO, 2008 dan Gochfeld, 2003). Pada lingkungan akuatik, merkuri berbentuk anorganik (Hg^0 , Hg^+ dan Hg^{2+}) maupun organik (CH_3Hg^+ , $(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$ dan $\text{C}_6\text{H}_5\text{Hg}$). Bentuk dominan merkuri anorganik dalam lingkungan akuatik adalah Hg^{2+} dalam bentuk senyawaan kompleks maupun senyawaan ionik. Merkuri anorganik dapat dimetilasi oleh bakteri membentuk senyawaan organomercuri yang mempunyai toksisitas lebih tinggi dibandingkan dengan merkuri anorganik (Paasivirta, 2000 dan Morel *et al.* 1998). Organomercuri selain CH_3Hg^+ cepat terdekomposisi kembali menjadi merkuri anorganik (Booth *et al.* 2005). Senyawaan merkuri mempunyai afinitas terhadap lipid sehingga lebih mudah terakumulasi di dalam tubuh organisme dibandingkan senyawaan logam berat lainnya (Ravichandran, 2004).

Organisme akuatik mengakumulasi senyawaan merkuri dalam bentuk CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} pada seluruh tingkatan jejaring makanan (Selid, 2009). Ikan merupakan salah satu predator puncak ekosistem akuatik, mengakumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} dari berbagai jalur paparan yaitu: air, pakan dan partikulat (Kojadinovic *et al.* 2006; Chasar *et al.* 2009). Hasil akumulasi tersebut meningkatkan kandungan merkuri di dalam jaringan tubuh ikan. Berbagai hasil penelitian menunjukkan senyawaan merkuri yang terkandung dalam daging ikan sebanyak 80 – 95% berbentuk CH_3Hg^+ (Schwindt *et al.* 2008). Hal ini sangat berbahaya karena ikan banyak dikonsumsi oleh masyarakat sehingga menjadi sumber utama asupan CH_3Hg^+ pada manusia.

Studi bioakumulasi merkuri telah banyak dilakukan di seluruh dunia semenjak merebaknya kasus Minamata tetapi hanya berdasarkan pada pemantauan lingkungan yang bersifat temporal (Baker *et al.* 2009; Choya *et al.* 2009 ; Casas *et al.* 2006; Passos *et al.* 2007; Kasper *et al.* 2009; Limbong *et*

*al.*2004). Sebagian besar studi tersebut dilakukan dengan mengumpulkan berbagai komponen abiotik (air dan sedimen) serta komponen biotik (fitoplankton, zooplankton, invertebrata, berbagai jenis ikan dan sebagainya) selanjutnya dianalisis kandungan merkurnya. Nilai Faktor bioakumulasi ditetapkan sebagai rasio konsentrasi merkuri dalam komponen biotik terhadap konsentrasinya dalam komponen abiotik. Metode penentuan Faktor Bioakumulasi tersebut hanya memperhitungkan sumber utama paparan merkuri berasal dari jalur air. Sumber paparan lainnya seperti melalui jalur pakan dan partikulat tidak diperhitungkan. Penggunaan metode ini akan diperoleh nilai faktor bioakumulasi yang sangat bervariasi walaupun pengamatan diamati pada organisme, lokasi dan kontaminan yang sama (Luoma *et al.*2005). Hal ini dapat menimbulkan kesalahan jika digunakan dalam kajian toksikologi dan resiko lingkungan sebagai penentuan dosis racun potensial (Reinfelder *et al.*1997, Tsui *et al.*2003, Fisher , 2003 dan Veltman *et al.*2008).

Untuk melengkapi kekurangan metode bioakumulasi tersebut, saat ini studi bioakumulasi dilakukan di laboratorium menggunakan sistem akuaria yang memodelkan kondisi ekosistem akuatik. Perunut radioaktif digunakan sebagai penandaan (*labeling*) simulasi polutan sehingga memudahkan dalam hal pendeteksian dan eksperimen dapat dilakukan secara kontinyu (Fowler *et al.* 2004). Studi bioakumulasi ini menggunakan pendekatan model biokinetik kompartemen tunggal dan multi kompartemen dimana faktor bioakumulasi ditentukan dari seluruh jalur paparan kontaminan berkontribusi terhadap nilai faktor bioakumulasi. Bioakumulasi senyawa merkuri merupakan gabungan akumulasi yang berasal dari jalur air, partikulat dan pakan. Dalam kerangka model biokinetik, berbagai parameter utama dikuantifikasi. Parameter-parameter tersebut adalah laju pengambilan dan pelepasan dari fase air, efisiensi asimilasi kontaminan yang berasal dari fase makanan dan waktu tinggal biologis kontaminan.

Berbagai studi bioakumulasi merkuri berdasarkan pendekatan biokinetik kompartemen tunggal secara luas telah dilakukan di seluruh dunia menggunakan berbagai macam jenis organisme akuatik yang berbeda seperti kekerangan, ikan, udang, bintang laut dan lain-lainnya (Lacoue-Labarthe *et al.*2009; Hédouin *et al.*

2009; Cardoso *et al.* 2009; Metian *et al.* 2008; VanWalleghem *et al.* 2007; Pickhardt *et al.* 2007). Kemampuan mengakumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} oleh organisme jenis moluska secara komprehensif dipelajari dari sotong (*S. officinalis*), beberapa jenis kerang (*P. viridis*, *G. tumidum*, *P. maximus*, *S. plana*, *S. cucullata*) dan *T. lautera* sejenis siput (Lacoue-Labarthe *et al.* 2009; Hédouin *et al.* 2009; Metian *et al.* 2008, Pan *et al.* 2004). Studi bioakumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} juga dilakukan pada organisme krustase yaitu udang coklat (*P. aztecus*) dan *D. magna* (Tsui *et al.* 2004 dan Carvalho *et al.* 1998). Hasil penelitian ini menunjukkan tingkat akumulasi kedua kontaminan tersebut dipengaruhi oleh kondisi lingkungan, jalur paparan dan fisiologis.

Studi bioakumulasi pada ikan sebagian besar menggunakan pendekatan biokinetik kompartemen tunggal dan sangat sedikit menggunakan multi kompartemen. Pendekatan biokinetik multi kompartemen telah digunakan untuk mempelajari kemampuan sejenis ikan lele (*I. punctatus*) mengakumulasi merkuri dan metil merkuri (McCloskey *et al.* 1998 dan Schultz *et al.* 1996). Pada studi tersebut digunakan teknik injeksi intravaskular larutan merkuri/metil merkuri kedalam tubuh *I. punctatus* untuk memperoleh perilaku akumulasi kontaminan tersebut dalam kompartemen darah. Disisi lain, studi bioakumulasi merkuri/metil merkuri berdasarkan pendekatan biokinetika kompartemen tunggal telah dilakukan pada berbagai jenis ikan antara lain: *P. gibbosus*, *P. flavescens*, *L. microlophus* dan *G. affinis* (VanWalleghem *et al.* 2007; Pickhardt *et al.* 2007 dan Wang *et al.* 2003). Hasil penelitian menunjukkan perilaku bioakumulasi merkuri yang meliputi faktor konsentrasi, kecepatan pengambilan, kecepatan pelepasan dan waktu tinggal biologis pada berbagai jenis ikan tersebut sangat bervariasi.

Pada penelitian ini dilakukan studi bioakumulasi merkuri dan metil merkuri oleh ikan mujair (*Oreochromis mossambicus*). Pemilihan *O. mossambicus* sebagai objek studi karena ikan ini banyak dibudidayakan di Indonesia dan sebagai salah satu sumber protein bagi masyarakat (Mc.Nevin., 2007). Sebagai salah satu predator puncak dalam jejaring makanan akuatik, *O. mossambicus* berpotensi mengakumulasi merkuri/metil merkuri dan memberikan kontribusi terhadap paparan kedua kontaminan tersebut pada manusia. Ikan ini mempunyai toleransi yang besar terhadap kadar garam/salinitas dan mudah

ditemui di tambak-tambak pada berbagai daerah pesisir. Disisi lain kemampuan akumulasi merkuri/metil merkuri dalam berbagai kondisi lingkungan belum banyak diketahui (Leji *et al.* 2007; Steffens *et al.* 1999) .

1.2. Perumusan Masalah

Menurut sudut pandang ekotoksikologi, terdapat dua bentuk utama senyawaan merkuri di lingkungan hidup yaitu CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} . Kedua bentuk tersebut terakumulasi dalam berbagai spesies organisme akuatik dan masuk ke dalam jejaring makanan. Ikan merupakan predator teratas dalam ekosistem akuatik dan mempunyai posisi ditengah pada jejaring makanan. Sebagai sumber protein ikan banyak dikonsumsi oleh manusia sehingga menjadi sumber utama paparan merkuri pada manusia (Schwindt *et al.* 2008). Ikan mujair (*O. mossambicus*) yang dibudidayakan di perairan payau banyak dikonsumsi oleh masyarakat karena harganya cukup terjangkau. Lingkungan pesisir tempat budidaya ikan tersebut (misalnya sepanjang pantai utara laut Jawa) kebanyakan tercemar berbagai polutan termasuk merkuri. Disisi lain perilaku bioakumulasi senyawaan merkuri dalam tubuh ikan mujair belum banyak diketahui.

Proses bioakumulasi logam berat (termasuk senyawaan merkuri) secara kimiawi merupakan reaksi pembentukan senyawaan kompleks antara ion logam berat dengan ligan biologis di dalam sel organisme. Secara tradisional suatu zat dinyatakan mengalami bioakumulasi jika nilai koefisien partisi antara oktanol dan air (K_{ow}) lebih besar dari tiga (US EPA, 2002). Pendekatan tersebut biasanya digunakan untuk senyawaan organohalogen. Selanjutnya kemampuan organisme mengakumulasi kontaminan direpresentasikan sebagai rasio konsentrasi kontaminan tersebut dalam tubuh organisme terhadap konsentrasinya di dalam air.

Saat ini studi bioakumulasi sebagian besar menggunakan pendekatan biokinetik model kompartemen tunggal. Asumsi yang digunakan pada model ini adalah bahwa bioakumulasi merupakan hasil dari kesetimbangan tiga mekanisme yaitu: kecepatan pengambilan kontaminan dari makanan, kecepatan pengambilan kontaminan dari fase terlarut dan kecepatan pelepasan kontaminan. Menggunakan asumsi tersebut, tiga mekanisme dapat dikuantisasi melalui eksperimen yang realistis dan terkontrol pada berbagai kisaran konsentrasi dan berbagai kondisi eksternal lainnya. Upaya untuk mencapai hal tersebut eksperimen dilakukan

menggunakan simulasi ekosistem perairan dalam sistem akuaria. Perunut radioaktif digunakan sebagai simulasi polutan baik dalam bentuk senyawa anorganik maupun organik. Penggunaan perunut radioaktif merupakan jalan pintas dan solusi dalam mengatasi pengendalian eksperimen, peningkatan akurasi pendeteksian dan eksperimen dapat dilakukan secara kontinyu. Melalui eksperimen tersebut dihasilkan berbagai model terkait dengan hubungan kondisi eksternal dan bioakumulasi. Model tersebut selanjutnya digunakan untuk memprediksi bioakumulasi yang berkaitan dengan kondisi aktual lingkungan (Luoma *et al.* 2005).

Secara umum pada jaringan otot ikan, akumulasi merkuri dominan dalam bentuk CH_3Hg^+ . Persentase kandungan CH_3Hg^+ merkuri dalam otot ikan berkisar antara 80% - 92% terhadap merkuri total (Houserova *et al.* 2006). Pada perairan oksik, proporsi metil merkuri terhadap total merkuri umumnya sangat rendah sehingga kontribusi metil merkuri dibandingkan total merkuri dalam proses bioakumulasi bersifat sangat spekulatif (Wang *et al.* 2003). Terdapat beberapa bukti yang dapat dipertimbangkan bahwa metilasi dan demetilasi merkuri dapat terjadi dalam jaringan otot ikan, walaupun berbagai penelitian juga membuktikan bahwa metilasi tidak terjadi dalam tubuh ikan (Wang *et al.* 2003). Sebuah penelitian membuktikan metilasi merkuri terjadi di dalam usus 6 jenis ikan (Rudd, 1980). Jika benar terjadi metilasi merkuri maka kandungan metil merkuri dalam tubuh ikan cenderung dominan walaupun rasio konsentrasinya terhadap metil merkuri di dalam air sangat kecil.

Untuk mempelajari perilaku bioakumulasi merkuri dalam tubuh ikan mujair, langkah pertama adalah melakukan kuantisasi pengaruh eksternal dan internal terhadap proses bioakumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} menggunakan model biokinetik multi jalur. Teknik percobaan yang dilakukan menggunakan perunut radioaktif. Langkah kedua adalah menghitung rasio kontribusi bioakumulasi merkuri dan metil merkuri. Perhitungan rasio tersebut digunakan untuk membuktikan terjadi atau tidaknya metilasi merkuri dalam tubuh *O. mossambicus*. Kebaharuan dalam penelitian ini adalah :

- (a) Dipelajari pengaruh kondisi lingkungan akuatik (salinitas, konsentrasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} , partikulat) dan ukuran ikan terhadap Bioakumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} .
- (b) Spesies yang digunakan merupakan hewan spesifik dan endemik di Pulau Jawa dan dibudidayakan di perairan payau yang mempunyai kemampuan adaptasi yang tinggi terhadap perubahan lingkungan.
- (c) Belum terdapat data mengenai kemampuan bioakumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} .
- (d) Analisis $^{203}\text{Hg}^{2+}$ dan $\text{CH}_3^{203}\text{Hg}^+$ dalam tubuh ikan dilakukan tanpa anestesi sehingga proses bioakumulasi yang diamati sesuai dengan kondisi di lingkungan.
- (e) Eksperimen dilakukan dalam waktu panjang (30 hari) dan parameter dihitung pada kondisi *steady state*.

1.3. Hipotesis

Kontribusi paparan senyawaan merkuri melalui jalur pakan merupakan jalur utama pada proses bioakumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} . Bioakumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} oleh *O. mossambicus* melalui jalur air dipengaruhi oleh berbagai kondisi internal (ukuran tubuh ikan) dan eksternal antara lain: kandungan Hg^{2+} dan CH_3Hg^+ , kandungan partikulat dalam air dan salinitas perairan. Metilasi merkuri tidak terjadi dalam tubuh ikan karena secara teoritis proses metilasi merkuri tersebut terjadi di dalam sedimen dasar perairan yang membutuhkan waktu lama. Pada otot ikan, bentuk senyawaan merkuri berkisar 80 - 92% CH_3Hg^+ diduga bukan disebabkan oleh metilasi merkuri secara internal. Hal ini dapat disebabkan oleh:

- faktor konsentrasi (CF) CH_3Hg^+ dari medium air oleh *O. mossambicus* jauh lebih besar dibandingkan Hg^{2+} ,
- konstanta laju pengambilan (k_u) CH_3Hg^+ dari medium air ke dalam tubuh ikan jauh lebih besar dibandingkan Hg^{2+} ,
- konstanta laju pelepasan (k_e) CH_3Hg^+ dari dalam tubuh ikan ke medium air jauh lebih lambat dibandingkan Hg^{2+} , kemampuan bioakumulasi CH_3Hg^+ dalam tubuh melalui jalur pakan lebih besar dibandingkan Hg^{2+} ,

- kontribusi bioakumulasi senyawaan merkuri melalui jalur pakan lebih dominan dibandingkan dari jalur air.

Berdasarkan hal tersebut diduga metilasi merkuri tidak terjadi didalam tubuh *O. mossambicus*.

1.4. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari perilaku CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} selama proses bioakumulasi yang meliputi: akumulasi (pengambilan), distribusi dan eliminasi (pelepasan) dalam tubuh *O. mossambicus* serta pembuktian tidak terjadinya metilasi merkuri dalam tubuh ikan tersebut. Hasil penelitian diharapkan dapat digunakan untuk mendukung berbagai studi lingkungan hidup dan untuk keperluan keamanan pangan (*food security*). Ekperimen dilakukan pada berbagai kondisi lingkungan akuatik yang mempengaruhi kemampuan bioakumulasi merkuri dan metil merkuri oleh *O. mossambicus* seperti: perubahan salinitas, konsentrasi paparan, lama paparan, konsentrasi partikulat/koloid, ukuran ikan dan jalur bioakumulasi melalui 2 jenis jalur pakan. Ikan yang digunakan (*O. mossambicus*) merupakan organisme endemik di pulau Jawa dan merupakan salah satu sumber protein hewani masyarakat. Ikan ini sangat toleran terhadap berbagai perubahan lingkungan akuatik sehingga kemampuan mengakumulasi kedua kontaminan tersebut perlu diketahui untuk keamanan pangan. Pada penelitian ini dilakukan eksperimen dalam waktu 30 hari sehingga penetapan BAF lebih akurat. Pembuktian kontribusi metilasi merkuri dalam tubuh *O. mossambicus* dilakukan pada diberbagai kondisi lingkungan eksperimen.

Terdapat dua pendekatan dasar pada studi bioakumulasi, yaitu berdasarkan pengukuran langsung dan model. Studi berdasarkan pengukuran langsung dilakukan untuk keperluan pemantauan lingkungan. Nilai faktor bioakumulasi (BAF) ditetapkan sebagai rasio konsentrasi senyawaan merkuri di dalam organisme akuatik terhadap konsentrasinya di dalam air (De Fores *et al*, 2007). Studi berdasarkan model bioakumulasi, nilai BAF ditetapkan berdasarkan kontribusi dari bioakumulasi melalui jalur air, pakan dan partikulat. Eksperimen dilakukan dalam ekosistem buatan yang disimulasikan menyerupai kondisi lingkungan spesifik. Hampir seluruh studi model bioakumulasi menggunakan perunut radioaktif karena eksperimen dapat dilakukan pada kondisi yang

realistik, mudah dalam pendeteksian dan analisis bersifat nondestruktif. Studi bioakumulasi senyawaan merkuri telah dilakukan menggunakan berbagai macam organisme akuatik (Wang *et al.* 2010; Lacoue-Labarthe *et al.* 2009; Cardoso *et al.* 2009; Pickhard *et al.* 2006; Blackmore *et al.* 2004; Pan *et al.* 2004; Tsui *et al.* 2004 ; Wang *et al.* 2003; McCloskey *et al.* 1999; Carvalho *et al.* 1999 Schultz *et al.* 1996). Sebagian besar eksperimen, paparan senyawaan merkuri dari dalam air dilakukan hanya beberapa puluh jam dan tidak mencapai kondisi tunak.



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Merkuri dan Senyawannya

2.1.1. Merkuri di Dalam Kompartemen Lingkungan Hidup

Merkuri terdapat dalam tiga bentuk oksidasi, yaitu: dalam bentuk logam (Hg°), dalam bentuk senyawaan merkuro (Hg^+) dan dalam bentuk senyawaan merkuri (Hg^{2+}) (Morel *et al.*1998). Merkuri adalah unsur pertama yang banyak dilakukan studi spesiasinya dalam lingkungan hidup. Hal ini terkait dengan kasus Teluk Minamata di Jepang dimana akibat unsur ini terjadi gangguan kesehatan berupa keracunan akut sampai dengan kerusakan genetik yang diakibatkan oleh konsumsi ikan yang mengandung CH_3Hg^+ . Bentuk merkuri di lingkungan hidup dibedakan menjadi yang bersifat volatil (Hg° , $(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$), yang mudah larut dalam air (Hg^{2+} , HgCl_2 , $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$; CH_3HgCl) dan yang sulit larut dalam air berbentuk kompleks organik (CH_3HgS^-) (Boszke *et al.*2003).

Senyawaan merkuri terdistribusi dalam berbagai bentuk yang dipengaruhi oleh kondisi reduksi oksidasi. Pada kondisi oksidasi, bentuk dominan merkuri adalah Hg^{2+} sedangkan pada kondisi reduksi didominasi oleh senyawaan sulfur merkuri HgS , HgS_2^{2-} , CH_3HgS^- . Spesi merkuri dalam lingkungan hidup dapat dibedakan berdasarkan sifat reaktifnya. Spesi yang paling reaktif adalah Hg^{2+} , HgX^+ , HgX_2 , HgX_3^- dan HgX_2^- (dimana $\text{X} = \text{OH}^-$, Cl^- , atau Br^-). Spesi non reaktif adalah CH_3Hg^+ , CH_3HgCl , CH_3HgOH dan bentuk merkuri organik lainnya serta $\text{Hg}(\text{CN})_2$, HgS and Hg^{2+} yang berikatan dengan sulfur dalam senyawaan humat (Ravichandran, 2003, Morel *et al.*1998). Walaupun spesi metil merkuri tidak reaktif tetapi mempunyai kemampuan terbioakumulasi dan akhirnya mengalami biomagnifikasi dalam lingkungan hidup. Disisi lain spesi non reaktif lainnya dikonversi menjadi spesi reaktif melalui transformasi biokimia.

Konsentrasi CH_3Hg^+ dalam sedimen dasar perairan adalah berkisar antara 1,0 sampai dengan 1,5% dari total merkuri (Boszke *et al.*2003). Pada perairan payau dan laut, konsentrasi CH_3Hg^+ di dalam air hanya 0,5% terhadap total merkuri (Morel *et al.*1998). Merkuri mempunyai afinitas yang kuat terhadap sulfur, pada kondisi anoksik spesies dominan adalah kompleks mono dan

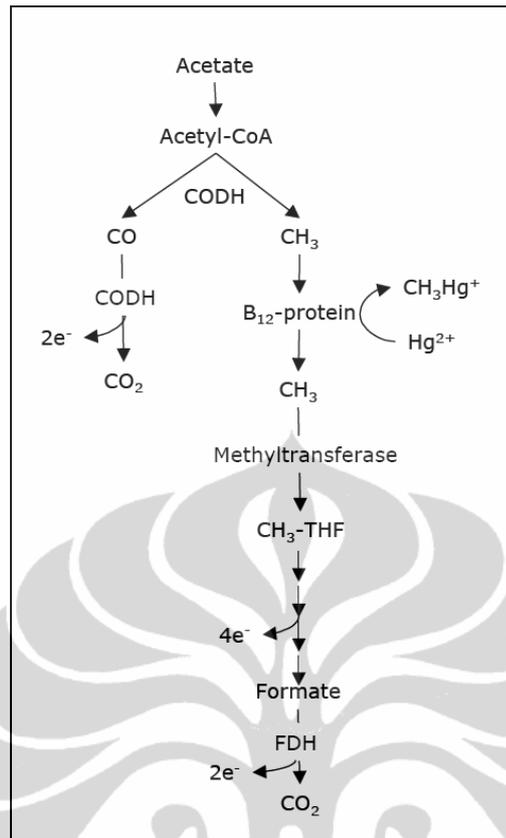
bisulfida seperti HgS , HgS_2H_2 , HgS_2H^- dan HgS_2^{2-} . Jika terdapat senyawaan organik maka terbentuk spesies kompleks sulfida $\text{CH}_3\text{HgS}^{2-}$. Metil merkuri berikatan dengan material organik pada keadaan anoksik dan kandungan sulfur rendah (Boszke *et al.* 2003, Morel *et al.*, 1998). Dalam fase terlarut, merkuro dapat diadsorpsi oleh berbagai fase padatan pada sedimen dasar terutama pirit. Adsorpsi dan korpresipitasi merkuri oleh pirit pada kondisi anoksik menyebabkan kuantitas merkuri dalam air menjadi berkurang. Walaupun demikian interaksi tersebut dapat terlepas melalui proses oksidasi sedimen secara gradual.

Walaupun seluruh bentuk senyawaan merkuri bersifat toksik namun perhatian kesehatan masyarakat difokuskan pada metilmerkuri. Jalur utama paparan metilmerkuri pada manusia adalah melalui konsumsi ikan (Barkey *et al.* 2005). Sebagian besar merkuri yang terkandung di dalam tubuh ikan berbentuk CH_3Hg^+ . Hal ini disebabkan oleh proses bioakumulasi dari jalur air dan partikulat serta biomagnifikasi metilmerkuri pada rantai makanan akuatik.

2.1.2. Pembentukan Metil Merkuri

Metilasi merkuri terjadi pada kolom air maupun sedimen dalam kondisi anoksik. Metilasi merkuri melibatkan reaksi antara Hg^{2+} dan metilkobalamin (dihasilkan oleh bakteri) menghasilkan merkuri organik. Bakteri dalam usus berbagai jenis binatang termasuk ikan juga mampu mengkonversi merkuri ionik menjadi senyawaan metil merkuri (CH_3Hg^+) walaupun dalam tingkatan yang rendah. Pada organisme akuatik, merkuri umumnya terdapat dalam bentuk mono metilmerkuri atau dalam bentuk ion Hg^{2+} (Booth *et al.* 2005). Bakteri pereduksi sulfat (*Sulfate Reducing Bacteria*, SRB) dari famili *Desulfobacteriaceae* berperan dalam pembentukan metil merkuri dalam sedimen di lingkungan akuatik. Metilasi merkuri berkorelasi dengan kecepatan reduksi sulfat. Salinitas tinggi dan keberadaan ion sulfit menghambat metilasi merkuri (Kongchum *et al.* 2006). Produksi metilmerkuri di dalam sedimen berlangsung pada pH lebih kecil dari 6 (Stokes, 1987). Bakteri SRB juga mempunyai kemampuan menghasilkan dimetilmerkuri tetapi proses pembentukannya 1000 kali lebih lambat dibandingkan pembentukan metilmerkuri (Ekstrom *et al.* 2003).

Sintesis metilmerkuri oleh bakteri SRB ditunjukkan pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1. Mekanisme sintesis metilmerkuri oleh bakteri SBR dalam sedimen laut (Ekstrom *et al.* 2003)

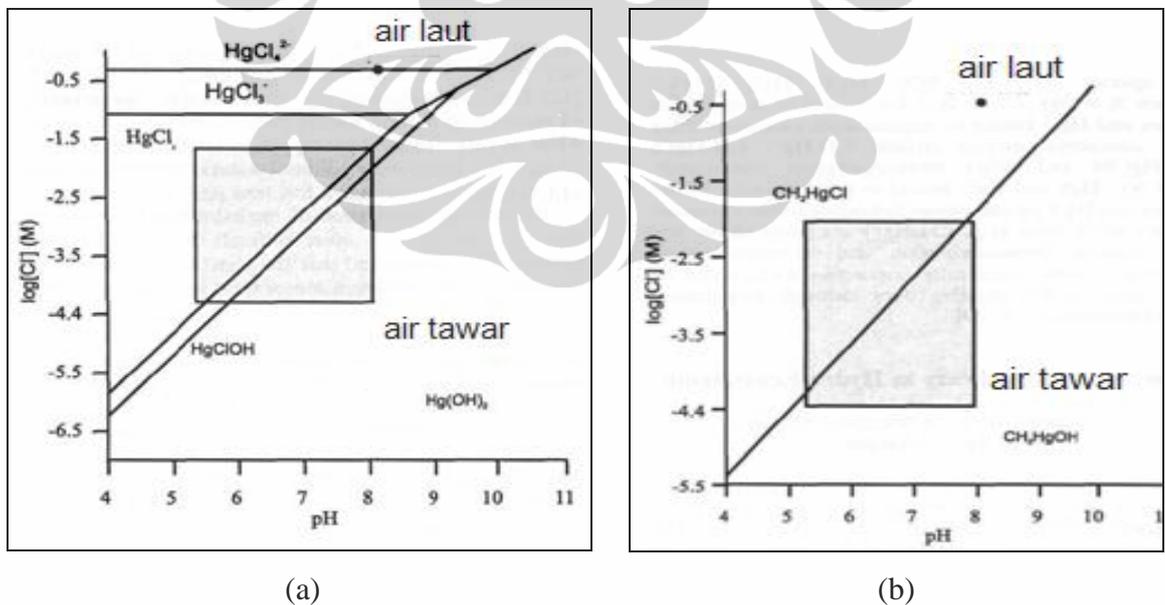
Gambar 2.1 menunjukkan mekanisme metilasi Hg^{2+} oleh bakteri SBR pada metabolisme karbon melalui jalur asetil co-A. Pada metabolisme karbon, asetat dikonversi menjadi karbon monoksida (CO) dan metil (CH_3) oleh enzim karbonmonoksidadehidrogenase (CODH). Gugus metil yang dihasilkan pada konversi ini berasal dari atom C ke 3 asam amino serin membentuk metilen tetrahidrofolat oleh enzim serin hidroksimetiltransferase. Metilen tetrahidrofolat selanjutnya direduksi menjadi CH_3 -tetrahidrofolat (CH_3 -THF) oleh enzim metiltransferase. Gugus metil selanjutnya dipindahkan ke Hg^{2+} melalui kompleks kobalamin (vitamin B12) dan korrinoid yang mengandung protein. Kelebihan gugus metil (dalam bentuk CH_3 -THF) selanjutnya diubah menjadi asam format dan selanjutnya dikonversi menjadi CO_2 oleh enzim formatdehidrogenase.

2.2. Spesiasi Merkuri dalam Lingkungan Perairan

Dalam lingkungan perairan, terutama air laut, merkuri terdapat dalam konsentrasi yang rendah. Secara umum konsentrasi merkuri dalam air laut berkisar antara 0,6 - 3,0 ng/liter (Morel *et al.* 1998). Disisi lain pada air yang

terpolusi, konsentrasi total merkuri mencapai beberapa puluh $\mu\text{g/liter}$. Konsentrasi metilmerkuri dalam air laut yang tidak mengalami polusi adalah 3 - 6% dari konsentrasi total merkuri. Sedangkan pada air tawar berkisar antara 26 - 53% dari konsentrasi total merkuri. Pada air permukaan merkuri tidak terdapat dalam bentuk ion bebas Hg^{2+} melainkan campuran senyawaan hidroksi dan kompleks kloro merkuri dan proporsi tergantung dari pH dan ion klorida. Hubungan antara pH dan ion klorida terhadap bentuk senyawaan merkuri ditunjukkan pada Gambar 2.2

Pada lingkungan perairan, spesi merkuri tergantung dari kondisi reduksi-oksidasi dan kandungan bahan organik terlarut (DOC). Pada pH rendah senyawaan merkuri dominan dalam bentuk HgCl_2 dan CH_3Hg^+ , sedangkan pada pH alkalis merkuri dominan dalam bentuk Hg° dan $(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$ (Morel *et al.* 1998, Boszke *et al.* 2003). Pada air yang bersifat oksidatif senyawaan merkuri dominan dalam bentuk HgCl_4^{2-} dan HgOH^+ , sedangkan dalam kondisi reduktif senyawaan merkuri dominan dalam bentuk CH_3HgS^- dan HgS_2^- . Disisi lain dalam kondisi yang bervariasi senyawaan merkuri dominan terdapat dalam bentuk CH_3HgCl dan $\text{CH}_3\text{Hg}^{2+}$.



Gambar 2.2. Diagram hidrokso dan kompleks klorohidrokso sebagai fungsi pH dan konsentrasi klorida (a) Hg^{2+} (b) CH_3Hg^+ (Boszke *et al.* 2003).

Konsentrasi merkuri dalam sedimen dasar merupakan indikator polusi merkuri pada perairan. Pada sedimen dasar merkuri terakumulasi sebagai hasil dari proses sedimentasi dan disisi lain merkuri dapat dilepas dari sedimen dasar dan menjadi tersedia untuk transformasi biogeokimia lanjut (Morel *et al.*1998, Boszke *et al.*1992). Proses sedimentasi dan pelepasan merkuri pada sedimen dasar ditentukan oleh kondisi spesifik perairan dan sebagai hasilnya adalah senyawaan merkuri dalam bentuk kompleks, transformasi fisik dan biologi ke dalam spesi yang lebih toksik.

2.3. Bioakumulasi Merkuri

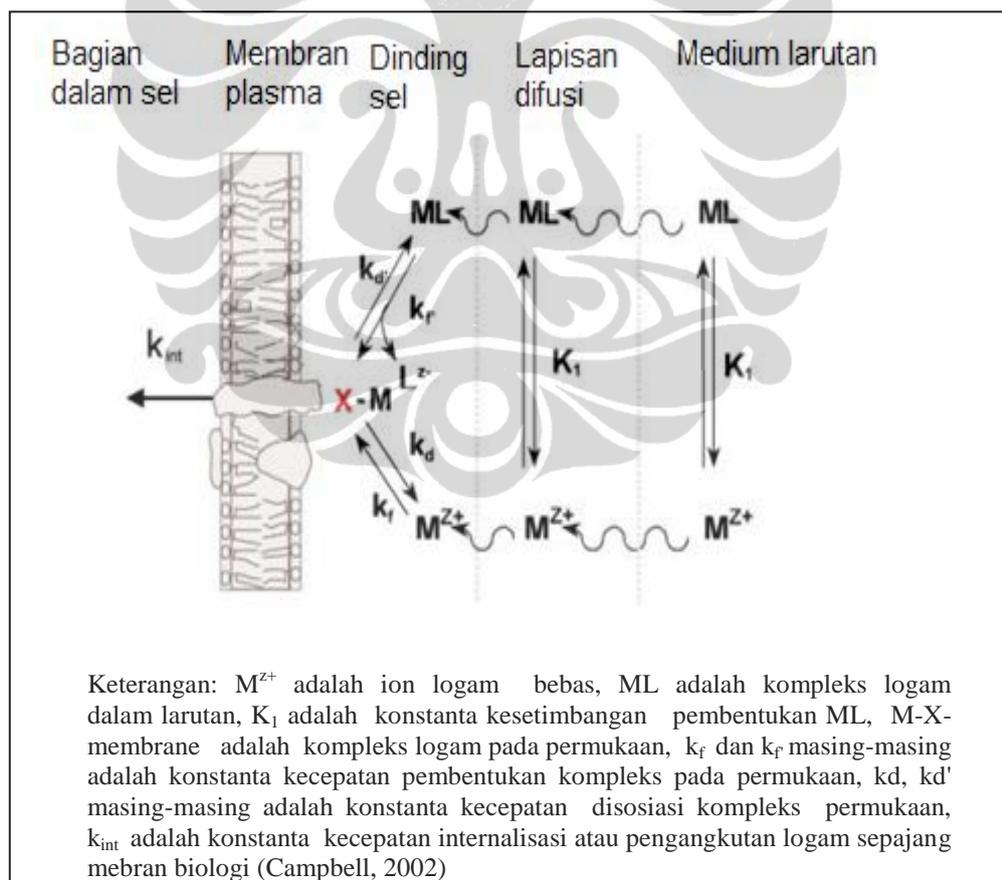
Bioakumulasi adalah peningkatan konsentrasi secara progresif suatu jenis senyawaan dalam suatu organisme yang disebabkan oleh laju pengambilan senyawaan tersebut lebih besar dibandingkan pelepasannya (Fisher, 2002). Proses bioakumulasi logam berat secara kimiawi merupakan reaksi pembentukan senyawaan kompleks antara logam berat dengan sel-sel organisme yang berfungsi sebagai ligan. Proses ini diterangkan melalui teori *Ligan Biotic Model* (model ligan biotik, BLM).

Model ligan biotik untuk ion logam bebas atau derivatnya dirancang untuk memprediksi bagaimana logam-logam terlarut berinteraksi dengan organisme akuatik (Campbell, 2002). Model ini pertama kali digunakan untuk menerangkan fenomena bioakumulasi pada sel algae dan perkembangan berikutnya dapat digunakan untuk sel-sel eukariotik atau pada tingkatan yang lebih tinggi. Untuk terakumulasi dalam sel dan memberikan efek biologis, suatu logam pertama-tama harus berinteraksi dengan membran biologi. Dalam sistem larutan logam berada dalam bentuk ion bebas atau dalam bentuk kompleks ligan. Mendekati permukaan sel, logam dalam berbagai bentuk ini harus melewati dinding sel.

Makromolekul dalam dinding sel bersifat porus dan mengandung gugus fungsional sederhana yang didominasi oleh grup oksigen sebagai donor elektron (-COH; -COOH; -P(O)(OH)₂). Pada pH netral kebanyakan gugus fungsional tersebut mengalami protonasi menghasilkan matriks hidrofilik bermuatan negatif sehingga ion logam dan bentuk kompleksnya dapat melewati membran plasma. Interaksi logam dengan sel mengikuti beberapa langkah yaitu: difusi logam dari larutan ke permukaan biologis, sorpsi/kompleksasi logam pada sisi ikatan pasif

dalam lapisan pelindung atau sisi pengikat spesifik pada permukaan luar membran plasma dan pengambilan atau internalisasi logam yang diangkut sepanjang membran plasma. Mekanisme interaksi logam dengan sel organisme pada proses bioakumulasi ditunjukkan pada Gambar 2.3. Interaksi ini dibuat beberapa asumsi sederhana, yaitu:

1. Pengangkutan logam dalam larutan ke membran dan terjadi reaksi pengomplekan subsekuen pada permukaan dan dihasilkan kesetimbangan antara logam dan larutan.
2. membran plasma adalah sisi utama bagi interaksi logam dengan organisme hidup dan interaksi ini terjadi melalui reaksi pertukaran ligan menghasilkan M-X-cell dengan konstanta kesetimbangan K_f atau K_r .
3. Respon biologis dalam bentuk pengambilan logam, nutrisi atau toksik tergantung pada konsentrasi M-X-cell



Gambar 2.3. Konsep model interaksi logam dengan organisme.

4. Variasi {M-X-cell} sebagai fungsi $[M^{Z+}]$ dalam larutan mengikuti aturan *Langmuir-adsorption isotherm*;

5. Selama paparan logam sifat biologis permukaan tidak berubah dimana logam tidak menyebabkan perubahan sifat membran plasma

2.4. Biokinetik Proses Bioakumulasi

Pemahaman secara lengkap proses bioakumulasi pada organisme akuatik dan ekosistem membutuhkan pasangan fungsional pada proses yang berbeda dan terjadi pada kondisi spesifik dalam konteks dinamik. Untuk merealisasikan hal ini dibuat model yang dapat mengkonstruksi kaitan antara proses yang berbeda satu sama lainnya (Booth *et al.*, 2005). Model ini merupakan alat untuk menganalisis kejadian-kejadian kompleks dan memprediksi gabungan hasil pada proses yang berbeda dalam ruang dan waktu. Jenis-jenis model dinamik dapat dikonstruksi dari model kompartemen yang sederhana sampai dengan model multikompartemen yang kompleks (Booth *et al.* 2005). Untuk menjelaskan proses bioakumulasi umumnya digunakan model kompartemen tunggal (Luoma *et al.* 2005, Blust, 2002; Newman *et al.* 1996). Model kompartemen tunggal mempertimbangkan organisme sebagai kolam homogen tunggal (*single homogeneous pool*) dengan suatu input pengambilan dan output pelepasan. Model yang lebih kompleks menyertakan lebih banyak kompartemen sehingga pengambilan logam dan kompartemensi internal dijelaskan lebih detail dan realistis. Walaupun demikian model yang lebih kompleks membutuhkan lebih banyak informasi sebagai parameter dalam model ini. Hal ini membutuhkan eksperimen yang lengkap untuk mengikuti banyak kasus dan tidak dapat diperoleh secara eksperimen. Pertimbangan utama adalah yang berkaitan dengan paparan kontaminan (logam berat).

Logam terdistribusi pada berbagai fase yang berbeda termasuk dalam kondisi terlarut, tersuspensi dan dalam fraksi sedimen. Dalam fraksi-fraksi ini logam terdapat dalam bentuk (spesi) yang berbeda yang mana ketersediaannya (*availability*) untuk diambil oleh organisme akuatik kemungkinan sangat berbeda. Sebagai tambahan pengambilan logam melalui jalur makanan dimana makanan telah mengkonsentrasikan logam. Model bioakumulasi logam yang lebih realistis adalah memperhitungkan rute paparan yaitu melalui air, makanan dan sedimen atau partikulat (Pickhardt *et al.* 2006; Kuwabara *et al.* 2007). Kecepatan pengambilan logam ditunjukkan kecepatan pengambilan atau efisiensi asimilasi.

Kombinasi dari informasi ini dengan data konsentrasi logam di air dan kecepatan ingesi partikel dan makanan membuat kemungkinan untuk menentukan hal penting dari berbagai jenis jalur pengambilan logam.

Pada model kompartemen tunggal, proses bioakumulasi dilihat sebagai suatu keseimbangan antara dua proses kinetika, yaitu pengambilan (*uptake*) dan pelepasan (*deputation*). Mekanisme model kompartemen tunggal dapat dilihat pada Gambar 2.4 (Luoma *et al.* 2005; Whicker *et al.* 1982). Laju perubahan konsentrasi pencemar dalam makhluk hidup direpresentasikan pada persamaan (1)

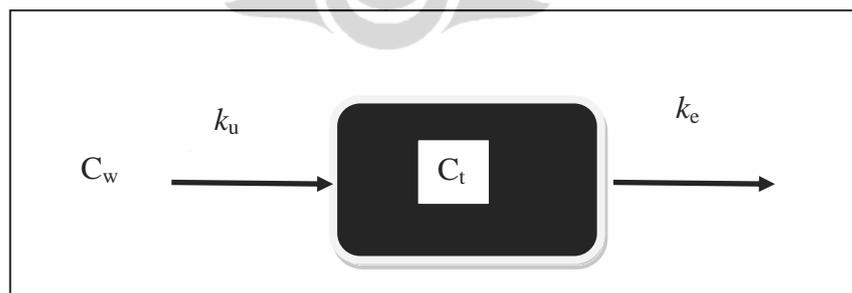
$$\frac{dC_t}{dt} = k_u C_w - k_e C_t \quad (1)$$

dimana C_t adalah konsentrasi pencemar (termasuk CH_3Hg^+ dan Hg^{2+}) dalam organisme pada waktu t ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), C_w adalah konsentrasi pencemar dalam lingkungan sekeliling ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), k_u adalah konstanta pengambilan (hari^{-1}), k_e adalah konstanta laju pelepasan (hari^{-1}).

Integrasi persamaan (1), dari suatu C_t awal = 0 dan $t = 0$, maka konsentrasi C_t pada waktu t adalah:

$$C_t = \frac{k_u}{k_e} C_w (1 - e^{-k_e t}) \quad (2)$$

Faktor Konsentrasi (CF) merupakan rasio konsentrasi pencemar didalam tubuh biota terhadap konsentrasinya di dalam air ($\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}$ atau $\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$).



Gambar 2.4. Model kompartemen tunggal (Luoma *et al.* 2005; Whicker *et al.* 1982)

$$CF_t = \frac{C_t}{C_w} \quad (3)$$

Rasio k_u terhadap k_e merupakan nilai Faktor biokonsentrasi (BCF) atau dapat dianggap sebagai nilai CF pada kondisi tunak (CF_{ss}), sehingga

$$CF_t = CF_{ss}(1 - e^{-k_e t}) \quad (4)$$

Pada saat konsentrasi dalam biotik mendekati keadaan tunak (*steady state*) maka proses pengambilan dan depurasi akan berada dalam keadaan setimbang.

$$\frac{dC_t}{dt} = k_u C_w - k_e C_t = 0 \quad (5)$$

dan

$$k_u C_w = k_e C_t \quad (6)$$

Jika kontak terhadap pencemar diakhiri, maka pengambilan berhenti dan $k_u C_w = 0$, sehingga untuk proses pelepasan pencemar dapat ditunjukkan pada persamaan (7)

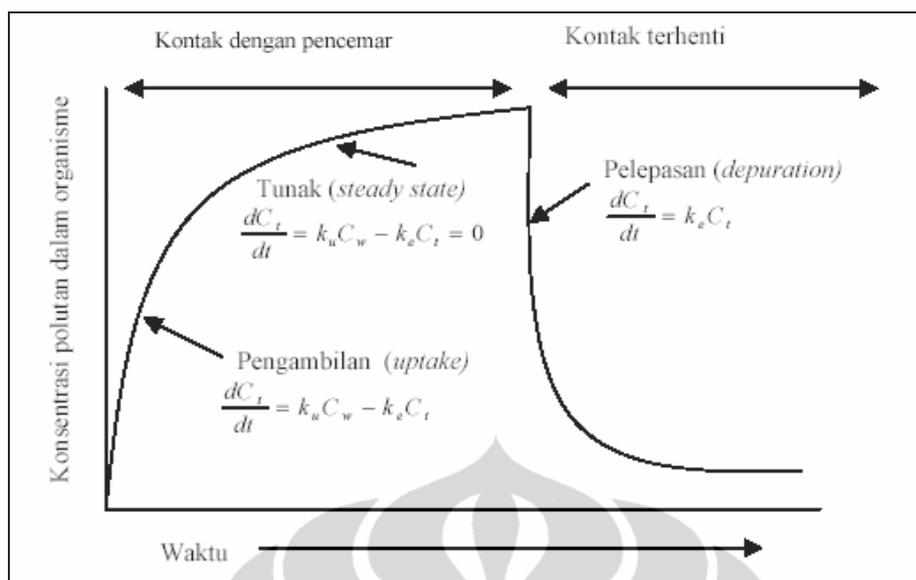
$$\frac{dC_t}{dt} = -k_e C_t \quad (7)$$

Pengambilan (*uptake*) dan pelepasan (*depuration*) pencemar pada proses bioakumulasi ditunjukkan oleh Gambar 2.5. Laju pelepasan dihitung dari *slope* kurva persentase CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} yang tertahan dalam tubuh versus lamanya pelepasan (depurasi). Pelepasan kontaminan dari tubuh biota dibedakan menjadi pelepasan cepat dan pelepasan lambat (Whicker *et al.* 1982, Fernández *et al.* 2010). Berdasarkan mekanisme pelepasan tersebut maka laju pelepasan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} ditunjukkan pada persamaan (8)

$$A_t = A_{0s} e^{k_{ss} t} + A_{0l} e^{k_{sl} t} \quad (8)$$

dimana A_0 adalah fraksi tertahan pada keadaan awal (%), A_t adalah fraksi tertahan pada waktu t (%), k_e adalah laju pelepasan (%. hari⁻¹), subkrip s dan l adalah cepat dan lambat.

Waktu paruh biologis ($t_{1/2b}$) adalah waktu yang dibutuhkan sehingga kadar CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} dalam tubuh biota menjadi setengah dari kadar mula-mula setelah paparan kedua kontaminan tersebut dihentikan. Nilai $t_{1/2b}$ ditentukan menggunakan persamaan (9).



Gambar 2.5. Skenario pengambilan pencemar pada proses bioakumulasi model Kompartemen tunggal (Whicker *et al.*1982)

$$t_{1/2b} = \frac{0,693}{k_e} \quad (9)$$

Fluks masuk merepresentasikan kuantitas CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} yang terinternalisasi ke dalam tubuh organisme akuatik. Fluks masuk disimbolkan sebagai I ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{hari}^{-1}$) merupakan perkalian antara laju pengambilan dengan konsentrasi merkuri dalam air yang ditunjukkan pada persamaan (10).

$$I = k_u \cdot C_w \quad (10)$$

dimana I merepresentasikan fluks masuk CH_3Hg^+ atau Hg^{2+} ke dalam tubuh *O. mossambicus* ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{hari}^{-1}$), k_u adalah laju pengambilan (hari^{-1}) dan C_w adalah konsentrasi Hg dalam air ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$).

Persamaan-persamaan tersebut di atas menerangkan proses bioakumulasi kontaminan melalui jalur air. Disisi lain prediksi proses bioakumulasi harus mempertimbangkan seluruh jalur kontaminan yang masuk ke dalam organisme. Pada ikan dan tiram jalur masuk CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} melalui jalur air dan pakan tetapi pada kekerangan melalui jalur air, pakan dan sedimen.

Terdapat dua pendekatan pemodelan akumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} dalam tubuh organisme akuatik (Wang *et al.* 1999). Pendekatan pertama berasumsi pada suatu keseimbangan partisi kontaminan di antara berbagai kompartemen (misal air, sedimen dan organisme). Pada model ini jalur paparan tidak menjadi hal yang

penting ketika suatu keseimbangan berbagai kompartemen terjadi. Berdasarkan pendekatan ini konsentrasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} pada organisme dapat diprediksi berdasarkan pengukuran konsentrasinya dalam kompartemen air. Keseimbangan antara fase makanan (misalnya komponen hidup) dan fase air dapat mudah tercapai, terutama untuk mikroorganisme yang mempunyai siklus hidup singkat. Di sisi lain keseimbangan antara organisme dan makanannya atau air dicapai dalam waktu yang lama sehingga sulit dilakukan simulasi laboratorium. Pendekatan kedua adalah model kinetika yang berdasar pada bioenergi di mana akumulasi kontaminan dianggap sebagai proses fisiologis dengan orde satu. Pada model ini fisiologis logam berat dapat diukur secara eksperimental yang berhubungan dengan prediksi konsentrasinya dalam organisme. Model ini secara umum diasumsikan pada keadaan tunak (*steady state*), namun demikian dapat juga dipakai untuk mempelajari akumulasi logam berat dalam kondisi tidak tunak yang berasal dari variasi sementara input logam berat dalam air. Model kinetika ini telah digunakan secara luas untuk memahami bioakumulasi logam berat dan *bioavailability* karena dikembangkan berdasarkan eksperimen realistik untuk mengukur efisiensi asimilasi logam berat yang berasal dari ingesti makanan dan konstanta pengambilan dari fase air. Pada model kinetika ini jalur paparan logam berat pada organisme laut dapat dipelajari melalui:

- (1) Eksperimen langsung, di mana konstanta pengambilan dari berbagai kompartemen dibandingkan.
- (2) Secara tak langsung, dimana digunakan metoda kesetimbangan massa dari konstanta pengambilan dari jalur air atau makanan hanya dibandingkan dengan konstanta pengambilan dari kombinasi jalur air dan makanan.
- (3) Komparasi distribusi logam berat dalam jaringan organisme yang diperoleh dari percobaan dan yang diperoleh dari alam dengan mengasumsikan bahwa distribusi di jaringan organisme tersebut tergantung pada jalur pengambilan.

Studi empirik menggunakan eksperimental sederhana tidak merefleksikan kondisi alam yang sebenarnya. Melalui kombinasi model kinetika dan pengukuran secara eksperimen memungkinkan variasi parameter lingkungan dapat

disimulasikan pada eksperimen. Pada model ini pengambilan logam berat oleh organisme laut dijelaskan melalui persamaan (11)

$$\frac{dC}{dt} = (k_u \cdot C_w) + (AE \cdot IR \cdot C_f) \quad (11)$$

dimana AE adalah efisiensi asimilasi (%), IR adalah kecepatan memangsa ($0,01 - 0,1 \text{ hari}^{-1}$) dan C_f adalah konsentrasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} dalam pakan ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$). Pada eksperimen kemampuan akumulasi melalui jalur air direpresentasikan sebagai faktor biokonsentrasi (BCF) yang diperoleh dari nilai CF_{ss} atau dihitung menggunakan persamaan (12)

$$BCF = \frac{k_u}{k_e} \quad (12)$$

Nilai Faktor Bioakumulasi (BAF) dihitung menggunakan :

a. berdasarkan kondisi tunak seperti yang ditunjukkan pada persamaan (13)

$$BAF = CF_{ss} + \frac{AE \cdot IR \cdot BCF}{k_e} \quad (13)$$

b. metoda cepat menggunakan asumsi rasio k_u/k_e sebagai nilai CF_{ss} yang ditunjukkan pada persamaan (14)

$$BAF = \frac{k_u + (AE \cdot IR \cdot BCF)}{k_e} \quad (14)$$

Rasio fraksi Hg^{2+} terhadap total bioakumulasi melalui jalur air ditunjukkan pada persamaan (15)

$$CF_{\text{Hg}^{2+}} = \frac{CF_{\text{Hg}^{2+}}}{(CF_{\text{Hg}^{2+}} + CF_{\text{CH}_3\text{HgCl}}) \left(\frac{[\text{CH}_3\text{Hg}^+]}{[\text{Hg}^{2+}]} \right)} \quad (15)$$

Untuk mengetahui kontribusi jalur pakan pada bioakumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} ditentukan menggunakan nilai TTF (*Trophic Transfer Factor*) yang dihitung menggunakan persamaan (16)

$$TTF = AE \cdot IR / k_e \quad (16)$$

Nilai TTF adalah faktor perpindahan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} dalam rantai makanan, jika $TTF > 1$ maka terjadi biomagnifikasi atau kontaminan dipindahkan melalui rantai makanan.

Studi bioakumulasi diaplikasikan dalam berbagai kajian resiko lingkungan dan manusia. Dalam konteks bioakumulasi yang berhubungan dengan kajian resiko pada manusia, terdapat hubungan antara TRC (*tissue residue*

concentration) yang merupakan konsentrasi CH_3Hg^+ dalam ikan mujair (C_i) terhadap nilai BAF. Nilai TRC merepresentasikan kriteria residu dalam jaringan ikan ($\text{mg CH}_3\text{Hg}^+/\text{kg}$ ikan). Hubungan antara BAF dengan konsentrasi CH_3Hg^+ dalam air ditunjukkan pada persamaan (17)

$$C = AWQC \cdot BAF \cdot 0,001 \quad (17)$$

Dimana C adalah konsentrasi CH_3Hg^+ , BAF adalah faktor bioakumulasi, AWQC adalah konsentrasi CH_3Hg^+ dalam air (C_w). Penulisan ulang persamaan (18) untuk menyesuaikan simbol adalah sebagai berikut:

$$TRC = C_w \cdot BAF \cdot 0,001 \quad (18)$$

RfD adalah dosis acuan (*Reference dose*) sebesar $0,0001 \text{ mg CH}_3\text{Hg}^+/\text{kg}$ tubuh $\cdot \text{hari}^{-1}$, RSC adalah kontribusi relatif sumber diestimasi $2,7 \times 10^{-5} \text{ mg CH}_3\text{Hg}^+/\text{kg}$ berat tubuh.

2.5. Renspon Enzimatik Pada Proses Bioakumulasi

Sebagai salah satu kelompok polutan, secara umum dampak negatif Hg^{2+} dalam proses metabolisme adalah menstimulasi proses peroksidasi lemak melalui oksidasi asam lemak rantai panjang tak jenuh (Geret *et al.*, 2002). Peroksidasi lemak dan kerusakan yang dihasilkan dimodulasi oleh sistem antioksidan (superoksida dismutase, katalase, glutathion peroksidase, glutathion) dan metalotionein (MT). Metalotionin memainkan peranan penting pada metabolisme logam melalui mekanisme detoksifikasi. Fungsi metalotionin lainnya adalah memproteksi sel tidak hanya sebagai antiradikal tetapi berperilaku terhadap pengikatan dan pelepasan logam. Merkuri menghambat aktivitas enzim dan menyebabkan sel mengalami kerusakan (Blackmore *et al.* 2004). Merkuri organik mempunyai aktivitas yang tinggi terhadap lipida yang menyebabkan polutan ini dapat bergerak sepanjang membran sel dan terlibat dalam metabolisme sel. Metil merkuri mempengaruhi proses pembelahan sel dan menyebabkan hasil belahan sel menerima sejumlah kromosom yang tidak sama. Mekanisme biokimia dan fisiologis oleh metalotionein mentolerir organisme mengakumulasi logam berat. Metalotionin adalah sejenis protein yang kaya akan senyawaan sulfhidril yang mampu medetoksifikasi logam melalui pengikatannya oleh atom sulfur dari residu peptida. Ikatan ini hanya terjadi untuk logam-logam berbentuk ionik dan tidak pada organologam seperti metil merkuri (Seaxasa *et al.* 2005)

Secara umum metabolisme polutan dalam organisme melibatkan oksidasi melalui berbagai reaksi monooksigenase termasuk epoksidasi, hidroksilasi dan dealkilasi. Organisme mempunyai kemampuan melakukan reaksi detoksifikasi di dalam tubuhnya. Tahapan pertama metabolik adalah dimediasi oleh monooksigenase atau *mixed-function Oxygenase* yang akan mengintroduksi gugus-gugus fungsional ke dalam substrat. Produk-produk awal oksidasi yang berasal dari reaksi fase I diekskresikan atau ditransformasi lebih lanjut menjadi produk-produk yang lebih larut dalam air. Pada reaksi fase II dilakukan mediasi oleh berbagai enzim pengkonjugasi. Perubahan awal yang dapat dideteksi dalam sel sebagai respon terhadap senyawaan polutan, melibatkan organel subselular seperti lisosom, endoplasmik retikulum dan mitokondria.

Menurut Seixasa *et al* (2005) terdapat tiga elemen pada proses oksidasi sel, yaitu: oksigen, besi dan donor elektron (NADH). Kelompok elemen ini dinamakan sistem *mixed-function oxidation* (MFO) atau sistem *metal-catalyzed oxidation* (MCO). Dalam sistem ini NADH memberikan elektron kepada oksigen (O_2) dan ion Fe^{2+} , membentuk hidrogen peroksida (H_2O_2) dan ion Fe^{3+} . Selanjutnya ion Fe^{2+} berikatan dengan sisi spesifik protein dimana terjadi reaksi-reaksi dengan H_2O_2 . Reaksi menghasilkan radikal bebas hidroksil ($\bullet OH$) yang menyebabkan oksidasi pada protein sel.

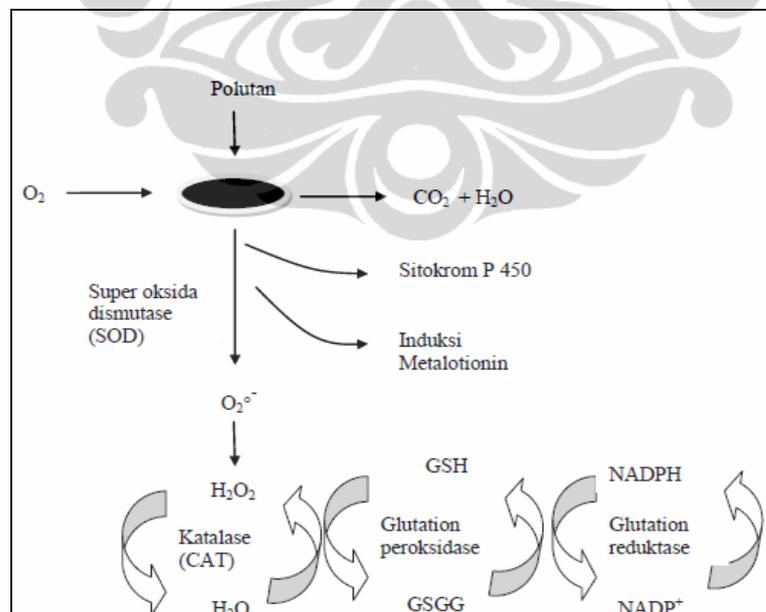
Vangastel *et al* (1994) menyatakan bahwa, perubahan sistem antioksidan pada organisme akuatik berhubungan stress oksidatif akibat paparan berbagai jenis polutan. Sistem antioksidan dapat diinduksi setelah terpapar polutan (antara lain logam-logam) dan jika paparan mengalami peningkatan maka dapat merusak sistem pertahanan sel sehingga terjadi stress oksidatif atau kerusakan sel. Hal ini merefleksikan kondisi ketidakseimbangan antara produksi dan penghilangan atau penyerapan oksidan. Pada kondisi normal organisme menjaga keseimbangan antara menghasilkan dan menetralkan spesi oksigen reaktif (ROS) dan pada saat terpapar oleh senyawaan polutan kecepatan produksi ROS seperti radikal anion ($O_2^{\bullet -}$), hidrogen peroxide (H_2O_2), radikal hidroksi (OH^{\bullet}) dan radikal peroksil (ROO^{\bullet}) meningkat (Verlecar *et al.* 2006). Spesi oksigen reaktif tersebut akan bereaksi dengan makromolekul (lipida, protein dan asam nukleat). Oksigen reaktif ini menyebabkan perubahan sitosol termasuk keseimbangan redoks, inaktivasi

enzim peroksidasi lipida, degradasi protein sampai dengan kematian sel. Reaksi-reaksi ini dikatalisis oleh sejumlah enzim antioksidan seperti: *cytochrome-P450*, *monooxygenase* atau MFO dan protein metalotionein (MT) yang ditunjukkan pada Gambar 2.6

Seluruh organisme mempunyai sistem pertahanan berupa antioksidan seluler baik berupa komponen enzimatik maupun nonenzimatik. Jalur enzimatik mengandung Super oksida dismutase (SOD), katalase dan glutathion peroksidase (GPX). Radikal $O_2^{\bullet-}$ dieliminasi oleh SOD menjadi H_2O_2 . Selanjutnya H_2O_2 dinetralkan oleh GPX yang mengkatalisis reduksi H_2O_2 menjadi air dan organik peroksida dikatalisis oleh GSH menjadi alkohol. Enzim Glutathion reduktase meregenerasi GSH dari glutathione teroksidasi (GSSG). Konjugat GST polutan dikonjugasi oleh GSH untuk diekresikan keluar sistem tubuh.

2.6 Teknik Nuklir Untuk Mempelajari Mekanisme Bioakumulasi

Perunut radioaktif atau radiotracer adalah suatu zat yang digunakan untuk identifikasi dan observasi pada berbagai proses fisik, kimia maupun biologi yang terjadi (IAEA, 2008). Perunut intrinsik adalah molekul yang mengandung isotop (radioaktif atau stabil) yang menyerupai molekul yang akan diamati.



Gambar 2.6. Metabolisme senyawaan polutan (termasuk merkuri dan metil merkuri) di dalam tubuh organism dimulai dari masuknya polutan sampai dengan ekskresi polutan (Seixasa, 2005)

Sebagai contoh adalah tritium ($^1\text{H}^3\text{H}^{16}\text{O}$) digunakan pada penelitian yang berkaitan dengan air dan dideteksi menggunakan teknik nuklir. Pada kasus ini molekul air dirunut dari dalam dan secara praktis tracer mengikuti semua aliran dan reaksi-reaksi di dalam air tersebut. Perunut ekstrinsik adalah perunut yang dibuat dari molekul atau atom yang mempunyai karakter kimia yang sama dengan objek atom atau molekul yang diamati. Perunut ini ditambahkan bersama-sama dengan molekul atau nuklida stabil kedalam suatu medium yang akan diteliti. Sebagai contoh adalah radionuklida $^{109}\text{Cd}^{2+}$, $^{203}\text{Hg}^{2+}$, $\text{CH}_3^{203}\text{Hg}^+$, $^{51}\text{Cr}^{6+}$ ditambahkan ke dalam medium air bersama sama dengan Cd^{2+} , Hg^{2+} , CH_3Hg^+ dan Cr^{6+} untuk mempelajari bioakumulasinya dalam berbagai organism akuatik.

Penelitian bioakumulasi membutuhkan percobaan dan observasi mendalam agar dapat memahami proses bioakumulasi secara komprehensif. Pengendalian eksperimen merupakan faktor dan pendekatan utama untuk mempelajari hubungan sebab akibat dan selalu menyederhanakan kondisi lingkungan (Fisher, 2002). Penggunaan perunut radioaktif merupakan jawaban untuk memperoleh kondisi eksperimen yang dapat disesuaikan dengan lingkungan yang sebenarnya. Perunut radioaktif telah digunakan secara luas untuk mempelajari akumulasi pencemar dalam organisme laut karena mempunyai keuntungan antara lain (Fowler *et al.* 2004):

- (a) mudah dalam pengukuran dan menghasilkan data yang presisi dimana keberadaan perunut radioaktif (termasuk $^{203}\text{Hg}^{2+}$ dan $\text{CH}_3^{203}\text{Hg}^+$) tersebut dapat dideteksi pada konsentrasi yang sangat ekstrim bahkan beberapa perunut dapat dideteksi pada kuantitas 10^{-17}g (IAEA, 2008)
- (b) dapat digunakan untuk konsentrasi yang sangat rendah di mana konsentrasinya dapat diatur mendekati kondisi realistik dalam lingkungan,
- (c) pengukuran kinetika polutan dalam tubuh biota dapat dilakukan sepanjang eksperimen tanpa membunuh hewan percobaan tersebut sehingga hewan uji yang digunakan dalam eksperimen tidak terlalu banyak
- (d) studi perpindahan dalam lingkungan akuatik sulit dilaksanakan menggunakan teknik analisis konvensional.

Radionuklida yang digunakan sebagai perunut kuantitasnya yang sangat kecil namun mempunyai sifat kimia seperti unsur yang akan dianalisis dalam

sampel. Penambahan radionuklida dengan aktivitas yang besar tidak mempengaruhi komposisi dari sampel tersebut. Unsur yang akan diamati di dalam sampel bercampur dengan perunut radioaktif membentuk suatu matriks. Hasil pengukuran perunut radioaktif tersebut ekuivalen dengan kuantitas sampel. Penambahan perunut radioaktif yang tidak mempengaruhi komposisi unsur ditunjukkan pada persamaan (19) sampai dengan (23) (Vanderploeg *et al*, 1975). Faktor konsentrasi perunut radioaktif pada suatu organism dihitung menggunakan persamaan (19)

$$CF(R_i) = \frac{[R]_i}{[R]_w} \quad (19)$$

dimana: $CF(R_i)$ adalah faktor konsentrasi perunut radioaktif R_i ($ml.g^{-1}$), $[R]_i$ adalah konsentrasi perunut radioaktif di dalam jaringan tubuh organism ($Bq.g^{-1}$), $[R]_w$ adalah konsentrasi perunut radioaktif dalam air ($Bq.l^{-1}$). Faktor konsentrasi radionuklida berhubungan dengan konsentrasi unsur non radioaktifnya yang terdapat didalam media mengikuti pola sebagai berikut:

Pola pertama CF perunut radioaktif R dalam jaringan tubuh i akan mencapai kondisi tunak

$$CF_{ss}(R)_i = \text{konstan} \quad (20)$$

Pola kedua adalah homeostatik mempertahankan konsentrasi unsur non radioaktif yang diakumulasi dalam organisme atau jaringan tubuh.

$$CF(R)_i = \frac{\sum C_i}{[C]_w} \quad (21)$$

Dimana $\sum C_i$ adalah konsentrasi unsur non radioaktif dalam tubuh organisme ($\mu g.g^{-1}$) dan $[C]_w$ konsentrasi unsur non radioaktif dalam air ($\mu g.g^{-1}$). Pola ketiga adalah perunut radioaktif dan unsur non radioaktif secara homeostatik dipertahankan pada konsentrasi konstan.

$$CF(R)_i = \frac{q_i \sum C_i \sum C_i^*}{[C^*]_w} \quad (22)$$

Dimana q_i adalah koefisien diskriminator, \sum^*_i adalah konsentrasi unsur radioaktif dalam organisme ($\mu g.g^{-1}$) dan $[C^*]_w$ adalah konsentrasi unsur non radioaktif dalam air ($\mu g.l^{-1}$). Koefisien diskriminator yang digunakan untuk mengkonversi satuan aktivitas menjadi satuan berat ditunjukkan pada persamaan :

$$q_i = \frac{\frac{[R]_i}{[C^*]_i}}{\frac{[R]_{iw}}{[C^*]_{iw}}} \quad (23)$$

Pada studi bioakumulasi senyawaan merkuri digunakan perunut radioaktif ^{203}Hg . Radionuklida ^{203}Hg dalam bentuk senyawaan $^{202}\text{Hg}^{2+}$ maupun $\text{CH}_3^{203}\text{Hg}^+$ memancarkan radiasi gamma 279 keV (77,3%) dan waktu paro 47 hari telah digunakan untuk mempelajari bioakumulasi senyawaan merkuri oleh berbagai jenis biota akuatik (Carvalho *et al.* 1999; Wang *et al.* 2003, Pan *et al.* 2004; Wang *et al.* 2004, Casas *et al.* 2006; Pickhardt *et al.* 2006; Metian *et al.* 2008; Lacoue-Labarthe *et al.* 2009 dan Wang *et al.* 2010). Radioaktivitas radionuklida ditetapkan menggunakan gamma spectrometer yang dilengkapi detector NaI(Tl) atau HPGe yang telah terkalibrasi. Konsentrasi radionuklida pada setiap sampel ditetapkan berdasarkan perbandingan standar yang telah diketahui konsentrasinya dan mempunyai geometris yang sama dan telah terkoreksi telah dikoreksi peluruhannya. Konsentrasi radionuklida dalam organism akuatik pada setiap waktu pengamatan dikoreksi menggunakan persamaan (24)

$$N_t = N_o e^{-0,693t/t_{1/2}} \quad (24)$$

dimana N_t adalah aktivitas perunut radioaktif pada waktu pengamatan t (Bq), N_o adalah aktivitas mula-mula (Bq), t adalah lama peluruhan (jam atau hari) dan $t_{1/2}$ adalah waktu paro (jam atau hari)

BAB III METODOLOGI

3.1. Metodologi

Bioakumulasi merkuri dan metil merkuri mengikuti prinsip-prinsip masuknya polutan kedalam organisme hidup, yaitu: absorpsi, distribusi, metabolisme dan eliminasi. Pendekatan proses absorpsi dan eliminasi menggunakan model biokinetika kompartemen tunggal. Studi bioakumulasi Hg^{2+} dan CH_3Hg^+ oleh *O. mossambicus* dilakukan dua jalur paparan yaitu melalui jalur air dan jalur pakan.

3.1.1. Metodologi bioakumulasi melalui jalur air meliputi:

- (a) aklimatisasi hewan percobaan, tahapan ini dimulai dari pengambilan hewan percobaan di lapangan (tambak), penanganan dan transportasi hewan percobaan dari lapangan ke laboratorium dan adaptasi hewan percobaan di lingkungan akuatik buatan (sistem akuaria)
- (b) pembuatan medium paparan melalui jalur air untuk mensimulasikan:
 - (1) perubahan konsentrasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} (0,021 sampai dengan 1,832 $\mu\text{g.l}^{-1}$ untuk CH_3Hg^+ dan 0,4 sampai dengan 20,0 $\mu\text{g.l}^{-1}$ Hg^{2+} dan) sebagai dampak masuknya polutan ke dalam ekosistem tambak,
 - (2) perubahan kandungan partikulat (20 – 80 ppm) untuk mensimulasikan fluktuasi salah satu parameter kualitas air baku tambak,
 - (3) perubahan salinitas perairan (22 – 30‰) untuk mensimulasikan fluktuasi salinitas sebagai dampak perubahan cuaca (musim hujan dan panas) dan
 - (4) Perubahan ukuran ikan (4,3 – 15,6 cm) untuk mensimulasi pengaruh ukuran terhadap proses bioakumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} .
- (c) Penandaan medium air dengan perunut radioaktif $\text{CH}_3^{203}\text{Hg}^+$ dan $^{203}\text{Hg}^{2+}$. Metil merkuri dan Hg^{2+} di dalam medium air bercampur dengan perunut radioaktif membentuk suatu matriks. Penambahan perunut radioaktif $\text{CH}_3^{203}\text{Hg}^+$ dan $^{203}\text{Hg}^{2+}$ (masing-masing hingga kadarnya dalam air mencapai 1 Bq.ml^{-1}) tidak mempengaruhi kadar CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} di dalam air. Hasil pengukuran perunut radioaktif tersebut akan ekuivalen dengan kuantitas CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} di dalam medium air.

(d) Bioakumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} melalui jalur air.

- (1) Bioakumulasi CH_3Hg^+ dilakukan dengan menempatkan *O. mossambicus* dalam medium air yang mengandung CH_3Hg^+ dan $\text{CH}_3^{203}\text{Hg}^+$ dalam interval waktu 1 - 30 hari. Bioakumulasi Hg^{2+} dilakukan dengan menempatkan *O. mossambicus* dalam medium air yang mengandung Hg^{2+} dan $^{203}\text{Hg}^{2+}$ dalam interval waktu 1 - 30 hari. Secara terpisah, perunut $\text{CH}_3^{203}\text{Hg}^+$ dan ^{203}Hg dalam air dan tubuh ikan dianalisis menggunakan spektrometer gamma.
- (2) Rasio konsentrasi $\text{CH}_3^{203}\text{Hg}^+$ atau $^{203}\text{Hg}^{2+}$ dalam ikan dibandingkan konsentrasinya dalam air merupakan nilai Faktor Konsentrasi (CF). Nilai slope yang berasal dari plot nilai CF terhadap waktu merupakan konstanta kecepatan pengambilan (k_u , hari⁻¹). Nilai CF_{ss} diperoleh dari CF pada kondisi tunak (Whicker *et al.* 1982).
- (3) Pelepasan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} dari tubuh *O. mossambicus* dilakukan dengan menempatkan ikan yang telah terakumulasi akuarium berisi air payau yang tidak ditambahkan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} maupun perunut radioaktifnya. Perunut $\text{CH}_3^{203}\text{Hg}^+$ dan ^{203}Hg dalam tubuh ikan dianalisis menggunakan spektrometer gamma. Persentase kedua perunut radioaktif tersebut pada waktu t terhadap waktu $t=0$ (sebelum dilakukan depurasi) yang tertinggal dalam tubuh *O. mossambicus* ditetapkan setiap hari. nilai slope yang berasal dari plot nilai persentase kontaminan yang tertahan CF terhadap waktu merupakan konstanta laju pelepasan (hari⁻¹). (Wicker *et al.* 1982)

3.1.2. Metodologi melalui jalur pakan

- (a) Pakan alami (makro algae dan *artemia sp*) dikontaminasi dengan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} secara terpisah.
- (b) Pakan yang terkontaminasi diberikan pada *O. mosambicus* dan aktivitas perunut radioaktif di dalam tubuh ikan diamati dalam interval waktu 1 jam sampai dengan 24 jam setelah pemberian pakan. Nilai Efisiensi Asimilasi (AE) ditentukan berdasarkan persentase kedua kontaminan tersebut dalam tubuh ikan setelah pemberian pakan 24 jam (Wang *et al.*, 2010).

3.1.3. Pemodelan/Prediksi nilai Faktor bioakumulasi (BAF)

Pehitungan perkiraan nilai BAF diestimasi melalui gabungan Nilai Faktor Biokonsentrasi dari jalur air dan jalur makanan menggunakan persamaan (13)

3.2. Bahan dan alat

Bahan-bahan yang digunakan terdiri dari: air payau yang diambil dari tambak-tambak rakyat di Panimbang Banten (difiltrasi dilaboratorium menggunakan filter 0,2µl), Hg(NO₃)₂ spesifikasi proanalisis E merck, CH₃HgCl spesifikasi proanalisis E merck, perunut radioaktif ²⁰³Hg²⁺ dan CH₃²⁰³Hg⁺ aktivitas 20 mCi buatan Pusat Produksi Radioisotope BATAN, *point source radioactive calibration* (buatan Canberra-Tenelec) dan bahan kimia untuk *reagen kit* untuk analisis enzim SOD dan CAT spesifikasi E merck serta bahan gelas dan sebagainya. Alat yang digunakan adalah: spektrometer gamma yang dilengkapi dengan *multy chanel analysis* (buatan Canberra) terhubung dengan komputer dan detector NaI (buatan Bicorn), penangas air, *centrifuge*, *water quality checker* dan sebagainya.

3.3. Tata kerja

3.3.1. Persiapan:

3.3.1.1. Aklimatisasi

Hewan uji diambil dari tambak rakyat dengan jaring jala dan dimasukkan ke dalam kontak PVC yang berisi es batu dilengkapi dengan aerator. Hewan ditransportasikan ke laboratorium untuk dilakukan aklimatisasi. Aklimatisasi bertujuan untuk menghilangkan stres hewan percobaan (*O. mossambicus*) dalam kondisi aquarium sehingga dapat digunakan dalam percobaan bioakumulasi. Aklimatisasi dilakukan dengan menempatkan masing-masing sebanyak 30 hewan percobaan yang diperoleh dari lapangan ke dalam akuarium berkapasitas 250 l yang dilengkapi dengan sistem penyaringan bertingkat, penghilang buih dan aerator. Pada hari pertama tidak ada pencahayaan ruangan dan hari berikutnya pencahayaan dilakukan 12 jam diberi cahaya, 12 jam kondisi gelap. Pemberian pakan komersial dilakukan 2 kali sehari. Seluruh proses

aklimatisasi dilakukan dengan memelihara hewan percobaan tersebut selama 2 minggu tanpa pemberian kontaminan. Mortalitas selama aklimatisasi harus kurang dari 10% dan setelah proses aklimatisasi hewan percobaan tersebut harus telah beradaptasi dengan lingkungan laboratorium. Jika selama aklimatisasi, mortalitas melebihi 10% hewan percobaan tersebut tidak dapat digunakan untuk eksperimen bioakumulasi.

3.3.1.2. Penandaan partikulat dan pakan dengan $\text{CH}_3^{203}\text{Hg}^+$ dan $^{203}\text{Hg}^{2+}$

Penandaan partikulat dan pakan bertujuan untuk mempelajari biokinetika melalui jalur pakan atau partikulat. Pada percobaan bioakumulasi merkuri dan metil merkuri melalui jalur pakan akan dilakukan terhadap 2 jenis pakan yaitu *Artemia sp* (mewakili pakan hewani), makro alga ganggang biru (mewakili pakan nabati).

- *Artemia sp* dibiakan dari bentuk kistanya sehingga tumbuh menjadi plangton di dalam toples kapasitas 2 l berisi air payau. Pembiakan dilakukan selama 1 hari. Penandaan terhadap *Artemia sp* dilakukan menggunakan metoda Wang dengan beberapa modifikasi (Wang *et al*, 2003). Air yang berisi *Artemia sp* ditambahkan dengan 2 ml $\text{CH}_3^{203}\text{Hg}^+$ (3.7 kBq/ml) dan medium tersebut didiamkan selama 2 hari. *Artemia* yang telah mengakumulasi $\text{CH}_3^{203}\text{Hg}^+$ dipindahkan dari medium dan dicuci dengan air payau selanjutnya siap dimangsakan ke ikan secara alami. Cara yang sama dilakukan menggunakan perunut radioaktif $^{203}\text{Hg}^{2+}$.
- Penandaan makroalga yang merupakan pakan alami dilakukan dengan menambahkan 2 ml $\text{CH}_3^{203}\text{Hg}^+$ (3.7 kBq/ml) ke dalam toples berisi 2 liter air payau. Koloni ganggang biru ditempatkan dalam medium tersebut selama 2 hari. Ganggang yang telah mengakumulasi $\text{CH}_3^{203}\text{Hg}^+$ dipindahkan dari medium dan dicuci dengan air payau selanjutnya siap dimangsakan kepada ikan secara alami. Cara yang sama dilakukan menggunakan perunut radioaktif $^{203}\text{Hg}^{2+}$.

• Penandaan partikulat dilakukan menggunakan metoda Carvalho dengan beberapa modifikasi (Carvalho *et al*, 1999). Koloid dikonsentrasikan dari 100 liter air payau yang diambil dari tambak rakyat di Panimbang Banten. Setelah tiba di laboratorium, air payau tersebut difiltrasi melalui *cartridge* ukuran 5 μ m dan dilewatkan pada *cartridge* yang berukuran 1 μ m. Koloid diperoleh melalui *backwash cartridge* 1 μ m tersebut. Koloid yang diperoleh diencerkan dengan 10 liter air payau yang telah difiltrasi pada filter berporositas 0,22 μ m. Larutan koloid siap digunakan untuk eksperimen pengaruh kandungan total senyawaan organik terhadap biokinetika merkuri dan metil merkuri. Penandaan koloid bertujuan untuk memperoleh koloid yang menjerap merkuri atau metil merkuri dan diingesi oleh ikan mujair. Sebanyak 1,2 liter larutan konsentrat koloid masing-masing ditambahkan $\text{CH}_3^{203}\text{Hg}^+$ diaduk selama 24 jam. Konsentrat koloid yang mengandung $\text{CH}_3^{203}\text{Hg}^+$ disaring dan dimasukkan kedalam kolom dialisis. Proses dialisis untuk memisahkan antara $\text{CH}_3^{203}\text{Hg}^+$ yang terikat dalam koloid dengan yang tidak terikat. Cara yang sama dilakukan untuk penandaan koloid oleh $^{203}\text{Hg}^{2+}$.

3.3.2. Bioakumulasi

3.3.2.1. Proses Pengambilan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} melalui jalur air payau

a. Pengaruh konsentrasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+}

Penandaan air dengan perunut radioaktif dilakukan dengan menambahkan $\text{CH}_3^{203}\text{Hg}^+$ ke dalam akuarium berisi 20 l payau yang mengandung CH_3Hg^+ 0,021 $\mu\text{g.l}^{-1}$ sehingga kandungan $\text{CH}_3^{203}\text{Hg}^+$ di dalam air menjadi 1 Bq.l^{-1} . Setelah dihomogenasi selama 2 jam dan dianalisis kandungan $\text{CH}_3^{203}\text{Hg}^+$ menggunakan spectrometer gamma. Sebanyak 6 ekor hewan uji ditempatkan ke dalam aquarium tersebut dan dibiarkan hidup normal tanpa diberi pakan. Setelah 24 jam ikan dipindahkan ke dalam akuarium berisi 20 l payau yang tidak terkontaminasi dan diberi pakan. Kuantitas pakan yang diberikan 0,5 gram per hari sehingga tidak meningkatkan berat tubuh ikan selama

eksperimen. Setelah diberi pakan ikan ditempatkan dalam kotak PVC yang berisi air payau untuk dianalisis kandungan $\text{CH}_3^{203}\text{Hg}^+$ menggunakan spektrometer gamma. Analisis dilakukan dengan mencacah ikan tersebut selama 10 menit tanpa anestesi. Ikan yang telah dianalisis ditempatkan dalam medium baru yang mengandung CH_3Hg^+ dan $\text{CH}_3^{203}\text{Hg}^+$ dan setelah terkontaminasi selama 24 jam berikutnya, dianalisis kembali menggunakan spectrometer gamma. Pemberian kontaminan dihentikan ketika konsentrasi $\text{CH}_3^{203}\text{Hg}^+$ dalam tubuh hewan percobaan tidak mengalami kenaikan atau berada dalam keadaan tunak (*steady state*). Seluruh hewan percobaan dipindahkan ke media air payau yang tidak mengandung kontaminan untuk menjalani proses depurasi. Percobaan serupa dilakukan untuk simulasi kandungan CH_3Hg^+ dalam air payau 0,105; 0,361 dan 1,832 $\mu\text{g.l}^{-1}$ yang ditandai oleh perunut $\text{CH}_3^{203}\text{Hg}^+$.

Tata kerja yang sama dilakukan untuk bioakumulasi Hg^{2+} dimana medium air payau masing-masing mengandung 0,2; 2,0; 10,0 dan 20,0 $\mu\text{g.l}^{-1}$ yang ditandai dengan perunut radioaktif $^{203}\text{Hg}^{2+}$.

b. Pengaruh salinitas dan ukuran tubuh *O. mossambicus*

Percobaan pengaruh salinitas terhadap bioakumulasi CH_3Hg^+ dilakukan seperti pada butir 3.2.2.1.b tetapi yang divariasikan adalah salinitas yaitu pada kisaran 22, 25, 27 dan 30‰. Sedangkan simulasi kontaminan adalah masing-masing akuarium mengandung 0,021 $\mu\text{g.l}^{-1}$ $\text{CH}_3\text{Hg}^{2+}$ yang ditandai dengan perunut $\text{CH}_3^{203}\text{Hg}^+$. Percobaan pengaruh ukuran *O. mossambicus* dilakukan menggunakan hewan percobaan berukuran 4,3; 9,3; 12,5 dan 15,6 cm. Sedangkan simulasi kontaminan adalah masing-masing akuarium mengandung 0,021 $\mu\text{g.l}^{-1}$ $\text{CH}_3\text{Hg}^{2+}$ yang ditandai dengan perunut $\text{CH}_3^{203}\text{Hg}^+$. Percobaan yang sama dilakukan secara paralel untuk pengaruh salinitas dan ukuran ikan terhadap bioakumulasi Hg^{2+} .

c. Pengaruh kandungan partikulat.

Partikulat yang mengandung CH_3Hg^+ dan telah ditandai oleh perunut $\text{CH}_3^{203}\text{Hg}^+$ ke dalam 4 buah akuarium berukuran 20 liter sehingga

kandungan koloid 20, 40, 60 dan 80 mg^l⁻¹. sebanyak 6 ekor ikan dimasukkan ke dalam aquarium tersebut. Setiap hari di analisis aktivitas CH₃²⁰³Hg⁺ dalam tubuh ikan tersebut sampai mencapai kondisi tunak. Media air yang berisi koloid diganti tiap hari untuk menjaga agar konsentrasinya tidak berubah. Metoda yang sama dilakukan untuk kontaminan Hg²⁺ yang terkandung dalam koloid yang telah ditandai oleh perunut radioaktif ²⁰³Hg²⁺.

d. Proses Depurasi

Setelah menjalani proses bioakumulasi, ketiga jenis hewan percobaan yang berasal dari eksperimen bioakumulasi melalui jalur air payau, makanan dan sedimen masing-masing ditempatkan dalam aquarium yang berisi media air payau bebas kontaminan dan dalam kondisi mengalir (debit 50 l/jam). Pemberian pakan dilakukan 2 kali sehari. Selama proses depurasi, secara periodik, setiap hari sekali seluruh hewan percobaan dianalisis kandungan ²⁰³Hg²⁺ menggunakan spektrometer gamma untuk memperoleh data pelepasan kontaminan. Konstanta laju pelepasan (k_e) diperoleh dari *slope* grafik waktu (t) terhadap konsentrasi (C) perunut tersebut. Retensi kontaminan dari masing-masing jalur dinyatakan dalam waktu paro biologi ($t_{1/2b}$)

3.3.2.3. Proses bioakumulasi melalui jalur pakan

Sebanyak 5 gram pakan alami (*Artemia sp.*, dan makro alga) yang telah ditandai oleh ²⁰³Hg²⁺ dan CH₃²⁰³Hg⁺ masing-masing diumpankan kepada hewan percobaan. Proses pemberian pakan selama 1 jam dan setelah diberikan pakan hewan percobaan dipindahkan ke dalam bak berisi 20 liter air bersih dan kandungan radionuklida yang tertahan dalam tubuh hewan percobaan dianalisis pada interval waktu 1 sampai dengan 48 jam. Slope grafik waktu terhadap persentase radionuklida yang tertahan di dalam tubuh hewan percobaan merupakan konstanta eliminasi (k_{ef}) dan efisiensi asimilasi (AE) merupakan fraksi ²⁰³Hg⁺ dan CH₃²⁰³Hg⁺ yang tertahan setelah 24 jam

3.3.3. Respon Enzim antioksidan pada proses bioakumulasi

Hewan percobaan dipapar merkuri dan metil merkuri seperti percobaan pada butir 3.2.2.1. Lamanya paparan sesuai dengan kondisi *steady state* yang diperoleh pada percobaan 3.2.2.1. Selanjutnya hewan percobaan siap untuk dianalisis kandungan biomarkernya menggunakan tahapan-tahapan sebagai berikut:

3.2.3.1. Prepasi sampel

Setelah terpajan merkuri dan metil merkuri selama 30 hari, seluruh ikan ditimbang dan di bedah. Bagian hati (liver) dicuci dengan air garam dan sebanyak 0,3 gram bagian yang telah dicuci tersebut dihomogenasi dalam 3 ml 10 mM Tris buffer (pH 7.5) yang mengandung 0,01 M Tris, 0.25 M sucrose, and 0.01 M EDTA. Larutan yang mengandung jaringan hati tersebut selanjutnya disentrifugasi pada suhu 4°C dengan kecepatan 10000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang dihasilkan merupakan larutan enzim dan siap dianalisis kandungan protein serta empat jenis enzim antioksidan.

3.2.3.2. Analisis sampel

Aktivitas enzim CAT ditentukan menggunakan metoda Xu (An *et al.*, 2008). Metoda ini didasari pada reaksi orde satu antara CAT dengan H₂O₂. Sebanyak 10 µl larutan enzim hasil preparasi tersebut di atas ditambahkan 3,0 ml larutan buffer H₂O₂-fosfat dan absorbansi H₂O₂ diukur setiap 5 sampai 60 detik menggunakan spektrofotometer. Larutan buffer H₂O₂-fosfat dibuat melalui pengenceran 0,16 ml H₂O₂ (30% W/V) kedalam 100 ml bufer fosfat (pH 7). Disisi lain bufer fosfat dibuat dengan cara melarutkan 3,522 g KH₂PO₄ and 7,268 g Na₂HPO₄·H₂O ke dalam 1000 ml akuades. Penambahan buffer fosfat juga dilakukan pada larutan enzim yang berasal dari ikan yang dipelihara dalam kondisi normal. Satu unit aktivitas CAT didefinisikan menggunakan persamaan di bawah ini

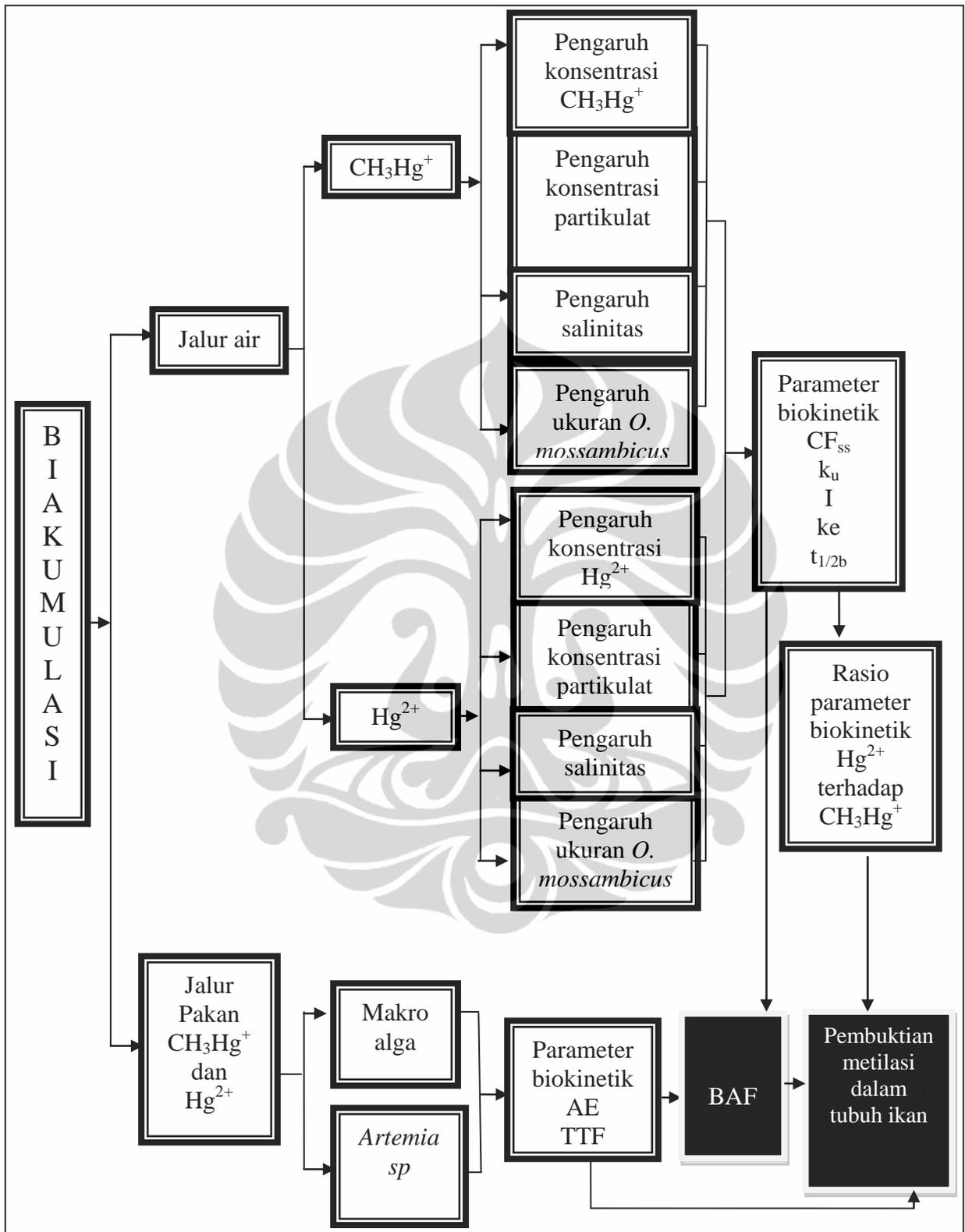
$$1 U = \frac{100K}{\ln 2} \quad (11)$$

Dimana K adalah *slope* kurva ln Absorban pada 250 nm terhadap waktu (t).

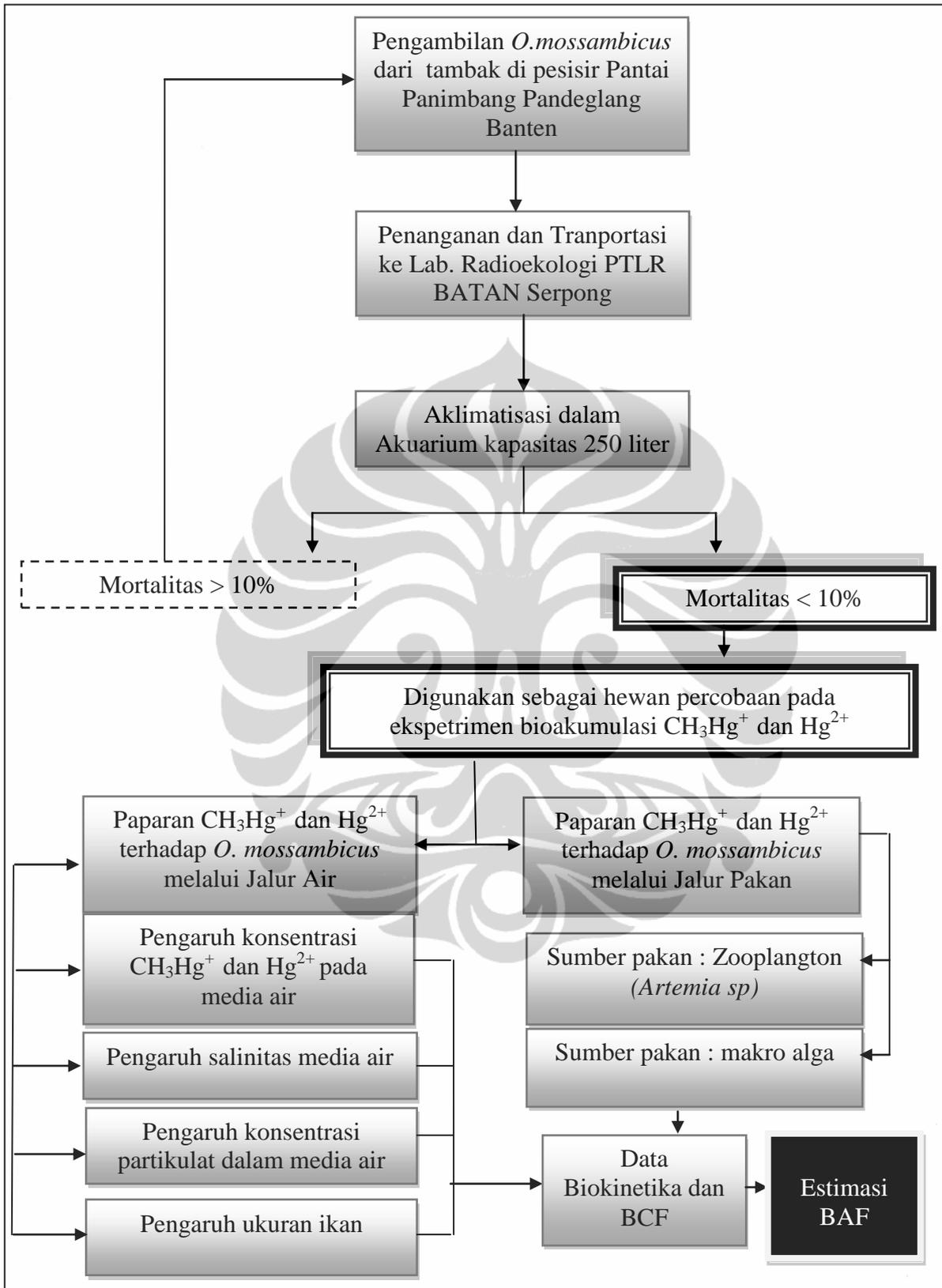
Aktivitas SOD ditentukan menggunakan metode Zhu (An *et al* 2008). Metoda ini didasari oleh inhibisi enzim SOD melalui autooksidasi 1,2,3-benzenetriol. Pertama-tama kecepatan autooksidasi (K_0) 1,2,3-benzenetriol dalam larutan buffer 0,05 M Tris-HCl (pH=8,2) secara spektrofotometri pada panjang gelombang 325 nm. Selanjutnya kecepatan inhibisi autooksidasi SOD (K_{SOD}) diukur melalui penambahan 10 μ l larutan enzim hasil preparasi tersebut di atas pada larutan buffer yang sama. Satu unit aktivitas SOD (U) didefinisikan sebagai kuantitas protein enzim yang digunakan untuk menginhibisi 50% kecepatan autooksidasi 1,2,3 benzenetriol pada suhu 25°C dan dihitung menggunakan persamaan di bawah ini.

$$1 U = \frac{(K_0 - K_{SOD})}{(3,1 \frac{K_0}{2})} \quad (12)$$

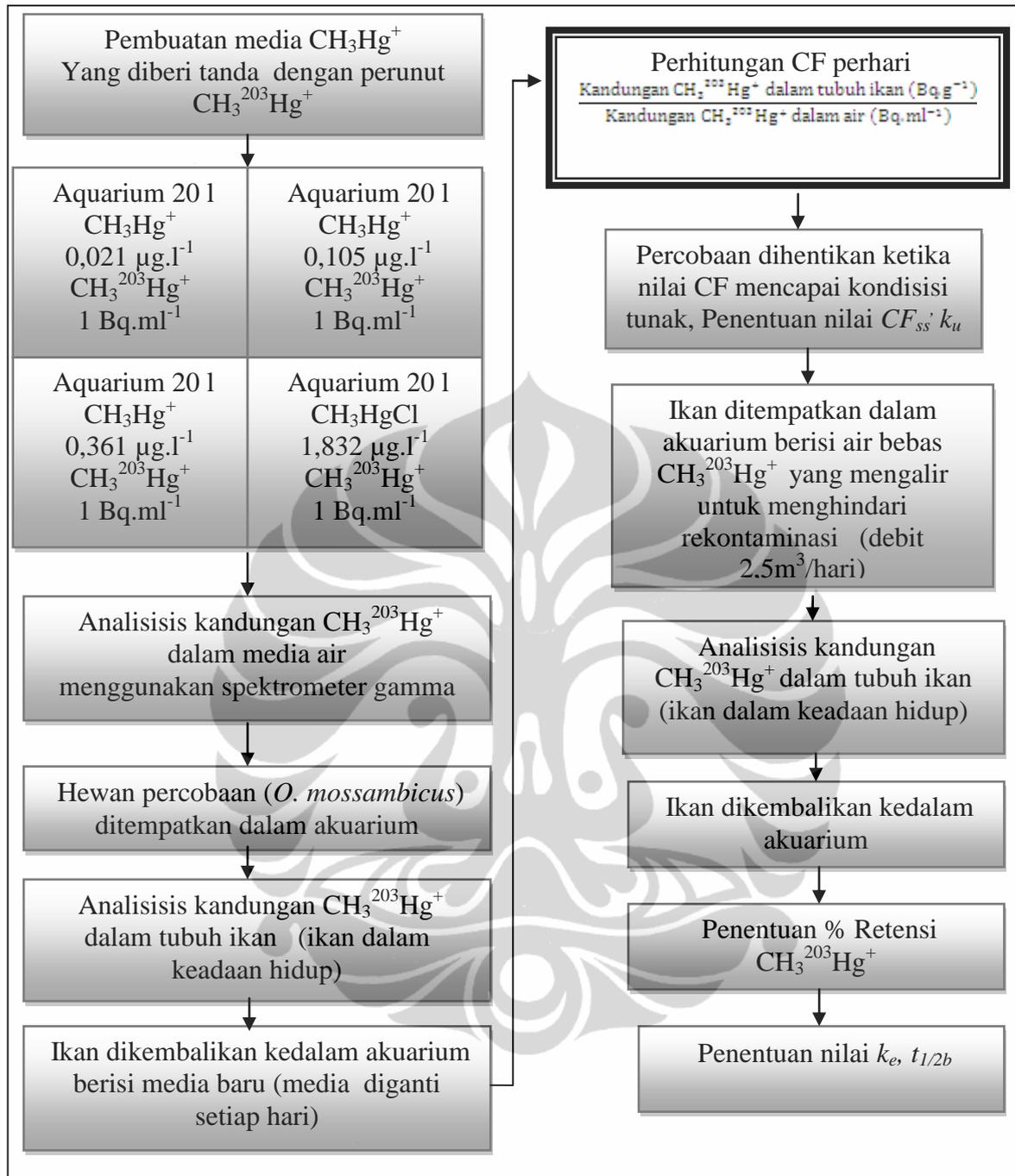
Diagram alir metodologi penelitian ditunjukkan pada Gambar 3.1 sampai dengan 3.10



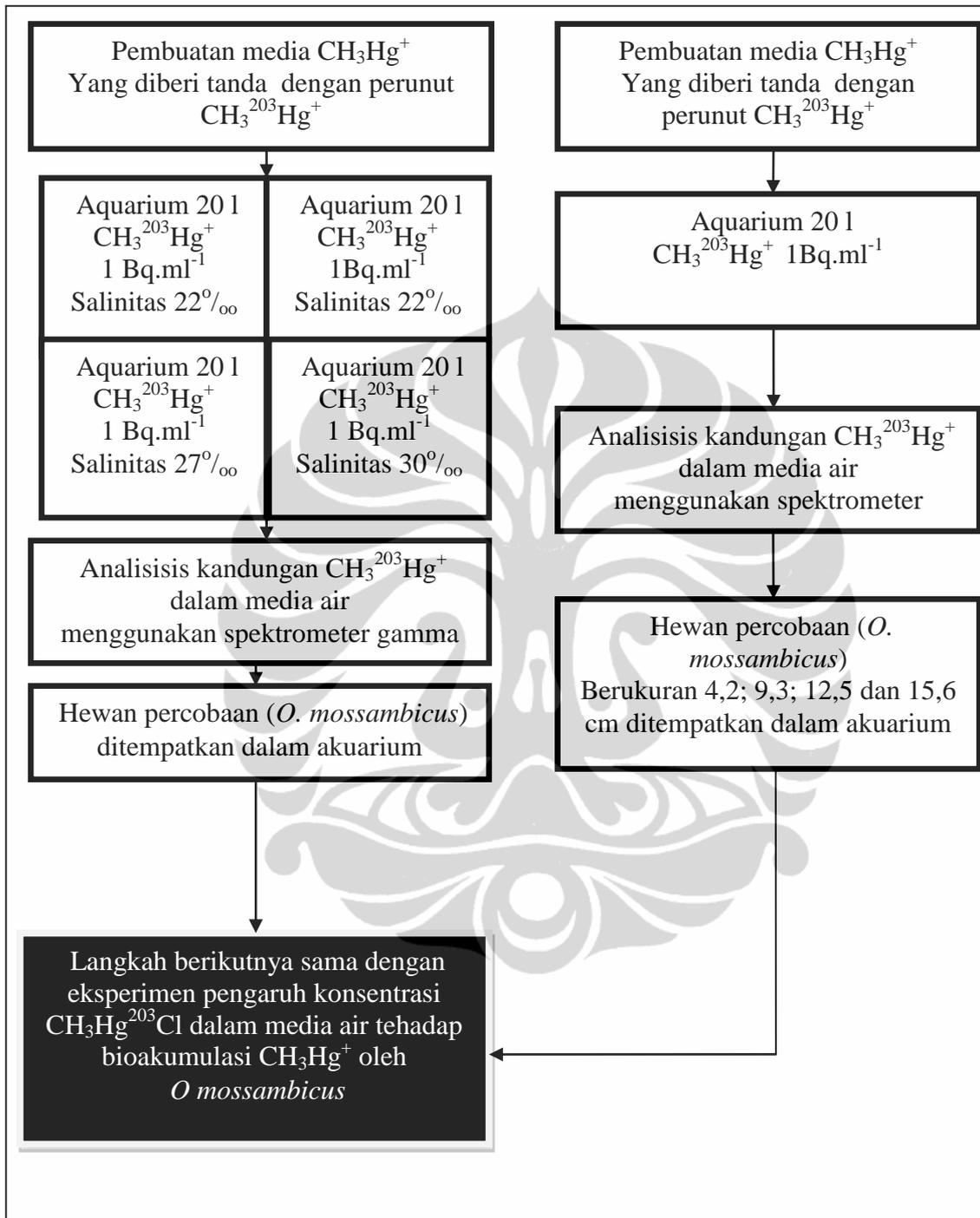
Gambar 3.1. Diagram air penelitian



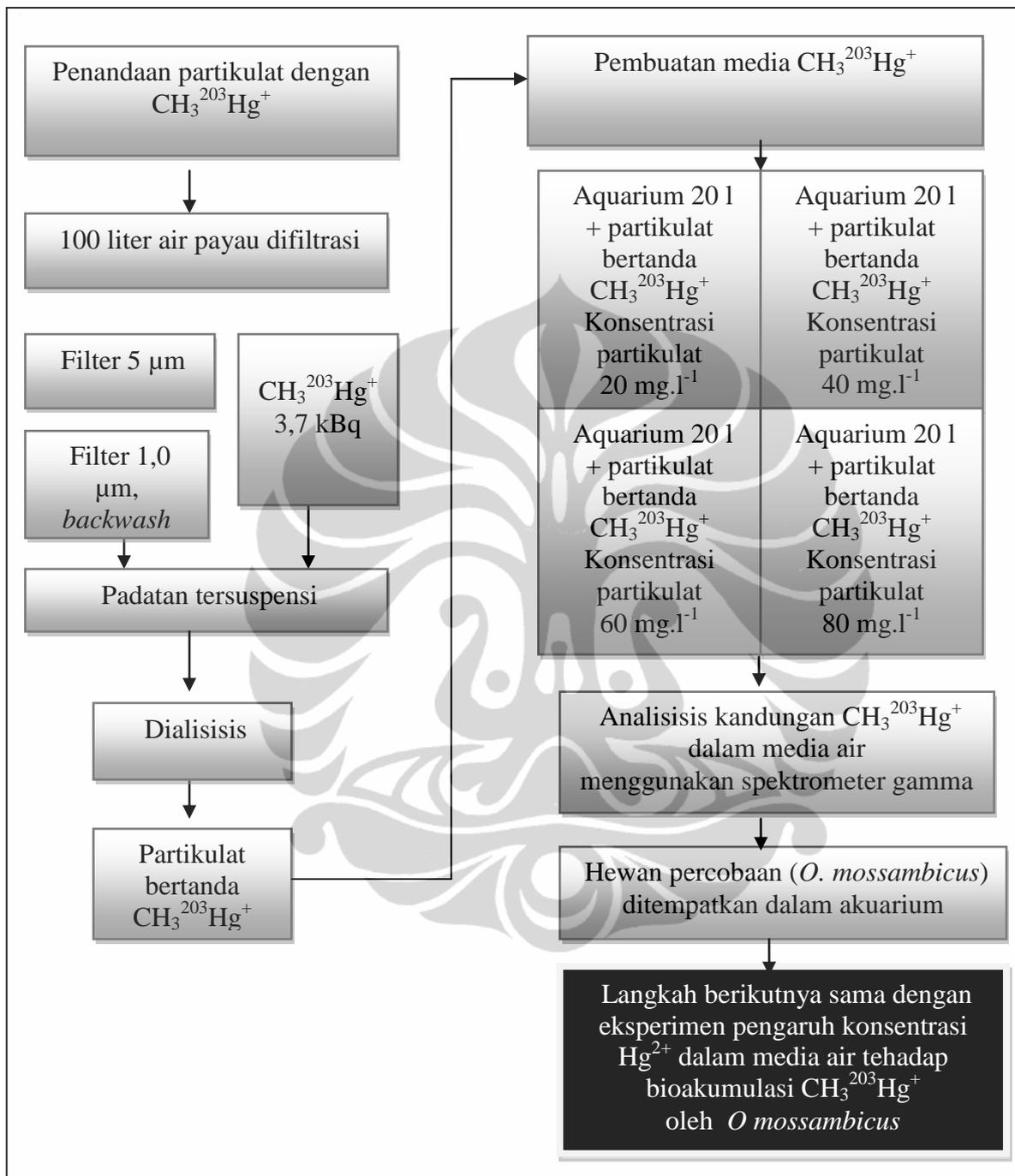
Gambar 3.2. Diagram alir eksperimen bioakumulasi secara keseluruhan



Gambar 3.3. Diagram alir eksperimen pengaruh konsentrasi CH_3Hg^+ proses bioakumulasi

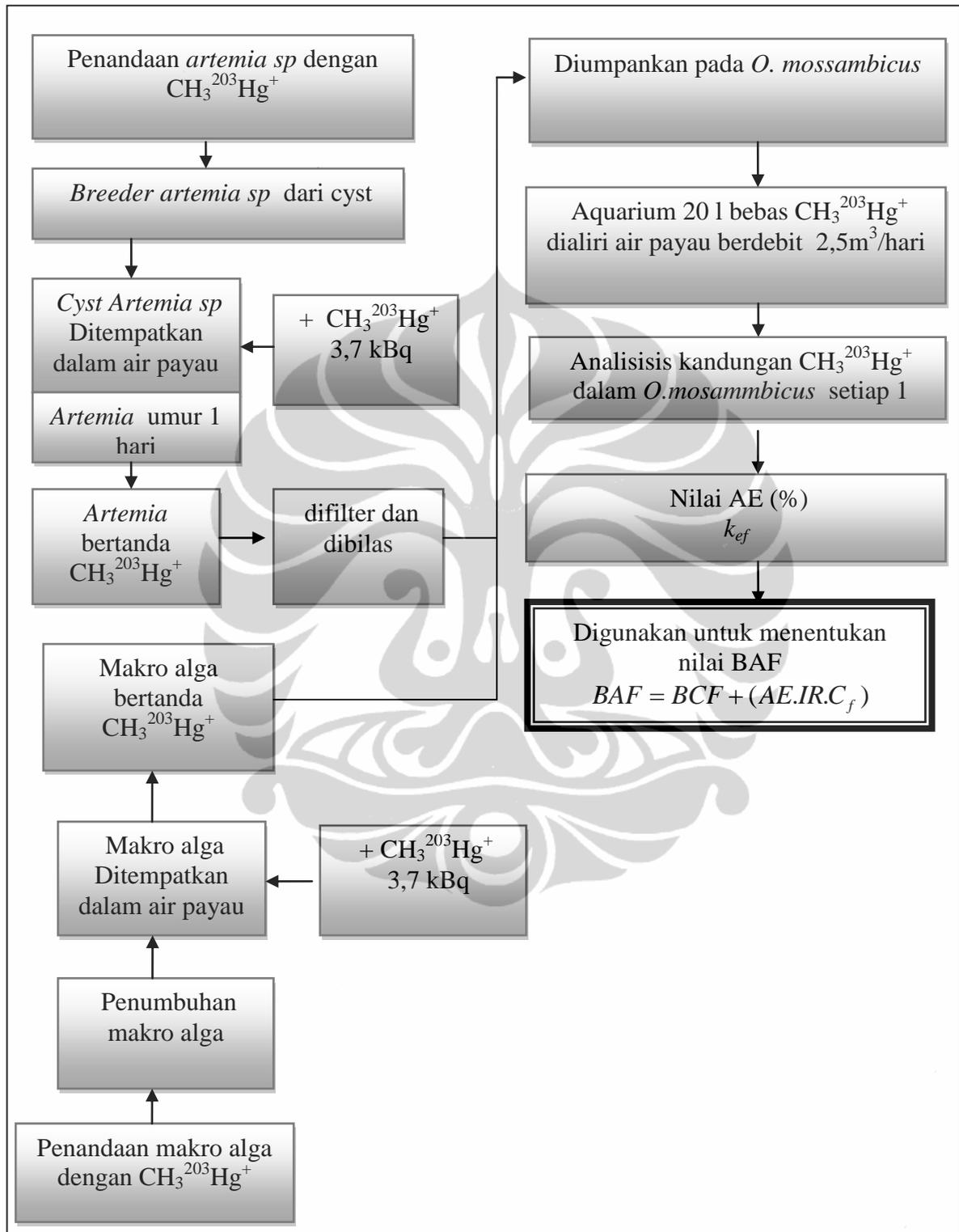


Gambar 3.4. Diagram alir eksperimen pengaruh salinitas dan ukuran pada proses bioakumulasi CH_3Hg^+

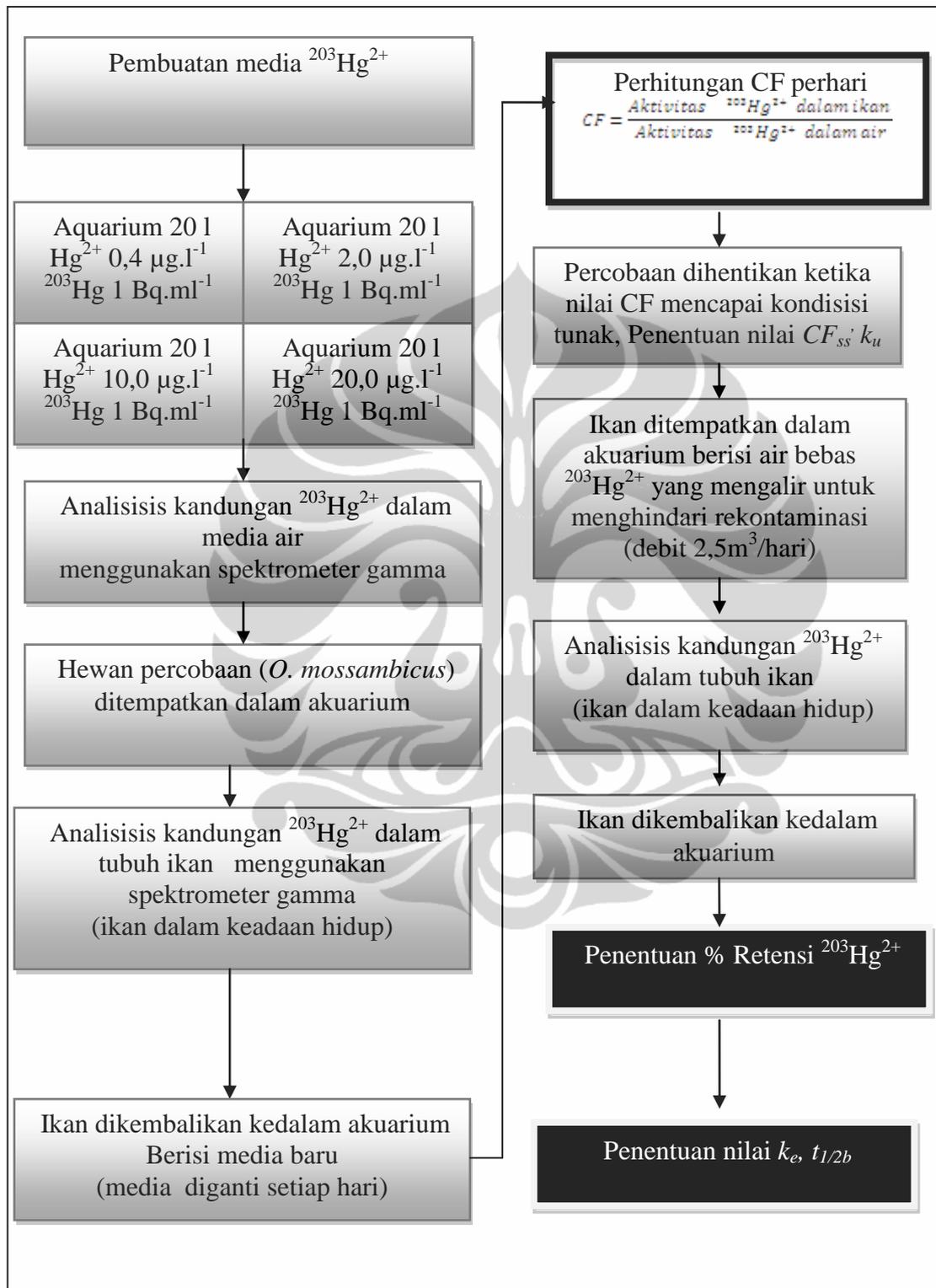


Gambar 3.5. Diagram alir eksperimen pengaruh partikulat pada proses bioakumulasi CH_3Hg^+

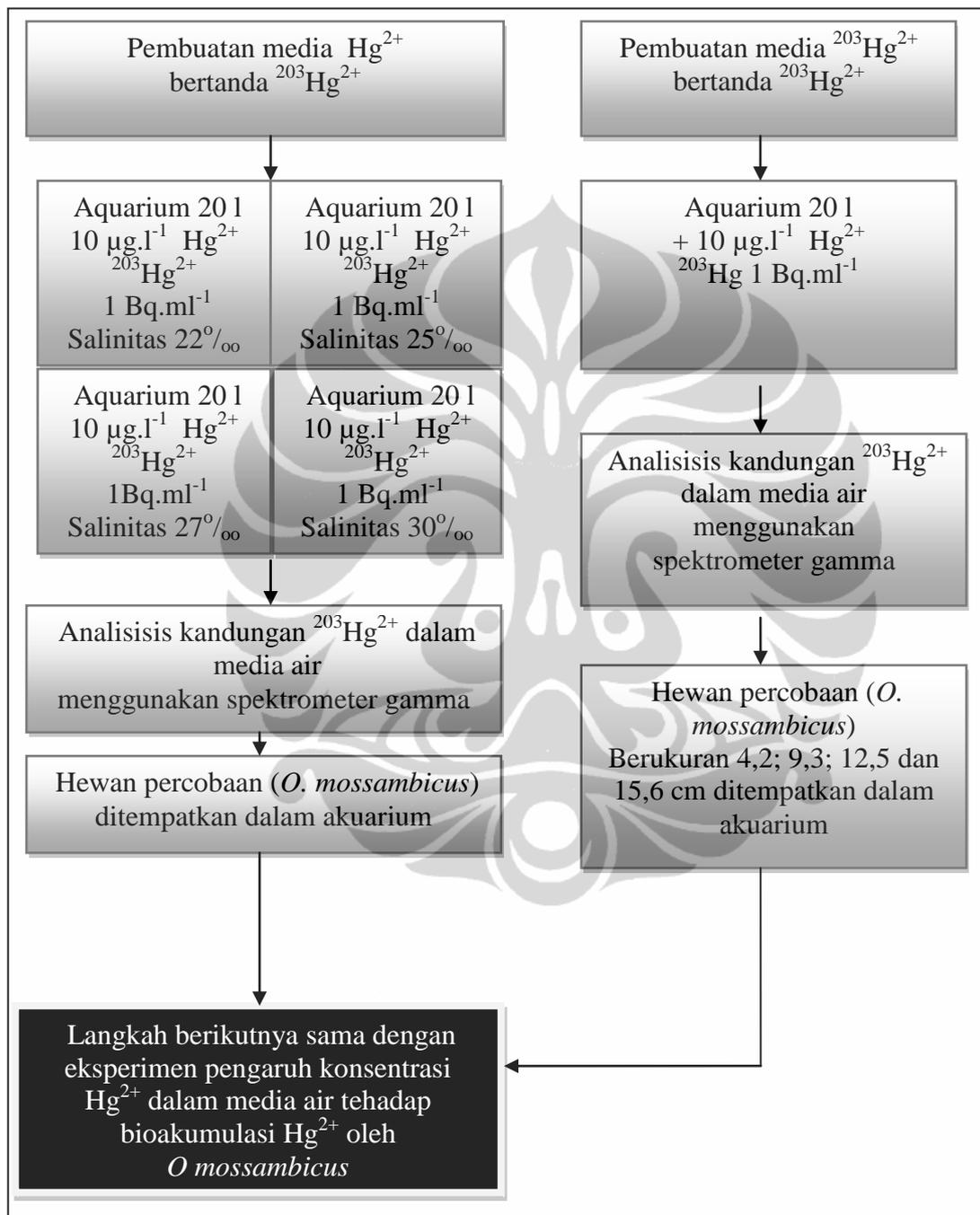
+



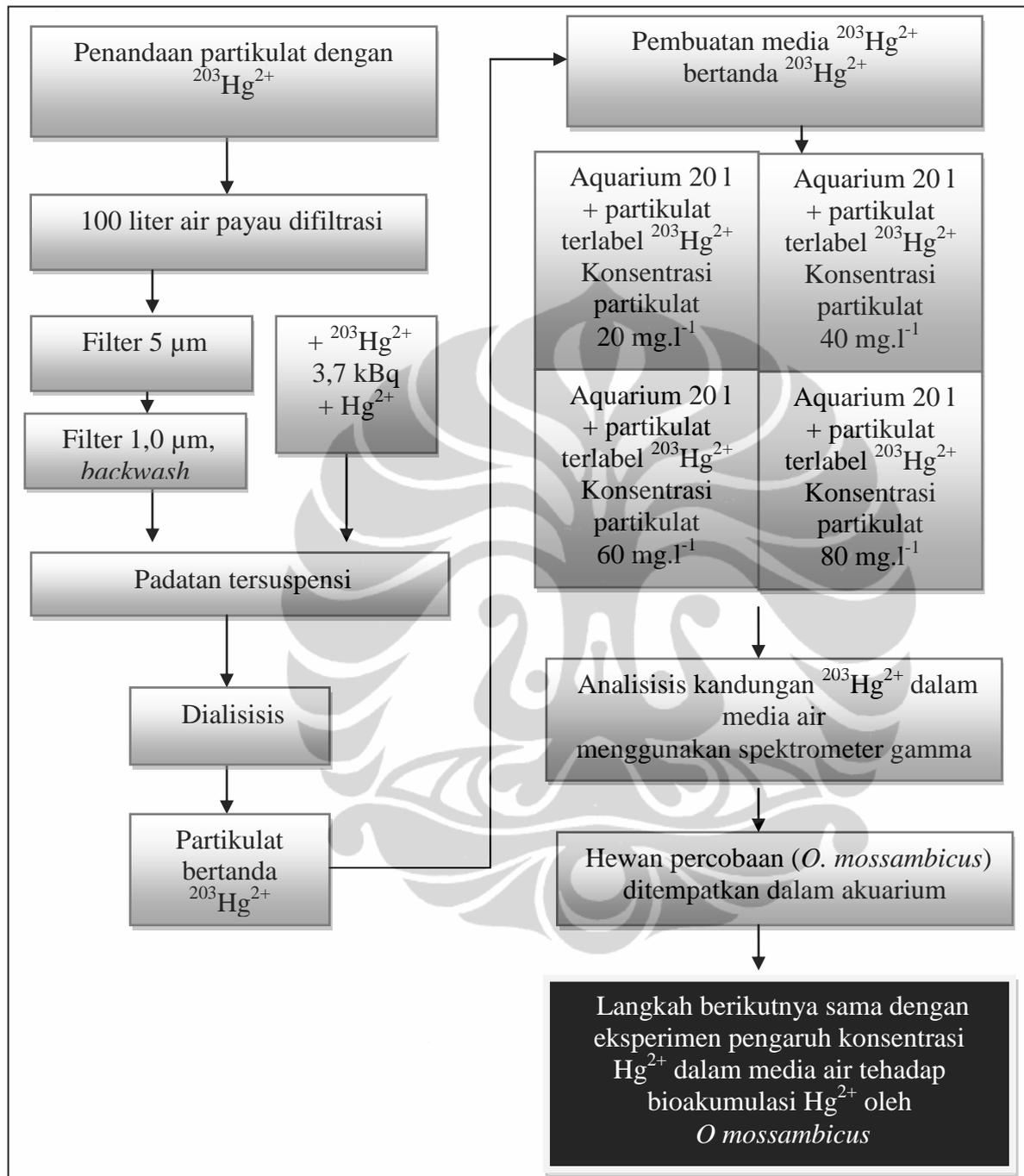
Gambar 3.6. Diagram alir eksperimen proses bioakumulasi CH_3Hg^+ melalui jalur pakan alami



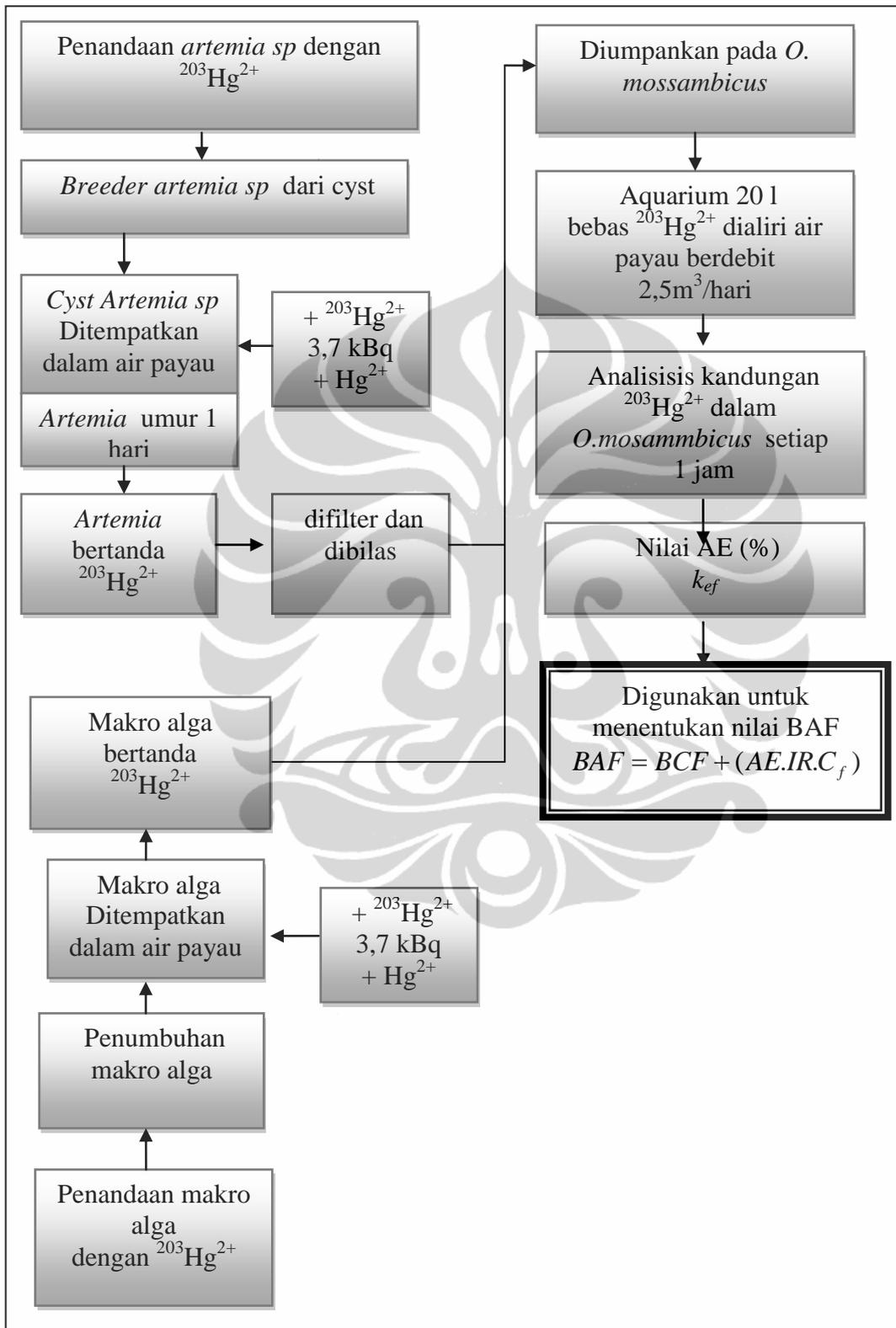
Gambar 3.7. Diagram alir eksperimen pengaruh konsentrasi Hg^{2+} pada proses bioakumulasi



Gambar 3.8. Diagram alir eksperimen pengaruh ukuran dan salinitas pada proses bioakumulasi Hg^{2+}



Gambar 3.9. Diagram alir eksperimen pengaruh partikulat pada proses bioakumulasi Hg^{2+}



Gambar 3.10. Diagram alir eksperimen proses bioakumulasi Hg^{2+} melalui jalur pakan alami

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Bioakumulasi Senyawa Merkuri oleh *O. mossambicus* Melalui jalur Air

Oreocromis mossambicus dibudidayakan pada perairan tawar dan payau karena mempunyai nilai ekonomis dan kemampuannya beradaptasi terhadap perubahan salinitas yang cukup ekstrim serta dapat bertahan pada kondisi kekurangan oksigen (Ishikawa *et al.* 2007). Budidaya ikan tersebut di daerah pesisir terancam oleh berbagai jenis polutan termasuk merkuri. Tingkatan konsentrasi senyawaan merkuri di wilayah pesisir ini sangat tinggi yang diakibatkan oleh inputan dari muara sungai. Pada wilayah pesisir senyawaan merkuri terdeposisi dalam sedimen dan kurang mempunyai bioavailabilitas dibandingkan dengan lingkungan laut tetapi tetap berada dalam rantai makanan lokal dengan derajat yang signifikan (Arcos *et al.* 2002). Tambak tempat budidaya *O. mossambicus* menggunakan air baku dari muara sungai dan pantai yang pada periode tertentu air di dalam tambak diganti. Inputan air baku tersebut menyebabkan senyawaan merkuri masuk ke dalam tambak dan berpotensi terakumulasi oleh *O. mossambicus*.

Bioakumulasi merupakan proses yang kompleks dan dinamis, tetapi dapat dijelaskan melalui model yang dikonstruksi dari hasil eksperimen. Model kompartemen tunggal secara luas paling banyak digunakan untuk beragam spesies perairan. Model kompartemen tunggal memberikan penjelasan matematis kuantitas senyawaan kimia termasuk CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} yang ditentukan oleh laju pengambilan dan pelepasannya (Newman *et al.* 1996). Jalur utama bioakumulasi senyawaan merkuri pada semua jenis ikan (termasuk *O. mossambicus*) adalah melalui pakan (Bank *et al.* 2009). Namun demikian bioakumulasi melalui jalur air memberikan kontribusi yang signifikan terhadap keseluruhan proses bioakumulasi. Senyawaan merkuri dalam medium air langsung diakumulasi melalui insang. Bioakumulasi melalui jalur air merupakan keseimbangan antara 2 mekanisme yaitu: pengambilan dan pelepasan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} dari medium air. Menggunakan perunut radioaktif, model kompartemen tunggal dapat direalisasikan melalui eksperimen secara kontinyu dan terkontrol dengan berbagai

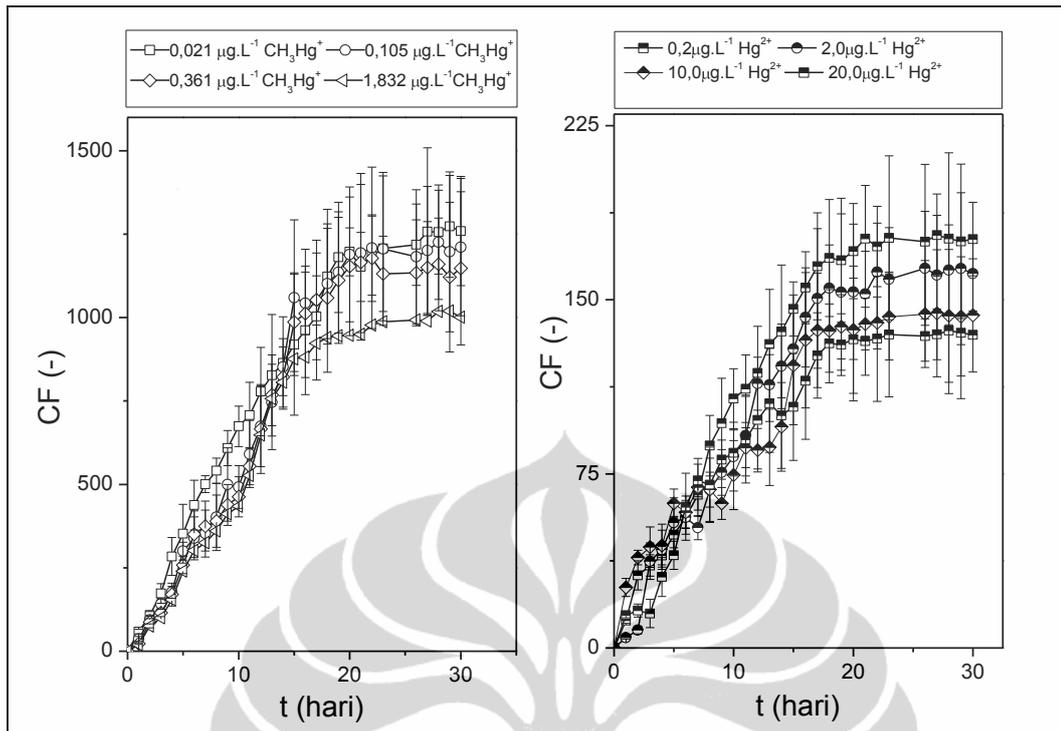
konsentrasi serta simulasi kondisi lingkungan (Fowler *et al.* 2004; Luoma *et al.* 2005).

4.1.1. Bioakumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} pada berbagai gradient konsentrasi

Proses bioakumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} oleh *O. Mossambicus* dari medium air dipengaruhi oleh perubahan konsentrasi kedua senyawaan tersebut. Pada eksperimen ini, *O. mossambicus* disimulasikan berada dalam kondisi lingkungan perairan yang mengandung CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} dengan konsentrasi rendah sampai menengah. Kisaran konsentrasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} yang digunakan adalah seperlimaratus sampai sepersepuluh dari nilai $\text{LC}_{50-96\text{h}}$ pada *O. mossambicus* (Ishikawa *et al.* 2007). Pengaruh perubahan konsentrasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} terhadap kemampuan akumulasi oleh *O. mossambicus* yang direpresentasikan oleh nilai CF ditunjukkan pada Gambar 4.1 dan Lampiran 1 dan 2.

Berdasarkan Gambar 4.1, pada hari pertama sampai kelima, peningkatan konsentrasi CH_3Hg^+ dalam medium air menunjukkan penurunan nilai CF. Peningkatan konsentrasi Hg^{2+} dalam medium air pada periode yang sama, tidak berkorelasi terhadap nilai CF. Jika diasumsikan proses bioakumulasi mirip dengan adsorpsi kontaminan pada permukaan zat padat, seharusnya terdapat korelasi antara kuantitas paparan terhadap nilai CF. Hal ini disebabkan oleh perbedaan mekanisme antara proses bioakumulasi dengan adsorpsi senyawaan kimia dalam medium air oleh zat padat. Proses adsorpsi oleh zat padat didasarkan pada mekanisme interaksi antara lapisan tunggal adsorbat pada lapisan terluar dengan adsorben yang hanya terjadi pada daerah spesifik. Tidak terdapat interaksi antara adsorbat dengan molekul/atom yang diadsorpsi. Peningkatan kuantitas adsorbat menyebabkan adsorpsi mengalami saturasi (Czepirski *et al.* 2000, Velásquez *et al.* 2009). Disisi lain proses bioakumulasi merupakan transport polutan dari medium berkonsentrasi rendah ke bagian dalam sel (Chojnacka *et al.* 2007).

Tahapan pertama bioakumulasi dimulai dari biosorpsi yang tidak melibatkan aktivitas enzimatik. Pada tahapan ini CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} berikatan



(a)

(b)

Gambar 4.1. Pengambilan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} oleh *O. mossambicus* dari medium air (a) kadar CH_3Hg^+ pada kisaran 0,021 - 1,832 $\mu\text{g.L}^{-1}$. (b) kadar Hg^{2+} pada kisaran 0,40 - 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$

secara reversibel di permukaan sel. Kesetimbangan terjadi antara konsentrasi kedua kontaminan tersebut terhadap konsentrasinya di permukaan sel. Adsorpsi sebagian pada kedua kontaminan tersebut mengikuti prinsip-prinsip Langmuier dan berlangsung cepat (beberapa puluh jam).

Tahapan berikutnya adalah CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} berikatan dengan sisi reseptor protein pengangkut. Setelah berikatan dengan protein, CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} diangkut ke dalam membran sel. Setelah berada di dalam membran sel, CH_3Hg^+ atau Hg^{2+} dipindahkan ke dalam sitoplasma atau berikatan dengan protein dan dipindahkan ke berbagai organel untuk akumulasi. Tahapan ini berlangsung lambat dan melibatkan reaksi enzimatik. Kedua tahapan tersebut menimbulkan dampak toksik pada sel. Perbedaan bioakumulasi dengan proses adsorpsi pada benda mati adalah: akumulasi berlangsung jika laju pengambilan lebih besar dibandingkan dengan laju pelepasan dan laju detoksifikasi. Peningkatan konsentrasinya CH_3Hg^+ atau Hg^{2+} di dalam sel akan mengganggu proses metabolisme dan merusak sel (Rainbow, 2007).

Secara keseluruhan, Gambar 4.1 menunjukkan peningkatan konsentrasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} tidak diikuti dengan bertambahnya kemampuan *O. mossambicus* mengakumulasi kedua kontaminan tersebut. Setelah hari ke 30, nilai Faktor Konsentrasi (CF) CH_3Hg^+ berkisar antara 1032,62-1308,46. Kondisi tunak Hg^{2+} tercapai setelah 21 – 23 hari, sehingga pada kondisi tersebut CF Hg^{2+} berkisar antara 137,61-179,72. Hasil eksperimen menunjukkan, pada medium CH_3Hg^+ berkonsentrasi rendah ($0,021 \mu\text{g.L}^{-1}$) nilai CF yang diperoleh 26,71% lebih besar dibandingkan dengan medium CH_3Hg^+ konsentrasi tinggi ($1,832 \mu\text{g.L}^{-1}$). Disisi lain dalam medium Hg^{2+} $0,02 \mu\text{g.L}^{-1}$, *O. mossambicus* mempunyai kemampuan mengakumulasi 30,60% lebih besar dibandingkan jika berada dalam konsentrasi Hg^{2+} $20,0 \mu\text{g.L}^{-1}$.

Perbedaan kemampuan akumulasi senyawaan merkuri di dalam berbagai medium air juga ditemui pada biota perairan lainnya. Sebagai perbandingan, kemampuan akumulasi Hg^{2+} oleh ikan jenis *cyprinid* pada berbagai konsentrasi ($0,1-1,0 \mu\text{g.L}^{-1}$) menunjukkan perbedaan nilai CF sebesar 109,00%. Peningkatan konsentrasi CH_3Hg^+ dalam medium air menyebabkan penurunan kemampuan *cyprinid* mengakumulasi kontaminan tersebut (Mc Geer *et al.* 2003). Ikan jenis salmonid juga menunjukkan kecenderungan yang sama, tetapi pada moluska peningkatan konsentrasi medium justru menurunkan kemampuan bioakumulasi Hg^{2+} (Mc Geer *et al.* 2003).

Pada ikan *Plectorhinchus gibbosuaik* kenaikan konsentrasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} dalam medium air justru diikuti dengan peningkatan nilai kemampuan akumulasi CH_3Hg^+ maupun Hg^{2+} (Wang *et al.* 2003). Pada eksperimen tersebut kemampuan akumulasi direpresentasikan sebagai faktor biokonsentrasi (BCF) yang dihitung menggunakan persamaan (12). Pada eksperimen tersebut nilai BCF dianggap identik dengan nilai CF pada kondisi tunak. Penelitian tersebut dilakukan selama beberapa puluh jam dan kondisi tunak belum tercapai. Nilai BCF CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} pada *P. gibbosuaik* berturut-turut adalah 6794 dan 350000 (Wang *et al.* 2003). Nilai BCF pada ikan *G. affinis* untuk CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} berturut-turut $7,6 \times 10^3$ dan $9,8 \times 10^4$ (Pickhard *et al.* 2006). Mengacu pada Chojnacka *et al.* (2007), eksperimen-eksperimen yang dilakukan selama beberapa jam tidak merepresentasikan proses bioakumulasi dari medium air. Hal

ini karena dalam periode tersebut, proses bioakumulasi masih berada pada tahapan biosorpsi yang tidak melibatkan aktivitas enzimatik. Pada tahapan ini CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} berikatan secara reversibel dipermukaan sel (Chojnacka *et al.* 2007).

Hasil eksperimen yang ditunjukkan oleh Gambar 4.1 membuktikan kemampuan *O. mossambicus* mengakumulasi CH_3Hg^+ lebih besar dibandingkan Hg^{2+} . Nilai CF CH_3Hg^+ menunjukkan perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan nilai CF Hg^{2+} . Setelah berada dalam medium CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} selama 30 hari, kemampuan akumulasi CH_3Hg^+ oleh *O. mossambicus* 7,30 - 7,99 kali lebih besar dibandingkan dengan akumulasi Hg^{2+} . Hal serupa juga ditunjukkan oleh *D. magna* sejenis krustase mengakumulasi CH_3Hg^+ dari medium air 3 - 4 kali dibandingkan Hg^{2+} (Tsui *et al.* 2004). Kemampuan berbagai jenis organisme akuatik termasuk *O. mossambicus* mengakumulasi CH_3Hg^+ disebabkan oleh cepat terdistribusi ke seluruh organ tubuh. Distribusi tersebut dipengaruhi oleh kemampuan sistem pengangkutan (darah) dari insang ke seluruh organ sasaran. Metil merkuri lebih mudah terakumulasi di dalam sel darah merah dibandingkan dengan plasma darah ikan. Sel darah merah selanjutnya akan mendistribusikan CH_3Hg^+ ke seluruh organ tubuh. Metil merkuri juga bersifat lifofilik dan cepat terabsorpsi dari air melalui insang selanjutnya masuk ke dalam plasma darah dan diikat oleh sel darah merah (Schultz *et al.* 1996, Blackmore *et al.* 2004). Disamping sifat lifofilik tersebut, CH_3Hg^+ mempunyai afinitas yang sama dengan Hg^{2+} terhadap gugus tiol yang terkandung dalam biomolekul seperti glutathion (GSH), sistein (Cys), homosistein (Hcys), N-asetilsistein (NAC), metalotionin (MT) dan albumin (Bridges *et al.* 2005; Willis *et al.* 2002)

Pengangkutan metil merkuri melalui membran biologi diatur oleh ikatan yang kuat dengan gugus tiol dan kapasitasnya membentuk spesi netral jika bereaksi dengan Cl^- dan OH^- sehingga dapat terdifusi secara pasif melalui membran seluler. Metil merkuri diangkut melewati membran sel dimediasi oleh glutathion dan ligan-ligan tiol berukuran kecil. Dalam tubuh internal biota, merkuri meniru struktur asam amino, konjugasi (Cys) S metilmerkuri ($\text{CH}_3\text{Hg-S-Cys}$) mirip strukturnya dengan asam amino metionin. Hal serupa ditunjukkan oleh konjugasi S Cys- merkuri anorganik (Cys-S-Hg-S-Cys) dengan asam amino

sistein, konjugasi homosistein (Hcys)S-merkuri anorganik (Hcys-S-Hg-S-Hcy) mirip dengan homo-sistein.

Gambar 4.1 juga menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi baik CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} di dalam medium air mengakibatkan penurunan kemampuan akumulasinya. Hal ini karena CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} merupakan senyawaan *endocrine disruptors* yang mempunyai sifat mengganggu sintesis, sekresi, pengangkutan dan pengikatan atau kerja serta berhentinya hormon-hormon di dalam tubuh yang berfungsi untuk mempertahankan *homeostasis* (dalam sel normal), reproduksi, perkembangan dan atau perilaku (Alvare *et al.* 2006).

Internalisasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} dari air ke dalam tubuh ikan dimulai melalui insang. Air dan darah memasuki insang dengan arah yang berlawanan dan memfasilitasi pertukaran gas dan mempertahankan osmosis homeostatis. Selama respirasi berlangsung, ion CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} yang terkandung di dalam air masuk ke jaringan internal ikan melalui epitel insang. Insang bertindak sebagai antarmuka selektif antara lingkungan internal dan lingkungan luar (Carvalho *et al.* 1999 dan Bank *et al.* 2005). Insang juga sangat penting untuk osmolit, regulasi asam basa dan pengambilan ion melawan kehilangan ion akibat difusi. Adsorpsi zat-zat tertentu dari lingkungan eksternal dan sekresi produk-produk katabolik juga melalui filamen insang. Epitelium insang dilapisi oleh sisi ikatan yang bermuatan negatif yang terdiri dari fosfat, karboksil, amino dan gugus sulfat. Ion CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} diikat oleh sisi ikatan negatif tersebut kemudian diinternalisasi melalui difusi pasif pada lubang-lubang hidrat dan melalui mekanisme mediasi transportasi (Carvalho *et al.* 1999).

Pada insang terdapat sel klorida atau yang dikenal dengan sel yang kaya akan mitokondria (Kosztowny *et al.* 2008). Sel klorida tersebut mengatur fluks ion antara biota dan lingkungan sekitar. Sel klorida merupakan sisi aktif dimana ion dipompakan ke dalam sel dari luar tubuh. Energi untuk aktivitas ini diperoleh dari ATP yang dikonversikan menjadi ADP untuk mentransfer ion Na^+ dari sel dan K^+ dari luar sel.

Aktivitas enzim Na^+K^+ -ATPase meningkat dalam sel insang ketika berada dalam lingkungan bersalinitas tinggi (Kosztowny *et al.* 2008). Gradient konsentrasi logam yang masuk dipertahankan secara pasif melalui afinitas tinggi

dari pengikatan antar sel. Gradient konsentrasi logam lainnya membutuhkan energi untuk berikatan dengan membran. Ion Na^+ dan K^+ tidak mempunyai afinitas yang tinggi pada protein pengompleks dan tetap dalam bentuk ion. Enzim $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ pada membrane sel insang menjaga konsentrasi Na^+ intraseluler tetap rendah sehingga Na^+ dapat masuk ke dalam sel insang melalui kanal sodium (*sodium channel*). Demikian halnya dengan pengambilan Ca^{2+} melalui kanal kalsium dipertahankan melalui pemompaan ion Ca^{2+} keluar (Rainbow *et al.* 2007).

Senyawaan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} masuk ke dalam insang dari air melalui kanal sodium yang dipicu oleh gradient elektrik yang difasilitasi oleh enzim H^+ATPase . Selanjutnya senyawaan merkuri terakumulasi sementara di dalam insang untuk masuk ke dalam jaringan tubuh lainnya. Tahapan akhir, CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} diangkut melalui sepanjang membran basolateral insang masuk ke dalam darah (Morgan *et al.* 2004). Enzim $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ yang terdapat pada membran basolateral sel insang merespon zat toksik (termasuk merkuri). Enzim ini berfungsi untuk memindahkan ion Na^+ dalam pergantian ion K^+ sepanjang membran basolateral ke dalam cairan intraseluler. Paparan Hg^{2+} menghambat aktivitas enzim ini sehingga pengambilan Na^+ dan Cl^- pada insang mengalami gangguan. Gangguan pengaturan ion menyebabkan kematian pada ikan.

Berdasarkan uraian di atas, insang merupakan organ pertama yang bersentuhan dalam proses akumulasi melalui jalur air. Kemampuan insang mentoleransi keberadaan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} merupakan tahapan penting dalam proses akumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} melalui jalur air. Inhibisi enzim-enzim yang bekerja pada insang secara umum dipandang sebagai efek kritis yang menyebabkan kematian. Inhibisi enzim-enzim ini disebabkan oleh peningkatan pengambilan CH_3Hg^+ maupun Hg^{2+} dari medium air. Inhibisi enzim ATP-ase dan mortalitas tergantung pada dosis dan lamanya paparan terhadap *O. mossambicus*. Peningkatan konsentrasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} menyebabkan kerusakan insang dan berakibat pada kegagalan atau gangguan pengaturan ostomik. Efek toksik yang dihasilkan oleh merkuri adalah mengurangi ion-ion dalam darah, meningkatkan permeabilitas ion dengan menggantikan Ca^{2+} dari kanal paraselular dan menginhibisi enzim $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$ serta karbonil anhidrase. Disisi lain biota

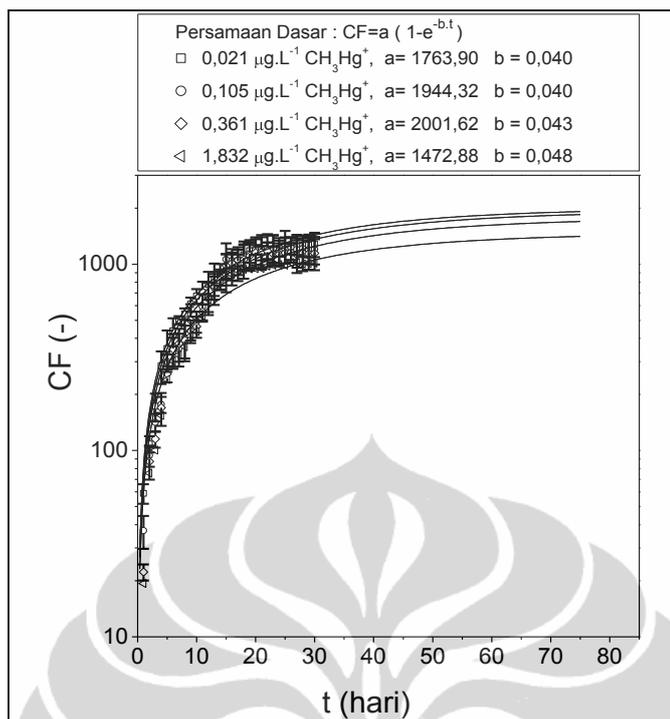
juga mempunyai kemampuan mentoleransi kontaminan (termasuk Hg^{2+} dan CH_3Hg^+) sampai batasan konsentrasi subletalnya ($C_{L,50}$) (Yap *et al.* 2007). Nilai $C_{L,50}$ tercapai ketika konsentrasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} dalam tubuh mencapai kesetimbangan dengan konsentrasinya di dalam air.

4.1.1.1. Prediksi Bioakumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} Melalui Jalur Air

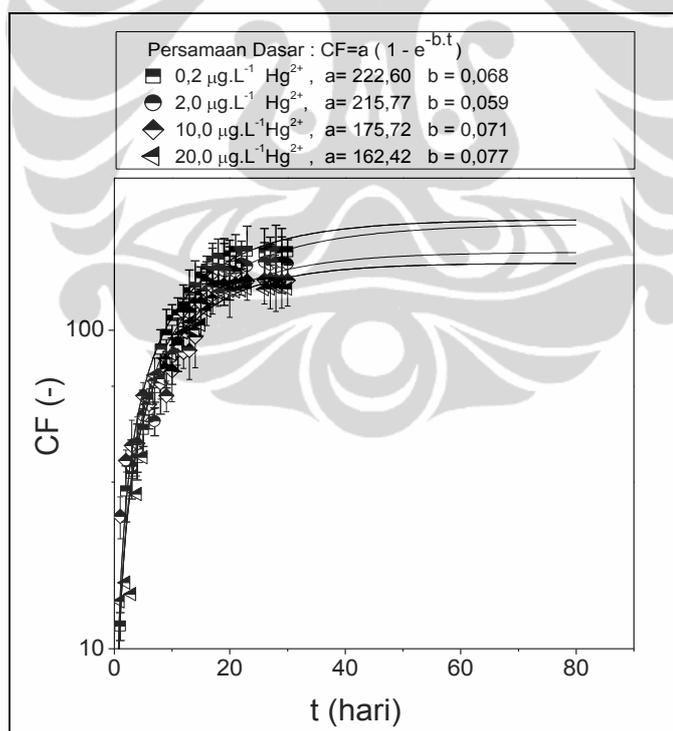
Perbandingan antara hasil eksperimen dan prediksi proses akumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} oleh *O. mossambicus* pada beberapa kisaran konsentrasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} ditunjukkan oleh Gambar 4.2. Mengacu pada Gambar 4.2, kondisi tunak akumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} tidak dicapai dalam waktu yang bersamaan. Hasil eksperimen menunjukkan bahwa kondisi tunak dalam medium CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} tercapai berturut-turut setelah 29 – 30 hari dan 21 – 23 hari.

Berdasarkan hasil eksperimen, nilai CF_{ss} CH_3Hg^+ adalah 1308,46; 1217,65; 1286,02; dan 1032,62 berturut-turut setelah terpapar dalam medium yang mengandung CH_3Hg^+ 0,021; 0,105; 0,361 dan $1,832\mu\text{g.L}^{-1}$. Hasil kali CF_{ss} dengan konsentrasi CH_3Hg^+ dalam medium air merupakan kandungan CH_3Hg^+ dalam tubuh *O. mossambicus*. Berdasarkan hasil perhitungan, kandungan CH_3Hg^+ dalam *O. mossambicus* berkisar antara $0,03 - 1,86\mu\text{g.g}^{-1}$. Laju akumulasi $0,0007 - 0,0570\mu\text{g.g}^{-1}.\text{hari}^{-1}$. Nilai CF_{ss} Hg^{2+} setelah terpapar medium Hg^{2+} 0,4; 02; 10,0 dan $20,0\mu\text{g.L}^{-1}$ berturut-turut adalah 179,72; 165,03; 145,40 dan 137,61. Menggunakan metoda perhitungan yang sama maka konsentrasinya di dalam *O. mossambicus* sebesar $0,07 - 2,70\mu\text{g.g}^{-1}$. Laju akumulasi Hg^{2+} $0,0022 - 0,0382\mu\text{g.g}^{-1}.\text{hari}^{-1}$. Rekapitulasi hasil perhitungan ditunjukkan pada lampiran 9.

Estimasi kondisi tunak berdasarkan *fitting* persamaan non linier dan hasil yang diperoleh berbeda dengan hasil eksperimen. Estimasi kondisi tunak CH_3Hg^+ berdasarkan prediksi persamaan non linier dicapai setelah 72 hari dan estimasi CF_{ss} berturut-turut sebesar 1763,90; 1944,32; 2001,92 dan 1472,88. Hal serupa ditunjukkan oleh bioakumulasi Hg^{2+} , estimasi kondisi tunak berdasarkan prediksi persamaan non linier dicapai setelah 68 hari dan estimasi CF berturut-turut sebesar 222,60; 215,77; 175,72 dan 162,42.



(a)



(b)

Gambar 4.2 Pengambilan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} oleh *O. mossambicus* dari medium air pada berbagai kadar. (a) 0,021 – 1,832 $\mu\text{g.L}^{-1}$ CH_3Hg^+ ; 0,2 $\mu\text{g.L}^{-1}$ Hg^{2+} (b) 0,2 – 10,0 $\mu\text{g.L}^{-1}$ Hg^{2+}

Menurut rekomendasi IAEA, nilai CF Hg^{2+} secara umum untuk seluruh ikan adalah 3×10^4 (IAEA, 2004). Nilai tersebut berbeda dengan eksperimen ini maupun berbagai eksperimen yang telah dilakukan oleh peneliti lainnya. Perbandingan nilai CF ditunjukkan pada Tabel 1. Mengacu pada berbagai hasil eksperimen tersebut, nilai CF CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} sangat bervariasi dan pada kisaran yang lebar. Perbedaan ini disebabkan oleh jenis biota serta kondisi lingkungan akuatik dan metoda yang digunakan dalam percobaan yang tidak sama. Sebagai contoh, nilai CF CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} *O. mossambicus* jauh kecil dibandingkan dengan nilai CF *O. notilicus* (Wang *et al.* 2010). Namun demikian hasil penelitian tersebut tidak dapat dibandingkan secara proporsional karena eksperimen dilakukan pada konsentrasi yang sangat rendah ($3,3-100 \text{ ng.l}^{-1} Hg^{2+}$ dan $1,1 - 130 \text{ ng.l}^{-1} CH_3Hg^+$) dan waktu yang sangat singkat (8 jam).

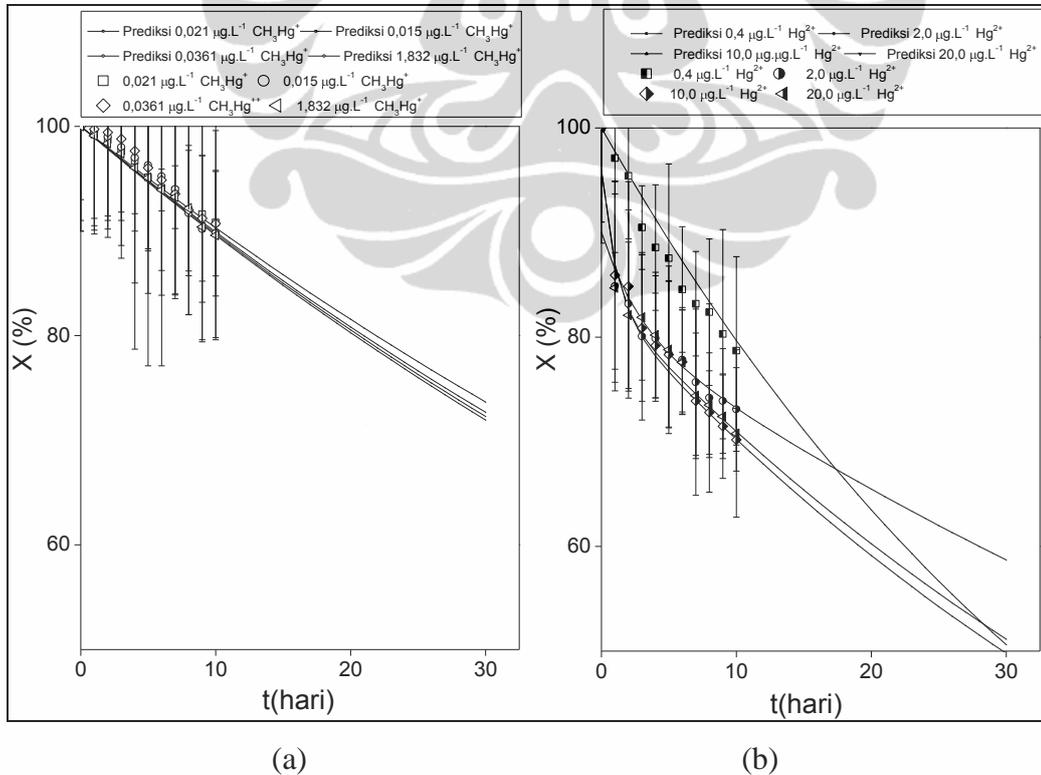
Berbagai spesies biota akuatik mempunyai perbedaan kemampuan mengakumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} . Hal ini disebabkan oleh sistem pengaturan logam (termasuk merkuri) di dalam tubuh berbagai spesies tersebut tidak sama (Lauma *et al.* 2006). Perbedaan ini dimulai dari kemampuan adsorpsi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} ke dinding sel selanjutnya melewati membran sel sampai dengan detoksifikasi keluar sel (Vijver, 2005). Internalisasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} dari medium air ke dalam tubuh tergantung dari kemampuan sel insang masing-masing biota mentransportasikan ke dalam sel darah merah.

Tabel 4.1. Nilai estimasi CF CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} hasil eksperimen bioakumulasi melalui jalur air pada berbagai biota

Biota	CF		Acuan
	CH_3Hg^+	Hg^{2+}	
<i>O. mossambicus</i>	1472,88 – 2001,92	162,42 – 222,60	Penelitian ini
Seluruh ikan	5000 – 500000	30000	IAEA, 2004
<i>P. maximus</i>	-	228	Metian <i>et al.</i> , 2008
<i>P. gibbosuaik</i>	350000	6794	Wang <i>et al.</i> 2003
<i>S. officinalis</i>	-	480	Lacoue-Labarte <i>et al.</i> 2009
<i>G. affinis</i>	520000	62000	Pichardt <i>et al.</i> 2006
<i>L. microlophus</i>	2140000	81000	Pichardt <i>et al.</i> 2006
<i>O. nitolicus</i>	2205	66000	Wang <i>et al.</i> 2010

Tahapan berikutnya adalah CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} didistribusikan ke seluruh organ tubuh biota dan sebagian lagi diekresikan. Sistein merupakan protein yang kaya akan gugus sulfhidril berperan dalam proses pengambilan dan distribusi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} . Metalotionin adalah protein berbobot molekul rendah, kaya akan gugus sulfhidril berperan mengekresikan Hg^{2+} keluar tubuh biota (Otsuka, 2001). Glutation yang juga kaya akan gugus sulfhidril berperan mengeluarkan CH_3Hg^+ (Guzzi *et al.* 2008). Berdasarkan penjelasan di atas, maka berbagai jenis spesies memiliki perbedaan kemampuan sintesis sistein, metalotionin dan glutathion yang berperan dalam proses pengambilan, pelepasan dan akumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} .

Pelepasan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} dari dalam tubuh *O. mossambicus* setelah terpapar kedua kontaminan tersebut selama 30 hari ditunjukkan pada Gambar 4.3. Mengacu pada Gambar 4.3, mekanisme pelepasan CH_3Hg^+ melalui satu tahapan. Disisi lain mekanisme pelepasan Hg^{2+} melalui 1 tahapan dan 2 tahapan (laju lambat dan cepat). Konstanta laju pelepasan cepat Hg^{2+} berkisar antara $0,030 - 0,061 \text{ hari}^{-1}$. Laju pelepasan lambat berkisar antara $0,014 - 0,018 \text{ hari}^{-1}$.



Gambar 4.3. Pelepasan Hg dari tubuh *O. Mossambicus* setelah terpapar berbagai konsentrasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} selama 30 hari.

Perkiraan pelepasan Hg^{2+} setelah terpapar oleh medium Hg^{2+} 2,0; 10,0 dan 20,0 $\mu g.l^{-1}$ adalah:

$$A_t = 81,41e^{-0,011.t} + 8,61e^{-0,370.t}$$

$$A_t = 83,44e^{-0,017.t} + 12,57e^{-0,933.t}$$

$$A_t = 83,64e^{-0,016.t} + 12,33e^{-0,994.t}$$

Untuk memprediksi kemampuan bioakumulasi merkuri laju pelepasan dihitung hanya satu tahapan (Wang *et al.* 2010, Lacoue-Labarthe *et al.* 2010 dan Wang *et al.*, 2003). Menggunakan metode perhitungan tersebut, maka konstanta laju pelepasan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} dari tubuh *O. mossambicus* masing-masing sebesar 0,010 – 0,011 hari⁻¹ dan 0,027 – 0,024 hari⁻¹. Sebagai perbandingan, laju pelepasan berbagai jenis ikan ditunjukkan pada Tabel 2. Berdasarkan data tersebut maka CH_3Hg^+ ditahan 2,13 - 2,16 kali lebih lama dalam tubuh *O. mossambicus* dibandingkan dengan Hg^{2+} . Sebagai perbandingan, ikan *G. affinis* menahan CH_3Hg^+ 1,17 kali lebih lama dibandingkan Hg^{2+} (Pickhard *et al.* 2006). Ikan *L. microlophus* menahan CH_3Hg^+ 1,43 - 1,67 kali lebih lama dibandingkan Hg^{2+} (Pickhard *et al.* 2006). Ikan *O. niloticus* menahan CH_3Hg^+ 7,2 kali lebih lama dibandingkan Hg^{2+} (Wang *et al.* 2010). *Oreochromis mossambicus* menahan CH_3Hg^+ lebih lama dibandingkan Hg^{2+} karena jalur pelepasannya terdiri dari berbagai mekanisme.

Jalur utama pelepasan CH_3Hg^+ melalui biotransformasi menjadi bentuk anorganik untuk selanjutnya diekresikan sebagai ion Hg^{2+} . Jalur lainnya adalah

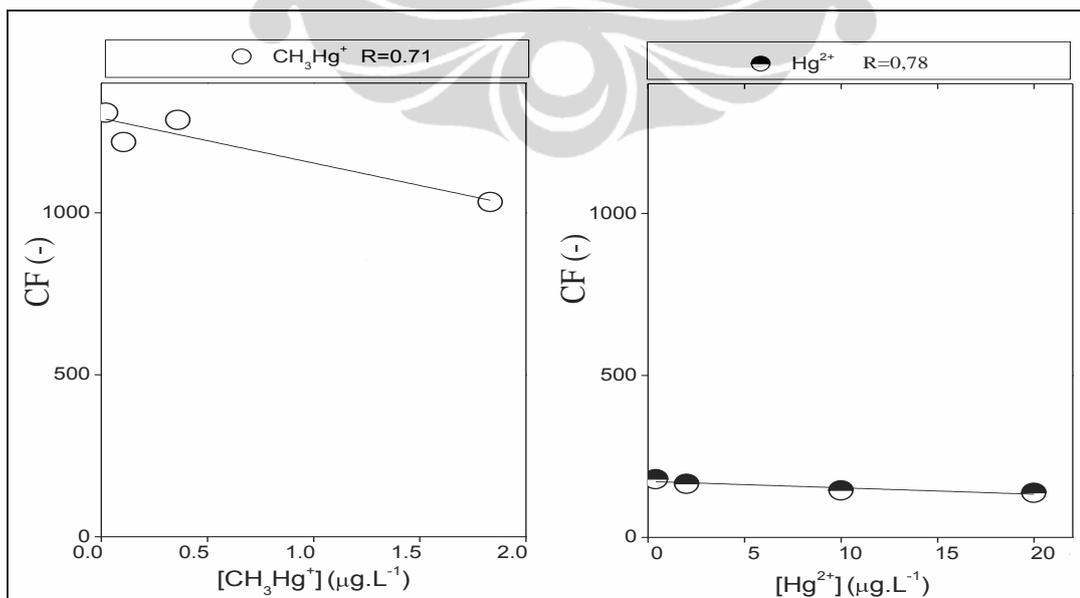
Tabel 2. Nilai estimasi k_e CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} hasil eksperimen bioakumulasi melalui jalur air

Biota	k_e (hari ⁻¹)		Acuan
	Hg^{2+}	CH_3Hg^+	
<i>O. mossambicus</i>	0,027 – 0,024	0,016 - 0,011	Penelitian ini
<i>P. maximus</i>	-	0,043	Metial <i>et al.</i> , 2008
<i>P. gibbosuaik</i>	0,029 – 0,072	0,010 - 0,011	Wang <i>et al.</i> , 2003
<i>S. officinalis</i>	-	0,041	Lacoue-Labarte <i>et al.</i> , 2009
<i>G. affinis</i>	0,018 – 0,019	0,015 – 0,016	Pichardt <i>et al.</i> , 2006
<i>L. microlophus</i>	0,030 – 0,035	0,021	Pichardt <i>et al.</i> , 2006
<i>O. niloticus</i>	0,039	0,055	Wang <i>et al.</i> , 2010

sekresi CH_3Hg^+ ke dalam empedu dan berikatan dengan berbagai macam senyawaan sulfhidril nonprotein. Sebagai tambahan pelepasan CH_3Hg^+ juga dapat melalui sistem pernafasan. Metil merkuri bersifat lipofilik dan cepat diserap insang dari medium air. Ultrafiltrasi atau fraksi CH_3Hg^+ yang tidak terikat oleh darah merah dan tetap berada dalam plasma darah dapat dipindahkan kembali ke dalam insang dan selanjutnya diekskresikan keluar tubuh (Schulz *et al.* 1997).

4.1.1.2. Pengaruh Konsentrasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} Terhadap Faktor Konsentrasi, Laju Pengambilan, Influk dan Laju Pelepasan

Pengaruh konsentrasi medium air terhadap nilai CF CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} ditunjukkan pada Gambar 4.4. Mengacu pada Gambar 4.4, mengindikasikan bahwa peningkatan konsentrasi CH_3Hg^+ maupun Hg^{2+} menurunkan kemampuan *O. mossambicus* mengakumulasi kedua senyawaan tersebut. Nilai CF_{ss} *O. mossambicus* di dalam medium CH_3Hg^+ $1,832 \mu\text{g.L}^{-1}$ adalah sebesar 78,99% dibandingkan bila terpapar CH_3Hg^+ $0,021 \mu\text{g.L}^{-1}$. Nilai CF *O. mossambicus* di dalam medium Hg^{2+} $20,0 \mu\text{g.L}^{-1}$ (sepersepuluh dari LC_{50} pada ikan) adalah sebesar 72,97% dibandingkan dengan bila terpapar medium Hg^{2+} $0,4 \mu\text{g.L}^{-1}$. Peningkatan konsentrasi kedua senyawaan tersebut dalam medium air mengarah



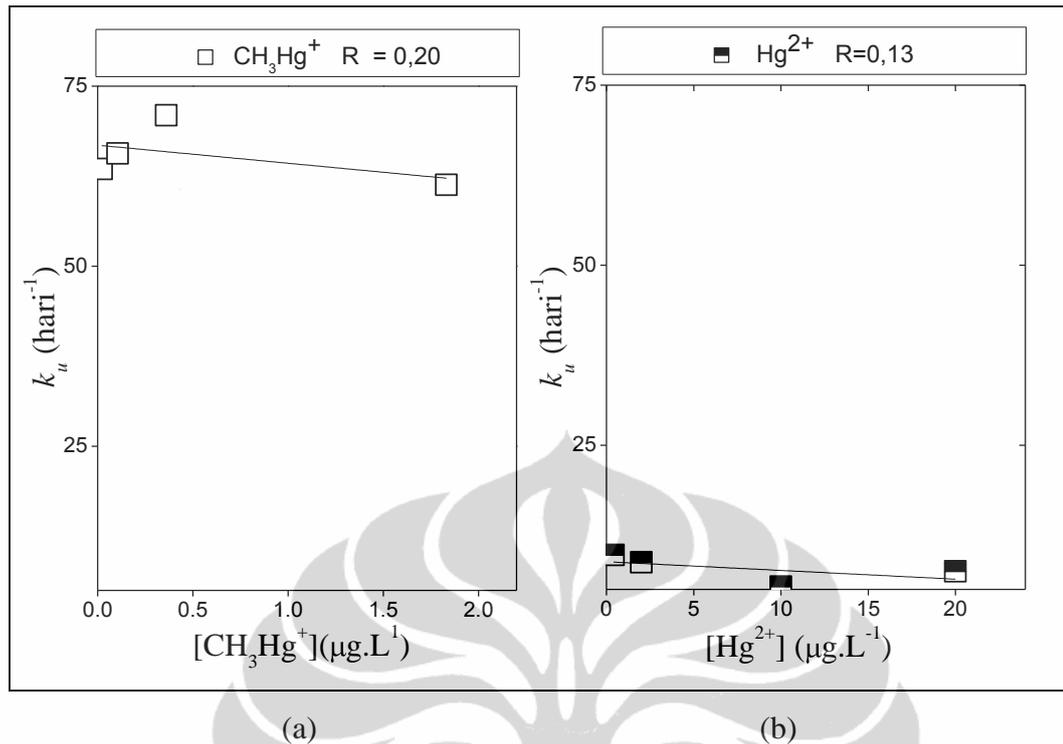
Gambar 4.4. Pengaruh konsentrasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} di dalam medium air terhadap kemampuan bioakumulasinya oleh *O. mossambicus*

pada LC_{50} yang akan menimbulkan efek toksik terhadap *O. mossambicus* (Liao *et.al*, 2003). Nilai LC_{50} pada ikan adalah ukuran kerentanan dan potensi kelangsungan hidup ikan terhadap zat-zat toksik termasuk CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} . *Oreochromiss mosammbicus* mempunyai kemampuan mengatur konsentrasi logam pada tubuh melalui kombinasi mekanisme absorpsi, ekskresi detoksifikasi dan penyimpanan.

Laju pengambilan logam pada setiap biota adalah spesifik dan bergantung pada waktu (Liao *et al.* 2003). Berdasarkan hasil eksperimen, CF ditentukan pada kondisi tunak dimana laju pengambilan dan pelepasan merkuri dari tubuh ikan setimbang. Dalam kondisi tersebut ikan akan beradaptasi meminimisasi efek toksik yang diakibatkan dari akumulasi kedua senyawaan tersebut dalam jaringan tubuhnya. Pada konsentrasi tinggi, *O. mossambicus*, berusaha mengekskresikan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} keluar tubuh sehingga residu di dalam jaringan tubuh masih dapat ditorelansi efek toksiknya.

Pengaruh peningkatan konsentrasi CH_3Hg^+ maupun Hg^{2+} dalam medium air terhadap kemampuan akumulasinya pada berbagai jenis biota sangat bervariasi. Peningkatan konsentrasi Hg^{2+} menyebabkan kenaikan laju mortalitas pada *tinca tinca*, sejenis ikan karper yang dapat hidup di air tawar dan payau. Pada ikan jenis *P. Gibbosus* peningkatan konsentrasi Hg^{2+} mengakibatkan kemampuan akumulasi senyawaan tersebut menurun, tetapi peningkatan konsentrasi CH_3Hg^+ dalam medium air justru memberikan efek yang berlawanan.

Konstanta laju pengambilan (k_u) CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} oleh *O. mossambicus* merupakan nilai *slope* dari plot CF terhadap waktu. Hubungan antara konstanta laju pengambilan kedua jenis senyawaan merkuri tersebut terhadap konsentrasinya dalam medium air ditunjukkan pada Gambar 4.5. Berdasarkan Gambar 4.5 menunjukkan bahwa tidak terdapat korelasi antara konsentrasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} terhadap konstanta laju pelepasan. Berdasarkan hasil eksperimen, konstanta laju pengambilan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} berturut-turut adalah $61,31 - 70,94 \text{ hari}^{-1}$ dan $5,40 - 9,77 \text{ hari}^{-1}$. Wang *et al* (2004) melaporkan k_u Hg^{2+} oleh ikan *P. Gibbosus* adalah 195. Pickhard *et al* (2005) melaporkan hasil penelitiannya, k_u untuk ikan *G. affinis* adalah $52-78 \text{ hari}^{-1}$ dan



Gambar 4.5. Pengaruh konsentrasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} terhadap konstanta laju pengambilan. (a) Pengaruh CH_3Hg^+ (b) Pengaruh Hg^{2+}

ikan *L. microlophus* adalah 38 – 51 hari⁻¹. Kisaran nilai k_u berbagai jenis ikan tersebut disebabkan oleh perbedaan kondisi eksperimen (konsentrasi paparan) dan jenis ikan yang berbeda. Penelitian menggunakan *O. niloticus* menunjukkan konstanta laju pengambilan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} berturut-turut sebesar 333 hari⁻¹ dan 86 hari⁻¹ (Wang *et al.* 2010).

Berdasarkan eksperimen, konstanta laju pengambilan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} oleh *O. mossambicus* jauh lebih kecil dibandingkan dengan berbagai jenis ikan tersebut. Namun demikian nilai k_u penelitian ini diperoleh dari hasil eksperimen selama dari 30 hari. Sedangkan nilai k_u *O. niloticus*, *G. affinis*, *L. microlophus* dan *P. gibbosus* tersebut diperoleh berdasarkan eksperimen yang dilakukan hanya 8 jam. Pada kondisi eksperimen tersebut proses bioakumulasi masih berada pada tahapan adsorpsi kontaminan ke permukaan sel.

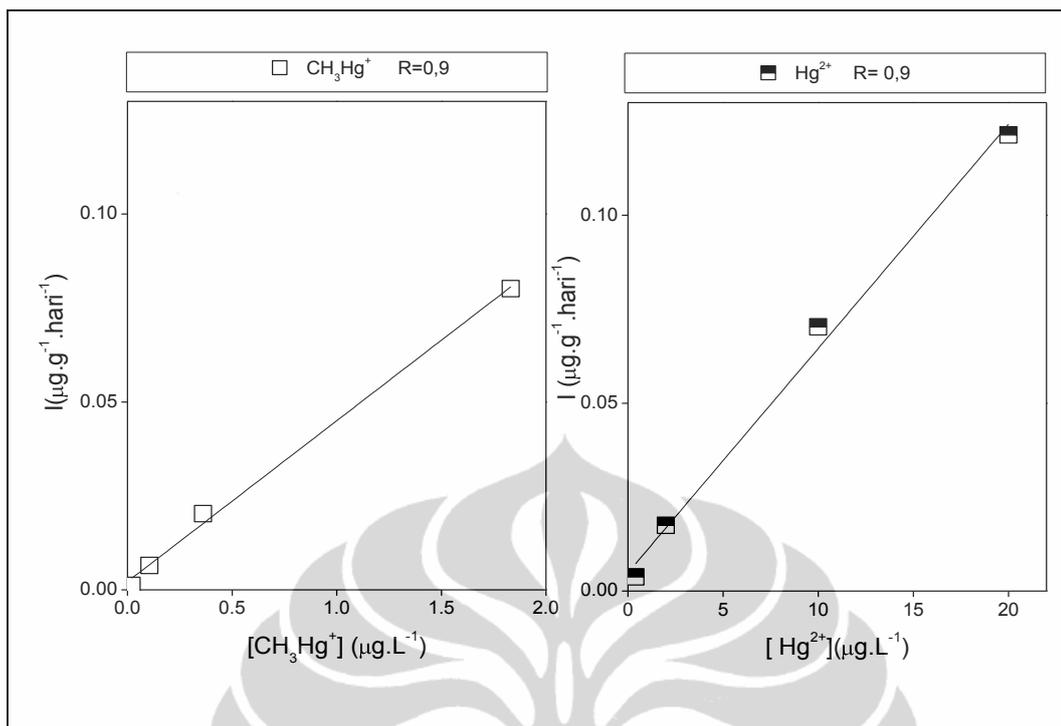
Menurut Chojnacka *et al* (2007), proses bioakumulasi berlangsung melalui dua tahapan yaitu adsorpsi dari medium air ke permukaan sel dan akumulasi dari permukaan sel ke bagian dalam sel. Tahapan pertama berlangsung cepat mengikuti hukum Langmuir sedangkan tahapan kedua membutuhkan waktu

beberapa hari. Wood *et al* (2002) membuktikan bahwa proses pengambilan Ag^+ pada periode waktu 0 - 12 jam sangat tinggi tetapi setelah 24 jam 80-90% yang telah diambil dari medium air dilepaskan kembali melalui insang. Menurut Rainbow (2007), pada saat pertama kali logam masuk ke dalam tubuh krustase dari permukaan sel eksodermal ke dalam endodermal maka pengaturan logam dalam tubuh akan segera dimulai. Selanjutnya akan disirkulasikan ke seluruh tubuh melalui sistem transportasi *hemolymph*. Logam-logam yang bersifat toksik selanjutnya diupayakan tereksresi keluar tubuh. Bagian yang tidak terekskresi akan terakumulasi pada tubuh biota tersebut.

Untuk memprediksi masuknya CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} dari medium air ke tubuh *O. mossambicus*, dihitung sebagai Influx (laju masuk). Sebelum mencapai kondisi tunak laju masuk lebih besar dibandingkan dengan laju pelepasan. Setelah mencapai kondisi tunak fluks masuk CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} sama dengan laju pelepasan (Griscosm *et al* 2002 dan Croteau, *et.al*, 2007). Menggunakan persamaan (10), hasil perhitungan fluks masuk CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} ke dalam tubuh *O. mossambicus* ditunjukkan pada Gambar 4.6. Laju masuk Hg^{2+} dari medium air ke dalam tubuh *O. mossambicus* berkisar $0,071 - 2,701 \mu\text{g.g}^{-1} \text{ hari}^{-1}$ dan fluks masuk CH_3Hg^+ berkisar $0,027 \text{ hari}^{-1} - 1,857 \mu\text{g.g}^{-1} \text{ hari}^{-1}$.

Gambar 4.6 menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} dalam air berpengaruh terhadap influx kedua kontaminan tersebut ke dalam tubuh *O. mossambicus*. Pada eksperimen ini konsentrasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} berada pada kisaran seperlimaratus sampai sepersepuluh nilai $\text{LC}_{50-96\text{h}}$ kedua kontaminan tersebut pada *O. mossambicus* (Ishikawa *et al*, 2007). Pada kisaran konsentrasi ini *O. mossambicus* masih toleran dan jika konsentrasi ditingkatkan mendekati nilai $\text{LC}_{50-96\text{h}}$ maka fluks masuk akan mengalami penurunan.

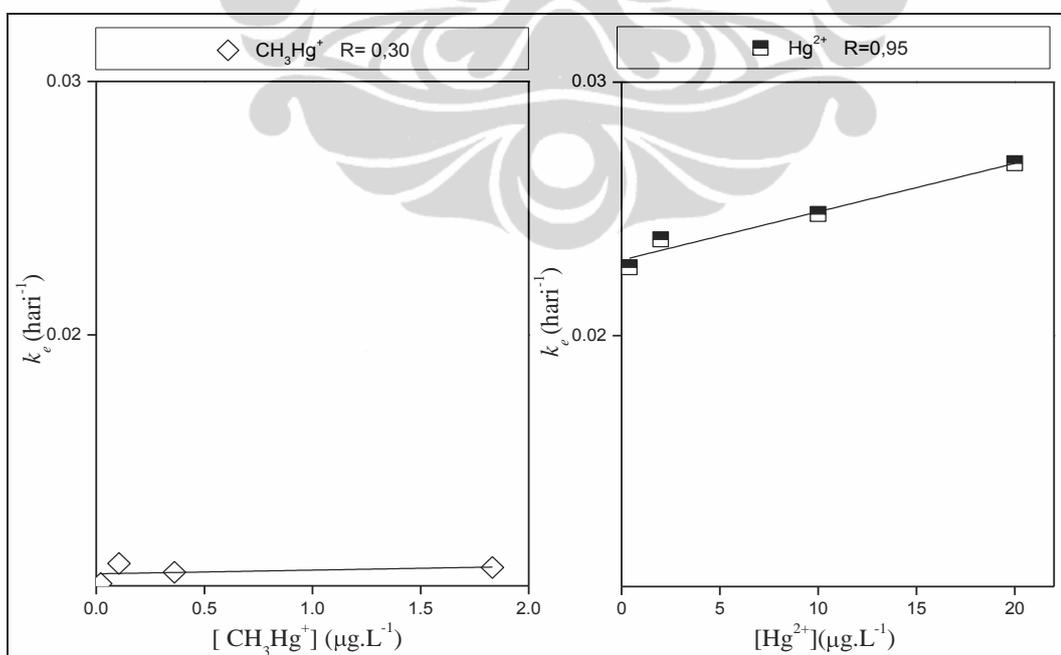
Pengaruh paparan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} pada berbagai konsentrasi terhadap laju keluar (k_e) ditunjukkan pada Gambar 4.7. Berdasarkan Gambar 4.7, konsentrasi CH_3Hg^+ tidak berkorelasi terhadap konstanta laju pelepasan CH_3Hg^+ . Setelah terpapar $0,020$; $0,105$; $0,361$ dan $1,832 \mu\text{g.l}^{-1}$ CH_3Hg^+ dari medium air, konstanta laju keluar kontaminan tersebut berturut-turut sebesar $0,010$; $0,011$;



(a)

(b)

Gambar 4.6. Pengaruh konsentrasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} terhadap influks dalam tubuh *O. mossambicus* (a) Pengaruh konsentrasi CH_3Hg^+ (b) Pengaruh konsentrasi Hg^{2+}



(a)

(b)

Gambar 4.7. Pengaruh konsentrasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} terhadap k_e (a) CH_3Hg^+ (b) Hg^{2+}

0,011 dan 0,011 hari⁻¹. Pada kondisi tunak perhitungan kandungan CH₃Hg⁺ dalam tubuh ikan sebesar 0,027; 0,026; 0,413 dan 1,856 µg.g⁻¹. Perhitungan kuantitas laju keluar CH₃Hg⁺ masing-masing sebesar 0,0003; 0,0014; 0,0044 dan 0,0201 µg.g⁻¹.hari⁻¹. Selisih antara laju masuk dan laju keluar merupakan laju akumulasi. Laju akumulasi CH₃Hg⁺ dan Hg²⁺ berturut-turut sebesar 0,0007 – 0,0570 µg.g⁻¹ dan 0,0022 – 0,0336 µg.g⁻¹. Laju akumulasi tersebut cenderung bertambah jika konsentrasi di dalam medium air mengalami peningkatan.

Mengacu pada Gambar 4.7, menunjukkan bahwa peningkatan paparan Hg²⁺ menyebabkan laju pelepasan (k_e) menjadi lebih cepat. Hal ini disebabkan oleh semakin besar konsentrasi paparan Hg²⁺ yang berasal dari air, fluks masuk kontaminan tersebut ke dalam tubuh mengurangi kontaminan di dalam tubuh ikan dilakukan dengan cara melepas kontaminan tersebut ke luar tubuh sehingga kandungannya masih dapat ditoleransi oleh *O. mossambicus*.

Pada kondisi tunak konsentrasi Hg²⁺ dalam tubuh sebesar 0,318; 1,4127 dan 2,701 µg.g⁻¹. Hasil perhitungan diperoleh kuantitas laju keluar Hg²⁺ masing-masing sebesar 0,008; 0,035 dan 0,072 µg.g⁻¹ hari⁻¹. Selisih antara laju masuk dan laju keluar merupakan laju akumulasi. Laju akumulasi CH₃Hg⁺ dan Hg²⁺ berturut-turut 0,0007 – 0,0570 dan 0,0020 – 0,0360 µg.g⁻¹ hari⁻¹ yang ditunjukkan pada Lampiran 9. Laju akumulasi tersebut cenderung bertambah jika konsentrasi di dalam medium air mengalami peningkatan. Selanjutnya *O. mossambicus* berusaha mengeluarkan residu Hg²⁺ dalam tubuhnya untuk menghindari efek toksik dengan meningkatkan fluks keluar dari dalam tubuh.

Estimasi waktu tinggal biologis CH₃Hg⁺ dan Hg²⁺ dalam tubuh *O. mossambicus* dihitung berdasarkan persamaan (9). Hasil perhitungan menunjukkan waktu tinggal biologis CH₃Hg⁺ dan Hg²⁺ berturut-turut 25,86 - 30,54 hari dan 64,06 - 68,02 hari. Sebagai perbandingan, waktu tinggal biologis CH₃Hg⁺ dan Hg²⁺ dalam jaringan *O. niloticus* berturut-turut 18 dan 126 hari. Waktu tinggal biologis Hg²⁺ dalam tubuh *Sepia officinalis* selama 17 hari. Perbedaan osmoregulasi antara ikan air tawar dan ikan laut dan ikan air payau menyebabkan laju pelepasan CH₃Hg⁺ dan Hg²⁺ kedua jenis ikan tersebut berbeda. Ikan air payau dan ikan air laut harus mengimbangi kehilangan cairan dari dalam jaringan tubuh dan melepaskan kelebihan garam ke medium air, sehingga

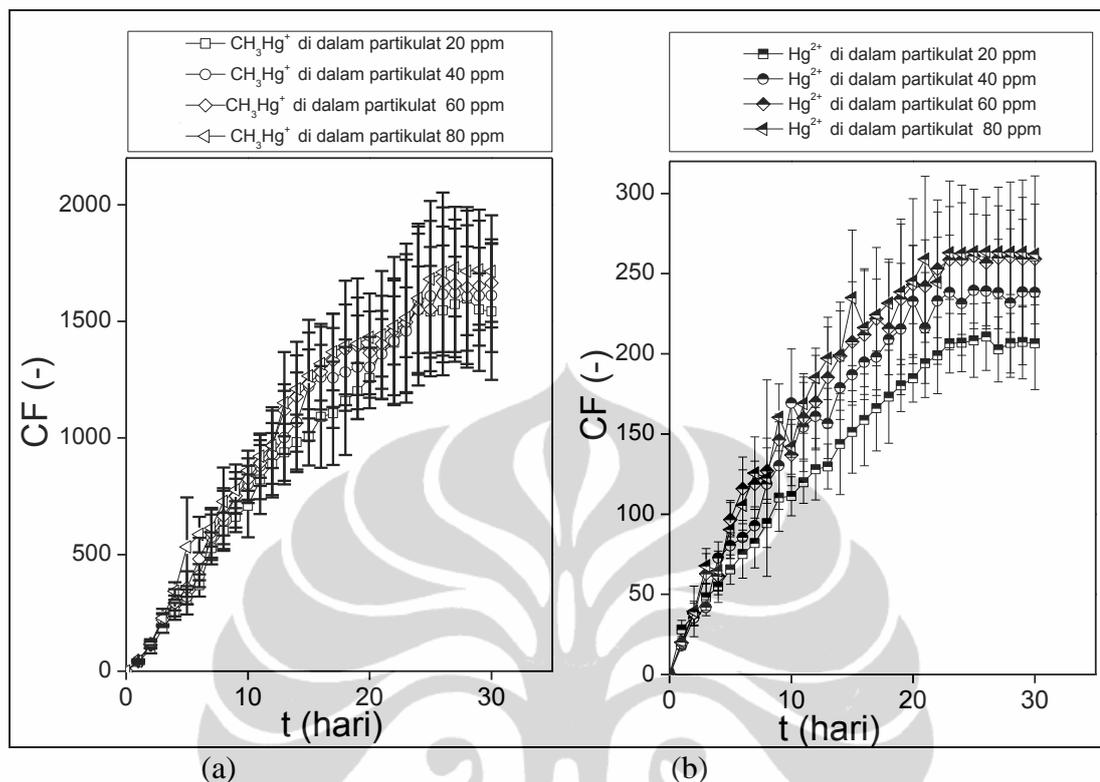
pelepasan senyawaan Hg lebih cepat dibandingkan dengan ikan air tawar karena kedua kontaminan tersebut dapat diangkut secara tidak selektif melalui kanal pengangkutan ion (Pickart *et al.* 2006).

4.1.2. Pengaruh Partikulat Terhadap Bioakumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+}

4.1.2.1. Prediksi Bioakumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} Melalui Partikulat

Material organik berbentuk partikulat mempunyai kemampuan memediasi pengambilan dan transportasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} dari dalam air ke dalam tubuh biota akuatik (Carvalho *et al.* 1998). Ikatan antara senyawaan merkuri dengan partikulat meningkatkan sifat lifofilik sehingga dapat mengubah laju transportasi melewati lapisan lipida membran sel di dalam insang dan usus. Partikulat organik bersifat amfifilik sehingga merkuri dapat berikatan pada gugus fungsional dari makromolekul organik. Ikatan merkuri dengan makromolekul tersebut menyebabkan sifatnya berubah dari hidrofilik menjadi hidrofobik. Perubahan sifat menjadi hidrofobik menyebabkan senyawaan merkuri masuk ke dalam tubuh ikan tidak melalui transportasi aktif tetapi difusi ke dalam lipida membrane sel (Campbell, 2003).

Pengaruh partikulat terhadap proses bioakumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} ditunjukkan pada Gambar 4.8, Lampiran 2 dan 3. Pengambilan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} dari medium partikulat oleh *O. mossambicus* pada hari pertama sampai hari kelima menunjukkan fenomena yang sama dengan proses pengambilan yang dipengaruhi oleh gradien konsentrasi. Pada periode ini, belum terlihat hubungan antara konsentrasi partikulat dalam medium air terhadap kemampuan akumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} . Walaupun ikatan antara partikulat dengan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} dapat meningkatkan sifat lifofilik tetapi interaksi antara kontaminan dengan *O. mossambicus* baru pada tahapan adsorpsi ke permukaan sel. Secara keseluruhan, Gambar 4.8 menunjukkan peningkatan konsentrasi partikulat dalam medium air diikuti dengan peningkatan kemampuan *O. mossambicus* mengakumulasi kedua kontaminan tersebut. Nilai CF CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} pada keadaan tunak berturut-turut berkisar antara 1611,08 - 1883,79 dan 214,37 - 288,84. Partikulat yang mengandung CH_3Hg^+ maupun Hg^{2+} biasanya diakumulasi melalui jalur pakan, tetapi dalam bentuk partikulat akumulasi dapat langsung melalui jalur air.



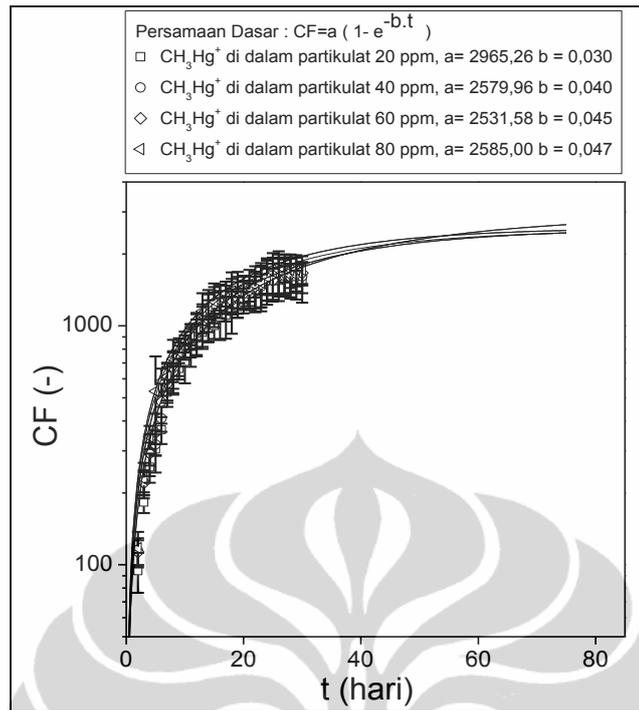
**Gambar 4.8. Pengambilan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} oleh *O. mossambicus* dari medium partikulat pada kisaran konsentrasi 20 - 80 ppm.
a. CH_3Hg^+ b. Hg^{2+}**

Terdapat dua jenis partikulat di dalam lingkungan akuatik, yaitu: partikulat organik dan anorganik. Partikulat anorganik kurang reaktif terhadap senyawaan merkuri dibandingkan dengan partikulat organik (Miller *et al.* 2007). Pada penelitian ini yang menjadi perhatian adalah partikulat organik. Partikulat mengandung makromolekul asam humat dan protein yang memfasilitasi senyawaan merkuri terikat pada permukaannya (Miller *et al.* 2007). Bagian dari partikulat adalah koloid dan umumnya terbentuk dari material organik dan anorganik berukuran sangat kecil ($< 0,45\mu\text{m}$) tersuspensi dalam medium air. Sebagian fraksi organik pada partikulat adalah material organik terlarut (DOM) berasal dari campuran heterogen senyawaan organik hasil dari dekomposisi sisa-sisa hewan dan tumbuh-tumbuhan sehingga mengandung asam humat dan fulvat. Material DOM mengandung gugus fungsional yang kuat seperti sulfur, sulfid dan tiol dan gugus fungsional lemah seperti karboksilat. Gugus fungsional tersebut berikatan dengan senyawaan merkuri.

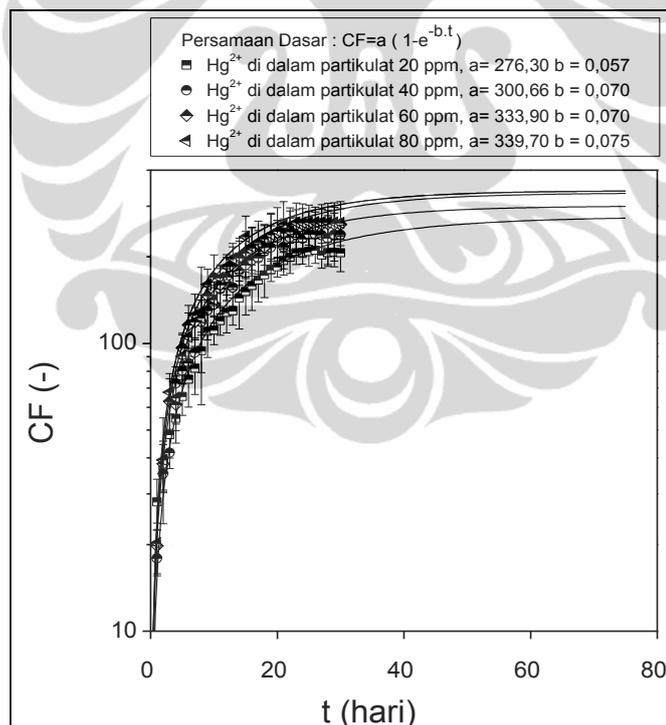
Material karbon organik terlarut (DOC), merupakan bagian dari DOM, akan mengikat senyawaan merkuri berdasarkan pembentukan senyawaan kompleks (Chetelat *et al.* 2011). Pembentukan senyawaan kompleks antara DOC dengan CH_3Hg^+ maupun Hg^{2+} dapat mengubah bioavalabilitas kedua senyawaan merkuri tersebut. Ligan organik mempunyai afinitas pada epithelium insang sehingga DOC yang berikatan dengan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} akan terakumulasi pada permukaan insang. Mengacu pada model aktifitas ion bebas, bioakumulasi logam merupakan fungsi dari konsentrasi ion logam pada permukaan epithelium insang (Carvalho *et al.* 1999). Berdasarkan asumsi tersebut, partikulat mengandung senyawaan kompleks merkuri- DOC yang meningkatkan bioavalabilitas serta dapat terdisosiasi dari partikulat yang akhirnya bergerak melewati membran sel.

Perbandingan dan prediksi proses akumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} oleh *O. mosambicus* ditunjukkan pada Gambar 4.9. Nilai CF_{ss} untuk CH_3Hg^+ berkisar antara 1611,08 – 1883,77. Nilai CF yang diperoleh setelah terpapar CH_3Hg^+ yang terkandung di dalam medium partikulat 80 ppm 114,5% lebih besar dibandingkan dengan jika terpapar oleh CH_3Hg^+ di dalam medium partikulat 20 ppm. Hasil eksperimen juga menunjukkan, setelah terpapar pada Hg^{2+} yang berada medium partikulat 80 ppm nilai CF 134,74% lebih besar dibandingkan dengan terpapar Hg^{2+} dalam medium partikulat 20 ppm. Kemampuan *O. mossambicus* mengakumulasi CH_3Hg^+ yang terkandung dalam partikulat adalah 6,52 - 7,51 kali lebih besar dibandingkan dengan Hg^{2+} . Menggunakan persamaan non linier maka prediksi nilai CF CH_3Hg^+ kondisi tunak adalah 2531,58 - 2965,26 dan prediksi nilai CF Hg^{2+} 276,30 - 339,70.

Nilai CF akibat terpapar melalui jalur partikulat lebih besar dibandingkan paparan melalui jalur air. Nilai CF Hg^{2+} akibat terpapar melalui jalur partikulat 1,17 - 2,01 kali lebih besar dibandingkan akibat terpapar melalui medium air. Hal serupa ditemui pada CH_3Hg^+ dimana nilai CF akibat terpapar tidak diikat pada permukaan insang. Hal ini ditunjukkan dari hasil eksperimen bioakumulasi Cd, Cu dan Zn oleh sejenis ikan *Oncorhynchus mykiss* yang dipengaruhi kandungan asam humat dalam air. Keberadaan asam humat dalam medium air menekan akumulasi ketiga kontaminan tersebut di dalam insang. Nilai CF Hg^{2+} pada udang *Penaeus aztecus* 2 - 3 kali lebih besar akibat terpapar Hg^{2+} yang



(a)



(b)

Gambar 4.9. Pengambilan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} oleh *O. mossambicus* dari medium air pada berbagai konsentrasi partikulat.
 (a) CH_3Hg^+ (b) Hg^{2+}

terkandung partikulat dibandingkan jika terpapar Hg^{2+} yang terkandung dalam medium air (Carvalho *et al.* 1998;). Hal yang sama dialami oleh ikan *O. notilicus* tetapi kemampuan akumulasi CH_3Hg^+ menurun jika terpapar melalui partikulat dibandingkan melalui medium air.

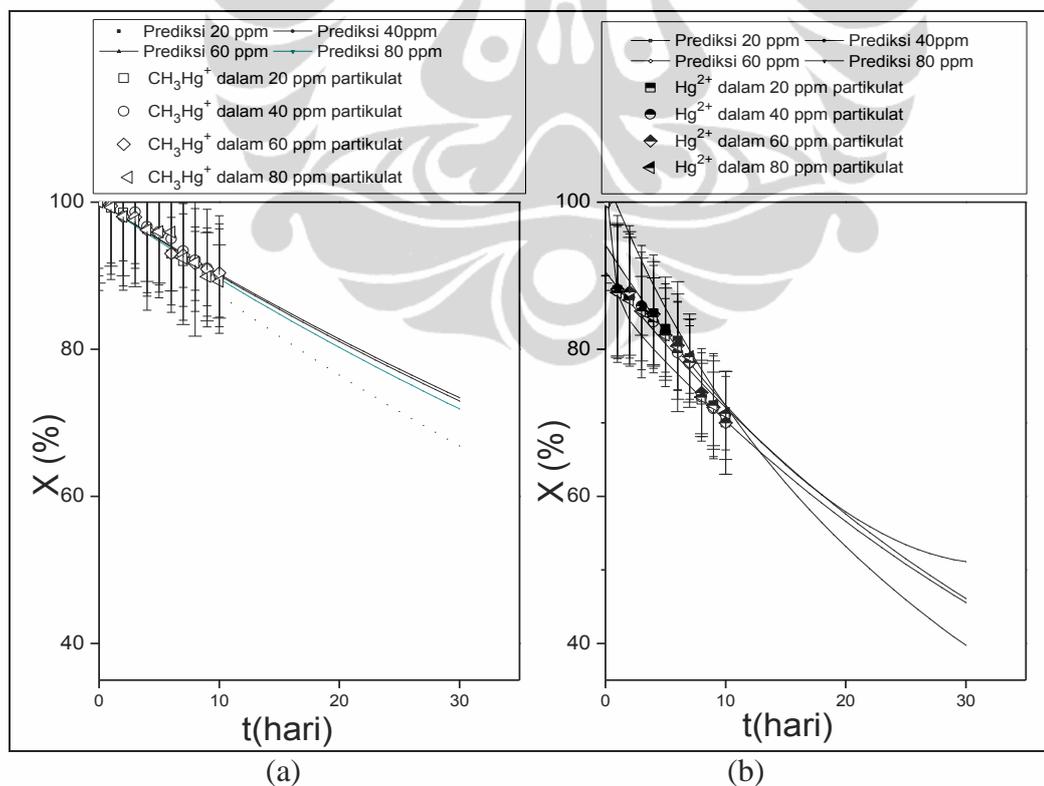
Pelepasan Hg^{2+} dari jaringan tubuh *O. mossambicus* setelah terpapar Hg atau CH_3Hg^+ selama 30 hari ditunjukkan pada Gambar 4.10. Laju pelepasan ini merepresentasikan kondisi dimana ikan tidak lagi terpapar oleh kedua senyawaan merkuri. Mengacu pada Gambar 4.10, menunjukkan mekanisme pelepasan Hg^{2+} melalui 2 tahapan yaitu: laju cepat (nol hari sampai hari pertama), pelepasan lambat pertama (hari kedua sampai hari kesepuluh). Prediksi laju pelepasan Hg^{2+} ditunjukkan pada persamaan berikut:

$$A_t = 87,29e^{-0,022.t} + 3,22e^{-0,059.t}$$

$$A_t = 84,28e^{-0,0173.t} + 15,712e^{-1,99.t}$$

$$A_t = 93,08e^{-0,029..t} + 1,08e^{0,799.t}$$

$$A_t = 83,00e^{-0,0152.t} + 10,37e^{-0,151.t}$$



Gambar 4.10. Pelepasan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} dari tubuh *O. mossambicus* setelah terpapar melalui jalur partikulat (a) CH_3Hg^+ (b) Hg^{2+}

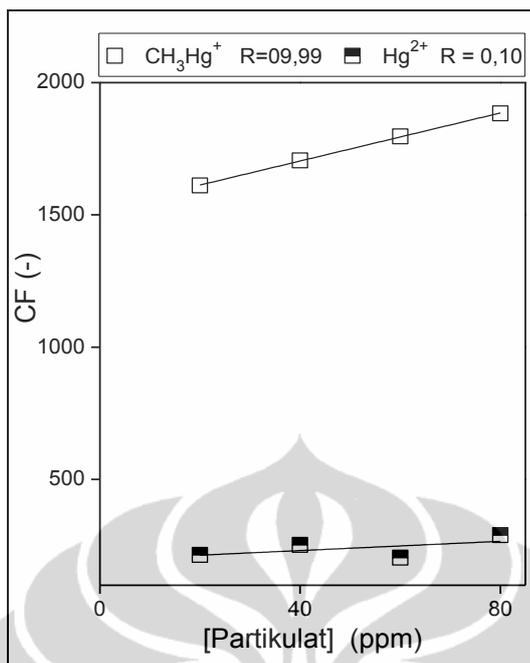
Untuk memprediksi kemampuan bioakumulasi yang dipengaruhi oleh kandungan partikulat dalam medium air, laju pelepasan dihitung berdasarkan satu tahapan. Menggunakan metode perhitungan tersebut, konstanta laju pelepasan pelepasan (k_e) CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} berturut-turut adalah 0,011 - 0,013 hari⁻¹ dan 0,022 - 0,025 hari⁻¹. Waktu tinggal biologis CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} pada kondisi eksperimen ini berturut-turut adalah 51,7 - 66,2 hari dan 29,2 - 32,1 hari. Hasil eksperimen menunjukkan, CH_3Hg^+ ditahan 2,13 - 2,16 kali lebih lama dalam tubuh *O. mossambicus* dibandingkan dengan Hg^{2+} .

4.1.2.2. Pengaruh Konsentrasi Partikulat Terhadap Faktor Konsentrasi, Laju Pengambilan, Influk dan Laju Pelepasan

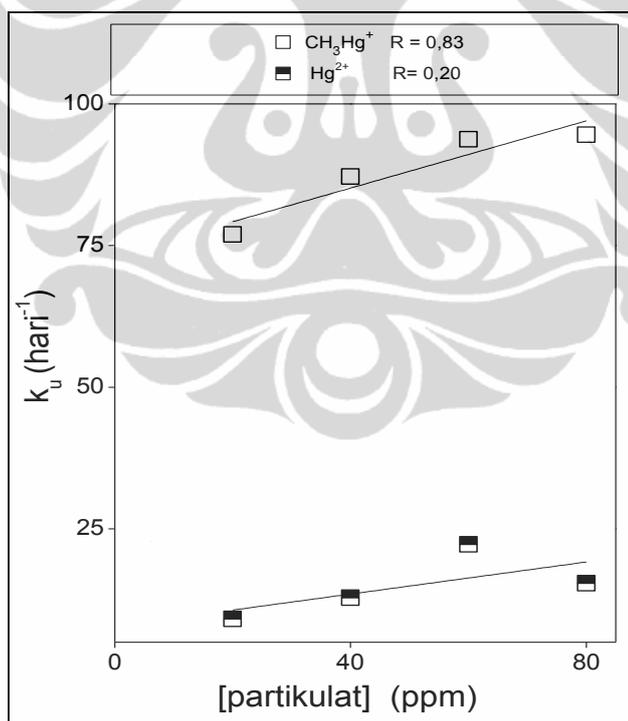
Pengaruh konsentrasi partikulat dalam air terhadap nilai CF CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} ditunjukkan pada Gambar berikut 4.11. Berdasarkan Gambar 4.11, menunjukkan bahwa terdapat korelasi antara peningkatan konsentrasi partikulat dalam medium air terhadap kenaikan CF CH_3Hg^+ . Sebaliknya peningkatan konsentrasi partikulat tidak berkorelasi terhadap kenaikan nilai CF Hg^{2+} . Peningkatan konsentrasi kedua kontaminan tersebut yang terikat dalam partikulat masih dapat ditoleransi oleh *O. mossambicus*. Hal ini disebabkan oleh ikatan antara DOC (yang terkandung dalam partikulat) dengan CH_3Hg^+ maupun Hg^{2+} membentuk senyawaan kompleks. Sel insang lebih toleran terhadap bentuk senyawaan kompleks tersebut DOC - CH_3Hg^+ maupun DOC- Hg^{2+} .

Pengaruh konsentrasi partikulat terhadap konstanta laju pengambilan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} ditunjukkan pada Gambar 4.12. Gambar 4.12 menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi partikulat berpengaruh terhadap kenaikan k_u $\text{CH}_3\text{Hg}^{2+}$. Disisi lain peningkatan konsentrasi partikulat tidak berkorelasi terhadap kenaikan k_u Hg^{2+} . Konstanta laju pengambil CH_3Hg^+ dari partikulat berkisar antara 76,97 - 94,56 hari⁻¹. Konstanta laju pengambilan Hg^+ dari partikulat berkisar 9,13 - 22,25 hari⁻¹. Rerata konstanta laju pengambilan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} dari medium partikulat masing-masing 1,76 kali dan 1,90 kali lebih besar dibandingkan dengan laju pengambilan kedua senyawaan merkuri tersebut dari medium air.

Untuk mengetahui laju masuk kedua kontaminan tersebut, cacahan *radiotracer* $\text{CH}_3^{203}\text{Hg}^+$ dan $^{203}\text{Hg}^{2+}$ pada partikulat selanjutnya dikonversikan menjadi kandungan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} dalam satuan berat. Berdasarkan hasil



Gambar 4.11. Pengaruh konsentrasi partikulat yang mengandung CH₃Hg⁺ dan Hg²⁺ terhadap kemampuan akumulasi

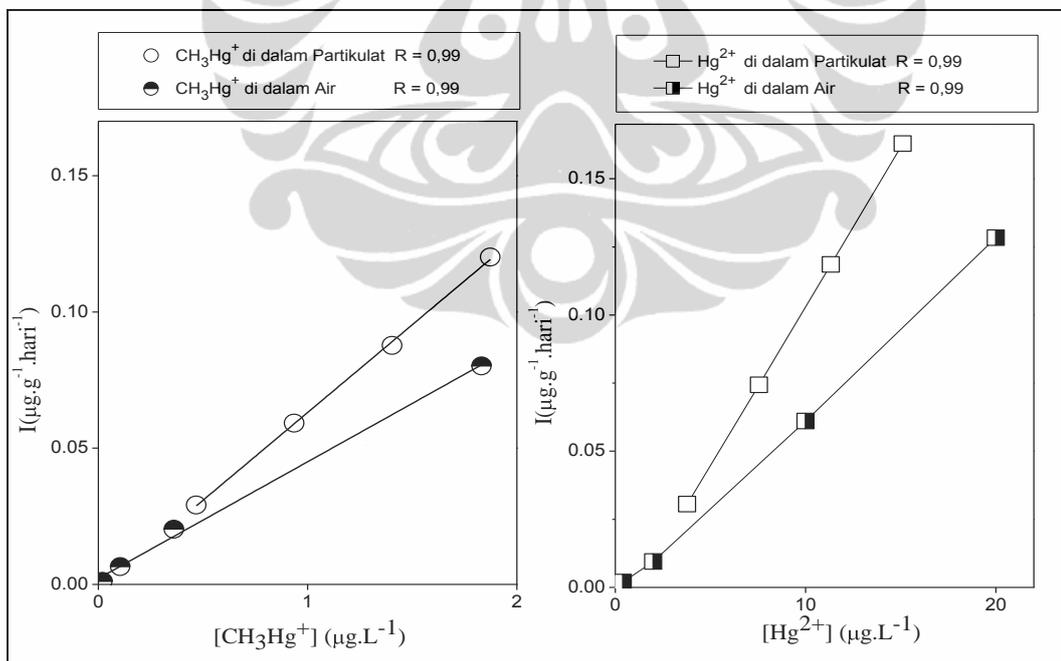


Gambar 4.12. Pengaruh konsentrasi partikulat dalam air terhadap konstanta laju pengambilan (k_u) CH₃Hg⁺ dan Hg²⁺

konversi diperoleh 20; 40; 60; dan 80 ppm partikulat dalam medium air ekivalen dengan 4,21; 8,42; 12,64 dan 16,85 µg.L⁻¹ Hg²⁺. Perhitungan tersebut dapat

dilihat pada Lampiran 13. Hasil konversi tersebut juga ekivalen dengan 0,72; 0,92; 1,38 dan 1,84 $\mu\text{g.L}^{-1}$ CH_3Hg^+ di dalam medium air. Menggunakan hasil konversi tersebut di atas, perbandingan laju masuk (influks) CH_3Hg^+ dari air dan influks dari partikulat diplotkan ke dalam kurva yang ditunjukkan oleh Gambar 4.13.

Mengacu pada Gambar 4.13 menunjukkan bahwa laju masuk CH_3Hg^+ yang berasal dari partikulat lebih besar dibandingkan dengan yang berasal dari medium air. Peningkatan laju masuk proporsional dengan gradient konsentrasi metil merkuri di kedua medium tersebut. Laju masuk Hg^{2+} yang berasal dari partikulat lebih besar dibandingkan dengan yang berasal dari medium air. Peningkatan influks proporsional dengan konsentrasi Hg^{2+} di kedua medium tersebut. Perbedaan kedua influks tersebut disebabkan oleh partikulat mengandung DOC yang menyediakan ligan-ligan organik sehingga CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} terikat membentuk senyawaan kompleks (Mc Geer *et al.* 2003). Senyawaan kompleks tersebut lebih ditoleran dan meningkatkan bioavailabilitas sehingga lebih banyak diakumulasi oleh tubuh dibandingkan dalam keadaan ion bebas.

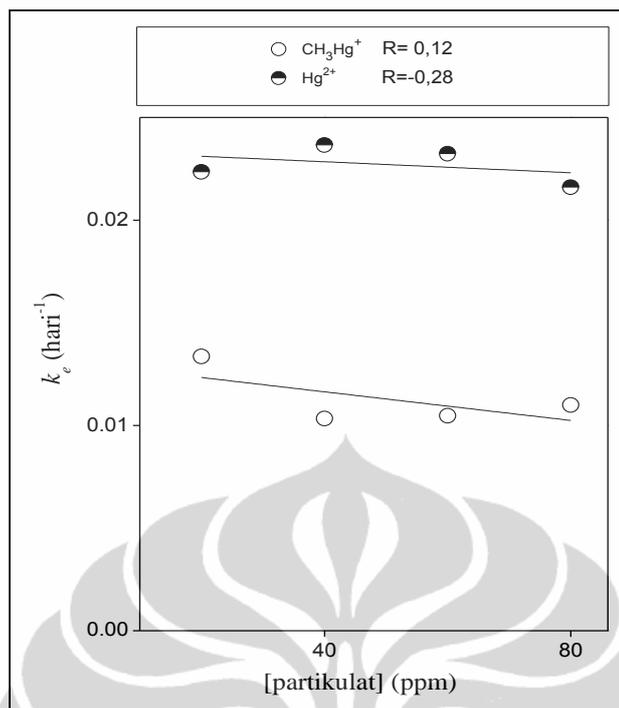


Gambar 4.13. Perbandingan laju masuk (influk) CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} yang berasal dari medium air dan partikulat ke dalam tubuh *O. mossambicus* (a) CH_3Hg^+ (b) Hg^{2+}

Dalam konteks bioakumulasi, pengambilan senyawaan merkuri dimulai dari proses difusi mengikuti hukum Fick. Senyawaan netral yang lipofilik maupun hidrofobik masuk ke dalam tubuh biota perairan melalui difusi pada lapisan lemak ganda di dalam membran sel (Mc Geer *et al.* 2003). Permeabilitas membran berhubungan dengan kelarutan senyawaan merkuri dalam lemak yang dinyatakan sebagai k_{ow} . Nilai k_{ow} merupakan koefisien partisi air – oktanol, yang berkaitan dengan konsentrasi merkuri yang berkaitan dengan ligan spesifik dalam fase oktanol dan air. Dalam lingkungan perairan, senyawaan kompleks merkuri dipengaruhi oleh berbagai parameter kimia fisik sehingga jenis senyawaan kompleks merkuri sangat bervariasi. Setiap bentuk senyawaan kompleks tersebut mempunyai nilai k_{ow} individual sehingga gabungan kontribusi berbagai senyawaan kompleks merkuri.

Merkuri berkaitan dengan ligan organik membentuk senyawaan kompleks yang lebih stabil dibandingkan dengan pembentukan kompleks merkuri – Cl dan – OH. Hal ini direpresentasikan oleh nilai konstanta kestabilan kompleks merkuri-ligan organik yang lebih besar dibandingkan dengan kompleks merkuri –Cl atau – OH. Konstanta kestabilan kompleks merkuri – Cl dan merkuri – OH berturut-turut sebesar $10^{7.3}$ dan $10^{10.6}$ sedangkan konstanta kestabilan ligan merkuri – DOC adalah 10^{22} sampai dengan 10^{28} (Ravichandran *et al.* 2004). Kekuatan ikatan tersebut tergantung dari keberadaan gugus fungsional tiol di dalam DOC (Ravichandran *et al.* 2004). Sulfur di dalam DOC berbentuk teroksidasi (misalnya sulfonat, sulfarat) dan tereduksi (misalnya sulfide dan tiol). Merkuri berkaitan dengan sulfur tereduksi (tiol) lebih stabil bila dibandingkan ikatannya dengan sulfur teroksidasi. Konstanta kestabilan kompleks dengan tiol adalah $10^{52.4}$ dan pada dengan sulfur teroksidasi adalah $10^{1.3}$ (Ravichandran *et al.* 2004). Kestabilan ikatan merkuri dengan tiol di dalam partikulat yang menyebabkan perubahan dari bentuk ion bebas menjadi kompleks stabil. Senyawaan kompleks stabil ini lebih ditoleran dibandingkan dengan ion bebas sehingga lebih mudah diakumulasi oleh *O. mossambicus*.

Plot antara konsentrasi partikulat yang merupakan sumber paparan Hg terhadap konstanta laju pelepasannya ditunjukkan pada Gambar 4.14. Konstanta



Gambar 4.14. Konstanta laju pelepasan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} setelah terpapar kedua kontaminan tersebut dalam medium partikulat.

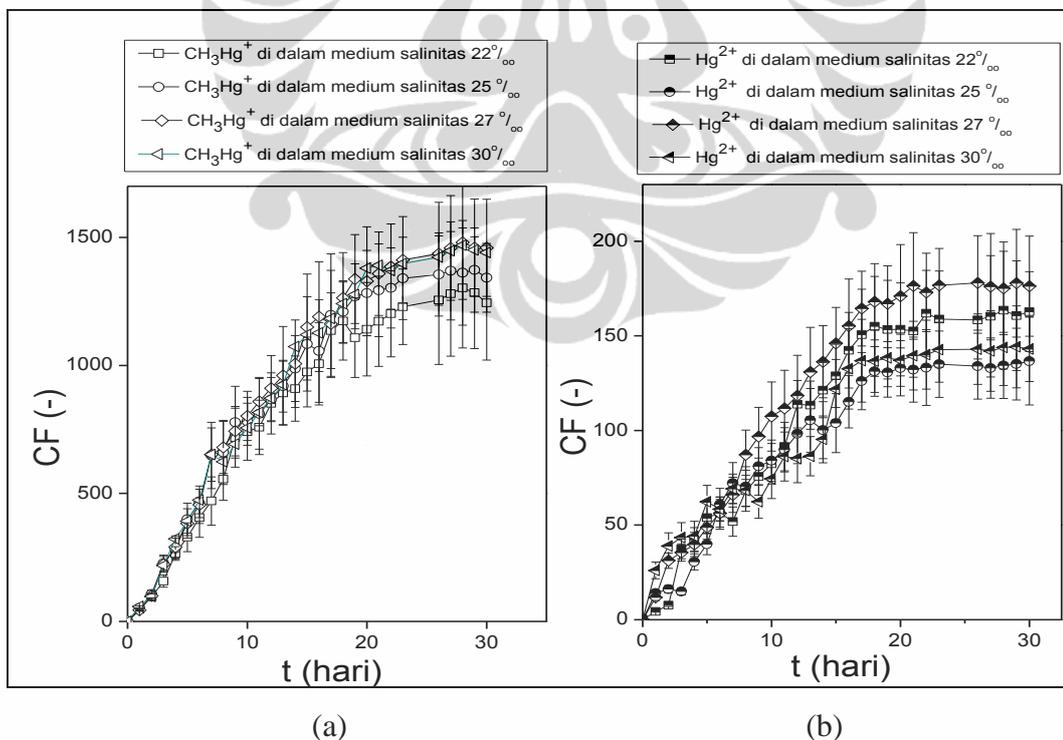
laju pelepasan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} tidak dipengaruhi oleh kuantitas paparan pada proses bioakumulasi. Perhitungan waktu tinggal biologis CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} di dalam tubuh *O. mossambicus* masing-masing sebesar 29,3 - 32,1 hari dan 51,9 - 67,1 hari. Rekapitulasi parameter biokinetika CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} yang dipengaruhi oleh konsentrasi partikulat ditunjukkan pada Lampiran 10. Laju akumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} berturut-turut 0,254 - 0,1243 $\mu\text{g.g}^{-1}.\text{hari}^{-1}$ dan 0,08 - 0,205 $\mu\text{g.g}^{-1}.\text{hari}^{-1}$.

4.1.3. Pengaruh Salinitas terhadap Bioakumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+}

4.1.3.1. Prediksi Bioakumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} Pada Berbagai Kondisi Salinitas

Salah satu faktor eksternal yang mempengaruhi bioakumulasi senyawaan adalah salinitas. Salinitas pada lingkungan perairan payau selalu berfluktuasi yang diakibatkan oleh perubahan musim. Salinitas cenderung tinggi pada musim panas dan mengalami penurunan pada musim hujan. Umumnya bentuk stabil senyawaan merkuri dilingkungan perairan payau dan laut adalah HgCl_4^{2-} dan kestabilannya berhubungan dengan perubahan salinitas dalam lingkungan tersebut. Bentuk senyawaan Hg^{2+} dalam lingkungan payau dan laut adalah 88%

senyawaan HgCl_4^{2-} dan 12%, HgCl_3^- (Byrne *et al.* 2002). Metil merkuri dalam lingkungan perairan payau dan laut berbentuk CH_3HgCl (Morel *et al.* 1998). Metilasi merkuri tidak terjadi di dalam air tetapi di dalam sedimen dasar. Laju pembentukan metil merkuri dominan dipengaruhi karakteristik sedimen tersebut. Metil merkuri berada dalam perairan payau akibat dari resuspensi sedimen dasar. Pengaruh perubahan salinitas terhadap bioakumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} oleh *O. mossambicus* ditunjukkan pada Gambar 4.15, Lampiran 5 dan 6. Hari pertama sampai dengan hari kelima pengambilan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} didominasi pada proses adsorpsi kontaminan pada permukaan sel. Berdasarkan hasil eksperimen, menunjukkan CF CH_3Hg^+ berkisar 1261,27 - 1466,57 dan sampai akhir eksperimen kondisi tunak belum tercapai. Disisi lain CF Hg^{2+} yang dipeoleh pada berbagai kondisi salinitas adalah berkisar antara 155,61– 173,32 dan kondisi tunak dicapai 23 - 25 hari. Pada kondisi ini, kemampuan akumulasi CH_3Hg^+ 5,03 - 6,88 kali lebih besar dibandingkan Hg^{2+} . Salinitas berhubungan dengan kandungan NaCl di dalam air payau dan air laut. Kenaikan salinitas berbanding lurus dengan peningkatan ion Na^+ dan Cl^- . Ion Cl^- dapat membentuk

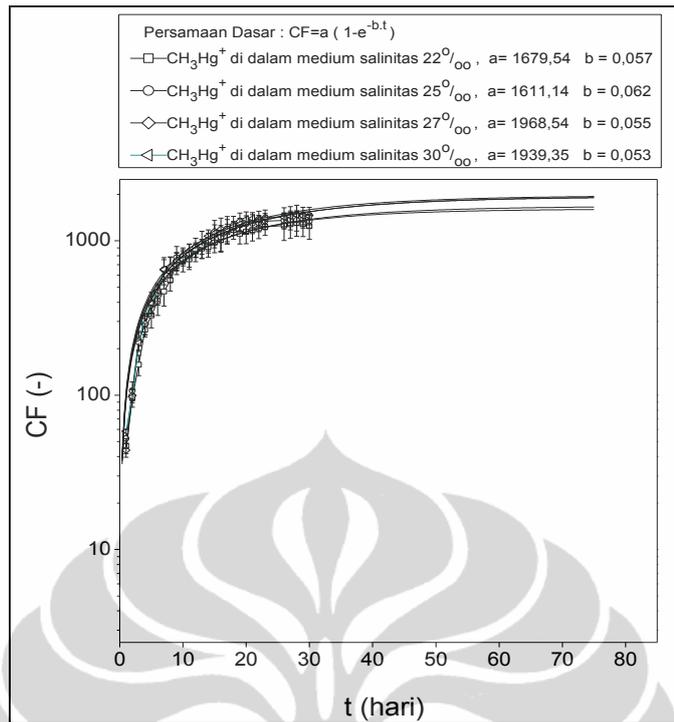


Gambar 4.15. Pengambilan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} melalui jalur air oleh *O. mossambicus* pada salinitas medium air 22 - 30 ‰. (a) CH_3Hg^+ (b) Hg^{2+}

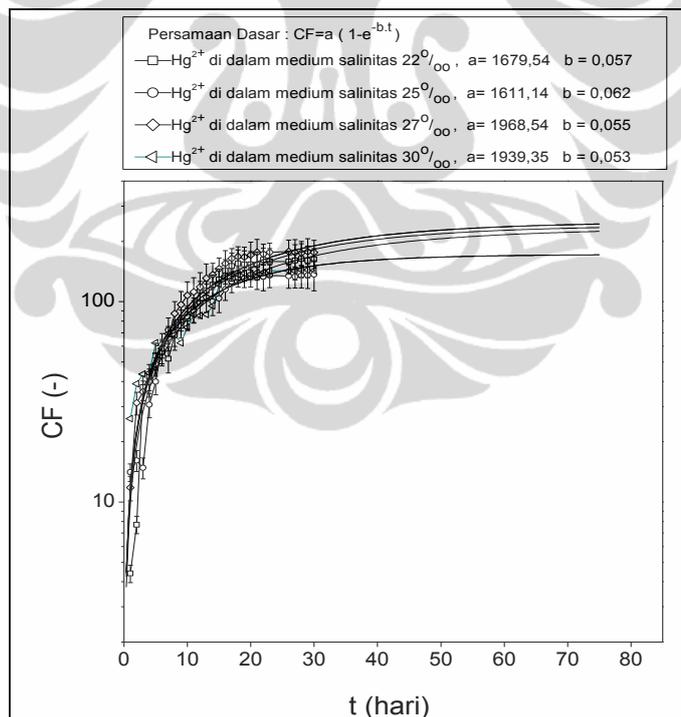
kompleks dengan HgCl_4^{2-} dan HgCl_3^- . Metil merkuri stabil di dalam sedimen muara sungai dimana stabilitas metilmerkuri meningkat oleh faktor anoksik dan salinitas rendah. Kondisi salinitas tinggi di dalam sedimen kurang cocok untuk sintesis metilmerkuri dan cenderung akan mengalami demetilasi (Oliveiraribeiro *et al.* 1999).

Perbandingan dan prediksi proses akumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} oleh *O. mossambicus* ditunjukkan pada Gambar 4.16. Mengacu pada Gambar 4.16, menunjukkan bahwa kondisi tunak akumulasi Hg^{2+} oleh *O. Mossambicus* tercapai setelah 25 hari. Prediksi CF Hg^{2+} pada kondisi ini berkisar antara 172,44 - 247,35. Nilai CF Hg^{2+} pada salinitas yang rendah (25‰) 1,43 kali lebih besar dibandingkan salinitas yang tinggi (30‰). Hal ini disebabkan oleh pada salinitas tinggi merkuri berbentuk senyawaan kompleks HgCl_3^- dan HgCl_4^{2-} . Pada lingkungan air tawar Hg^{2+} berikatan dengan DOC membentuk senyawaan kompleks netral. Bentuk senyawaan tersebut dapat ditoleran oleh *O. mossambicus*. Peningkatan salinitas menyebabkan distorsi ikatan antara DOC dan Hg^{2+} membentuk senyawaan kompleks klorida yang bermuatan negatif. Masuknya senyawaan bermuatan mengikuti mekanisme mediasi pengangkutan di dalam sel insang yang menyebabkan inhibisi berbagai jenis enzim dalam sel tersebut. Lu (2001) melakukan eksperimen menggunakan emisi fluoresensi membuktikan bahwa gradien salinitas yang tinggi mampu membebaskan ikatan DOM-Hg membentuk senyawaan $\text{HgCl}^{(2-n)+}$. Pada salinitas rendah DOM masih mampu mengikat Hg^{2+} walaupun demikian kapasitas pengompleksnya akan turun. Peningkatan salinitas 0-10% menyebabkan 90% lebih senyawaan merkuri terlepas dari kompleks dengan DOC.

Berdasarkan uraian di atas *O. mossambicus* mengakumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} dipengaruhi oleh salinitas perairan. Implikasi dari hal tersebut adalah kemampuan bioakumulasi ikan ini meningkat pada musim hujan dan menurun pada musim kemarau. Peningkatan kemampuan ini sebagai akibat dari penurunan salinitas, peningkatan konsentrasi partikulat dan penurunan konsentrasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} di dalam air. Pada musim hujan terjadi pengenceran kontaminan air tambak, pengenceran kandungan NaCl dan inputan partikulat hasil erosi dari



(a)



(b)

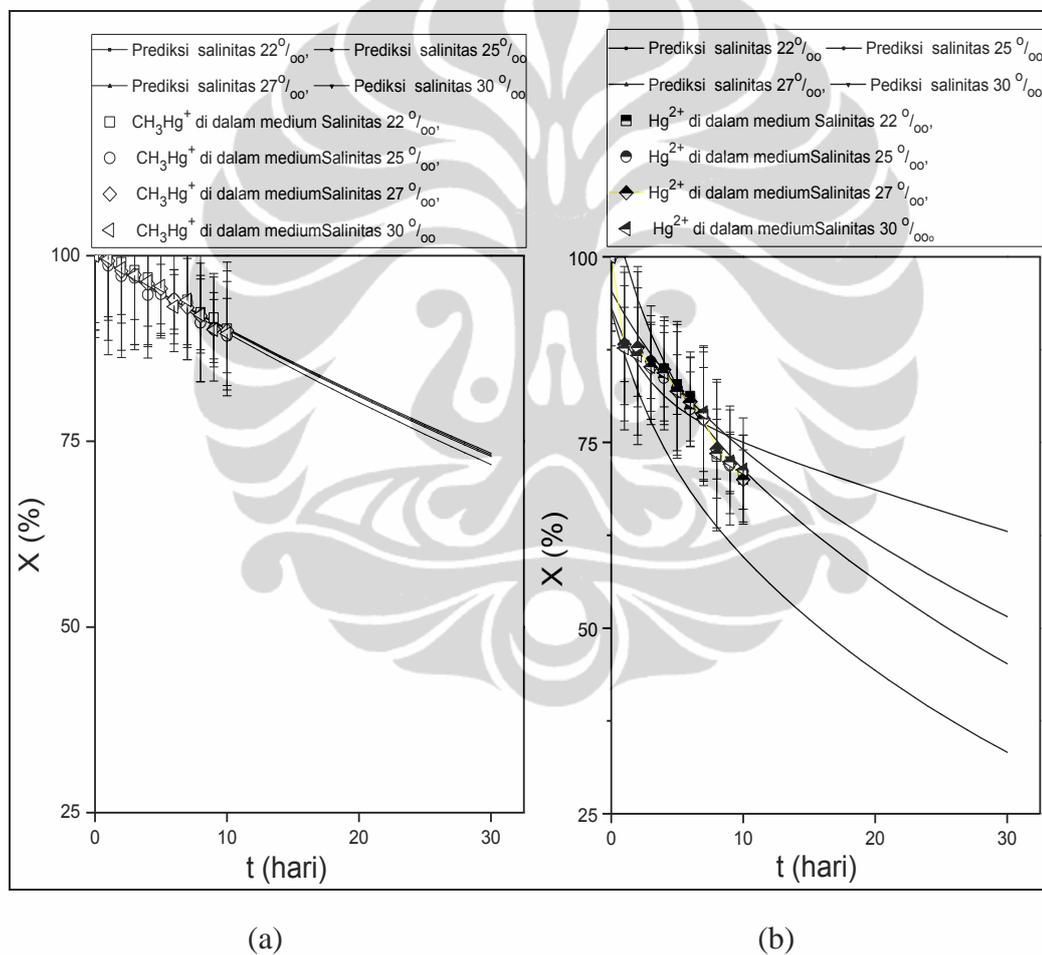
Gambar 4.16. Pengambilan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} oleh *O. mossambicus* dari medium air salinitas 22 – 30 ‰. (a) CH_3Hg^+ (b) Hg^{2+}

daerah hulu. Pelepasan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} setelah terpapar kedua senyawaan tersebut pada kondisi salinitas yang berbeda, ditunjukkan pada Gambar 4.17.

Mengacu menunjukkan bahwa pelepasan Hg^{2+} melalui dua tahapan yaitu: pelepasan cepat dan pelepasan lambat. Pelepasan cepat terjadi pada hari ke nol sampai dengan hari pertama dan pelepasan lambat terjadi setelah hari kedua. Disisi lain pelepasan CH_3Hg^+ hanya melalui satu tahapan lambat. Konstanta laju pelepasan cepat Hg^{2+} berkisar antara 0,13 - 0,14 hari^{-1} . Konstanta laju pelepasan lambat berkisar antara 0,014 - 0,019 hari^{-1} . Perkiraan pelepasan Hg^{2+} pada berbagai kondisi salinitas ditunjukkan pada persamaan berikut:

$$A_t = 87,16e^{-0,018.t} + 8,26e^{-0,225.t}$$

$$A_t = 81,35e^{-0,009.t} + 11,77e^{-0,371.t}$$



Gambar 4.17. Pelepasan Hg dari tubuh *O. Mossambicus* setelah terpapar Hg^{2+} dan CH_3Hg^+ dalam berbagai medium salinitas selama 30 hari CH_3Hg^+ (a) Hg^{2+} (b)

$$A_t = 78,20e^{-0,029.t} + 14,40e^{-0,294.t}$$

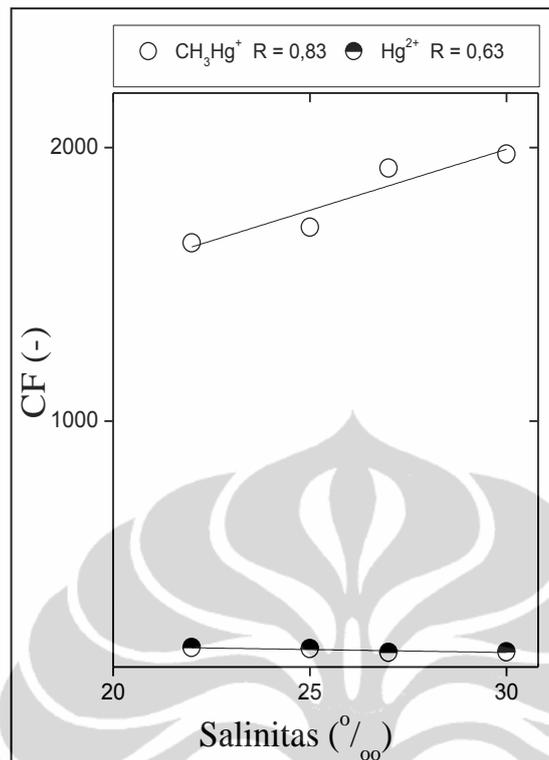
$$A_t = 88,38e^{-0,022.t} + 18,96e^{-0,332.t}$$

Perhitungan laju pelepasan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} dihitung satu tahapan berturut-turut berkisar $0,024 - 0,025 \text{ hari}^{-1}$ dan $0,010 - 0,011 \text{ hari}^{-1}$. Estimasi waktu tinggal biologis ($t_{1/2b}$) CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} dalam tubuh ikan berturut-turut berkisar antara $63,59 - 66,65$ hari dan $25,77 - 28,76$ hari.

4.1.3.2. Pengaruh Perubahan Salinitas Terhadap Faktor Konsentrasi, Laju Pengambilan, Influk dan Laju Pelepasan

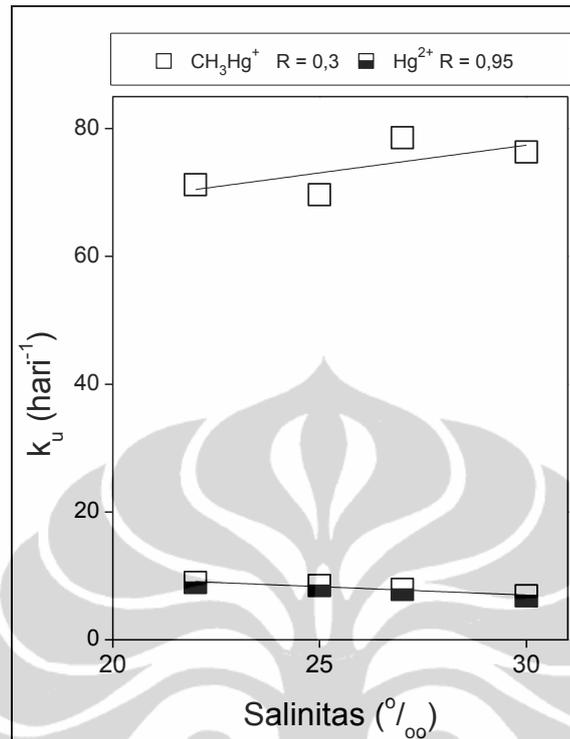
Akumulasi kedua kontaminan tersebut dari medium air ke dalam tubuh *O. mossambicus* melalui insang. Dalam keadaan bermuatan kedua kontaminan tersebut akan bereaksi dengan sistein yang berfungsi sebagai bioligan. Peningkatan konsentrasi kedua kontaminan tersebut menyebabkan penurunan kandungan sistein dalam insang. Pada kondisi ini *O. mossambicus* tidak mampu mentoleransi keberadaan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} yang masuk ke dalam tubuh melalui insang. Insang terdiri dari epitelium yang tersusun atas dua atau tiga cabang. Insang dilapisi oleh epitelium yang berfungsi untuk mengabsorpsi oksigen dan juga mengabsorpsi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} yang larut di dalam air. Setiap percabangan terdiri dari dua buah dorsoventral berbentuk filamen-filamen kolom. Ketidakmampuan insang mentoleransi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} menyebabkan kemampuan akumulasi menjadi menurun. Kemampuan akumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} dalam salinitas medium air yang berbeda ditunjukkan pada Gambar 4.18 sampai 4.20.

Gambar 4.18 menunjukkan bahwa peningkatan salinitas medium air menyebabkan kenaikan kemampuan akumulasi CH_3Hg^+ oleh *O. mossambicus*. Nilai CF CH_3Hg^+ di dalam medium bersalinitas tinggi (30‰) lebih besar 16% dibandingkan di dalam medium bersalinitas rendah (22‰). Hal yang berbeda ditemui pada akumulasi Hg^{2+} , kenaikan salinitas medium cenderung menurunkan kemampuan akumulasi Hg^{2+} oleh *O. mossambicus*. Nilai CF Hg^{2+} di dalam medium bersalinitas tinggi (30‰) 87,82% nilai CF pada konsentrasi rendah (22‰).

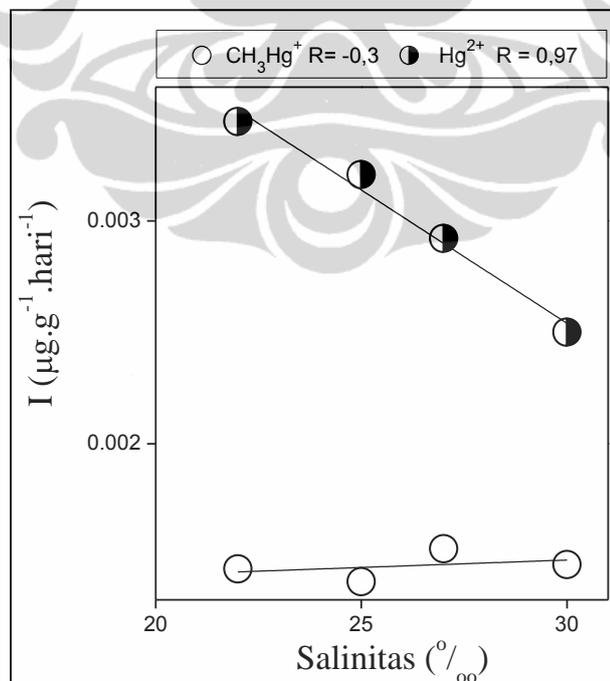


Gambar 4.18. Pengaruh salinitas terhadap kemampuan akumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} oleh *O. mosaambicus*.

Gambar 4.19 menunjukkan salinitas tidak berkorelasi terhadap nilai konstanta pengambilan CH_3Hg^+ tetapi berpengaruh terhadap konstanta laju pengambilan Hg^{2+} . Gambar 4.20 menunjukkan bahwa salinitas tidak berkorelasi terhadap laju pengambilan (influksi) CH_3Hg^+ tetapi berkorelasi terhadap laju masuk Hg^{2+} . Konstanta laju pengambilan dan laju pengambilan pada kondisi yang sama meningkat 1,13 kali dibandingkan dengan medium bersalinitas rendah. Perbedaan ini disebabkan oleh mekanisme internalisasi kedua kontaminan tersebut. Metil merkuri cenderung lipofilik sehingga mudah diinternalisasi melewati insang berdasarkan difusi pasif dan masuk ke dalam lapisan lemak. Disisi lain Hg^{2+} dalam bentuk senyawaan kompleks klorida bermuatan mengikuti mekanisme mediasi pengangkutan dan terakumulasi terlebih dahulu dalam insang. Akumulasi tersebut menyebabkan insang tidak mampu lagi mentoleransi keberadaan CH_3Hg^+ maupun Hg^{2+} . Hasil eksperimen menunjukkan paparan Hg^{2+} dalam medium bersalinitas tinggi menurunkan akumulasinya yang disebabkan oleh peningkatan toksisitas pada insang ikan.



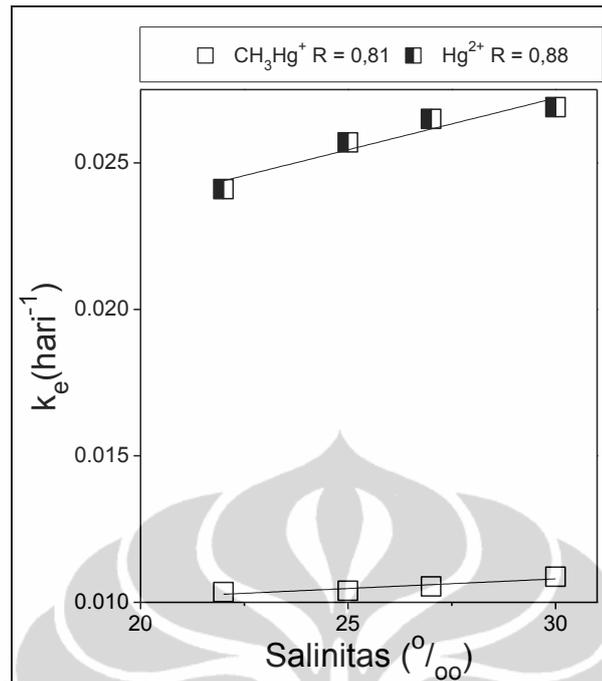
Gambar 4.19. Pengaruh salinitas medium air terhadap laju pengambilan (k_u)



Gambar 4.20. Pengaruh salinitas medium air terhadap influks CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} ke dalam tubuh *O. mossambicus*

Fenomena yang sama ditunjukkan oleh hasil eksperimen Modassir (2000) menunjukkan peningkatan salinitas juga menaikkan LT_{50} kerang *Polymesoda erosa*. Dalam medium air merkuri berada dalam bentuk ionik tidak terikat oleh ligan-ligan seperti DOC. Pada salinitas yang rendah meningkatkan kemampuan kerang mengeliminasi senyawaan. Permeabilitas logam akan turun pada salinitas tinggi dimana larutan tubuh menjadi hyper osmotik terhadap medium. Hal yang sama ditemui pada ikan *Cichla monoculus* yang terpapar merkuri juga terlihat pembengkakan lamela akibat terpapar oleh senyawaan merkuri (da Silva Rabitto *et al.* 2011). Parashar *et al.*(2002) membuktikan paparan timbal pada insang menunjukkan pada konfigurasi lameral walaupun diikuti dengan regenerasi organ tersebut. Terdapat dua kemungkinan gangguan pada morfologi insang, yaitu: (1) gangguan langsung dari senobiotik yang menyebabkan *necrosis* dan pecahnya percabangan epitelium. Hal ini ditimbulkan oleh dosis senobiotik yang terlalu tinggi atau kondisi letal, (2) respon pertahanan dari cabang epitelium melalui ekresi lendir berlebih, pembengkakan, hiperplasia dan penggabungan lamelar (Parashar, 2002). Patel *et al.* (2010) membuktikan penyerapan Cu^{2+} menyebabkan degenerasi daerah interlamelar dan lamela utama insang serta erosi pada lamela kedua dan kerusakan aksis sentral dimulai setelah minggu pertama terpapar Cu^{2+} . Pembengkakan ujung lamela kedua dan membesarnya pembuluh darah pada lamela terjadi setelah minggu kedua. Pada minggu ketiga terjadi erosi pada lamela insang dan diikuti pecahnya kapiler darah pada ujung lamella kedua (Patel *et al.* 2010).

Pengaruh salinitas medium air terhadap pelepasan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} ditunjukkan pada Gambar 4.21. Mengacu pada Gambar 4.21, menunjukkan bahwa salinitas sedikit mempengaruhi laju pelepasan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} . Laju pelepasan Hg^{2+} pada salinitas tinggi (30‰) 5% lebih cepat dibandingkan pada salinitas rendah (22‰). Laju pelepasan CH_3Hg^+ meningkat 16% pada salinitas yang tinggi (30‰) dibandingkan pada salinitas rendah (22‰). Hal ini disebabkan perbedaan osmoregulasi ikan pada berbagai kondisi salinitas yang berbeda. Ikan harus melepaskan kelebihan garam pada medium air sehingga pada salinitas yang lebih tinggi laju pelepasan kedua kontaminan tersebut mengalami peningkatan. Kecilnya peningkatan laju pelepasan yang hanya



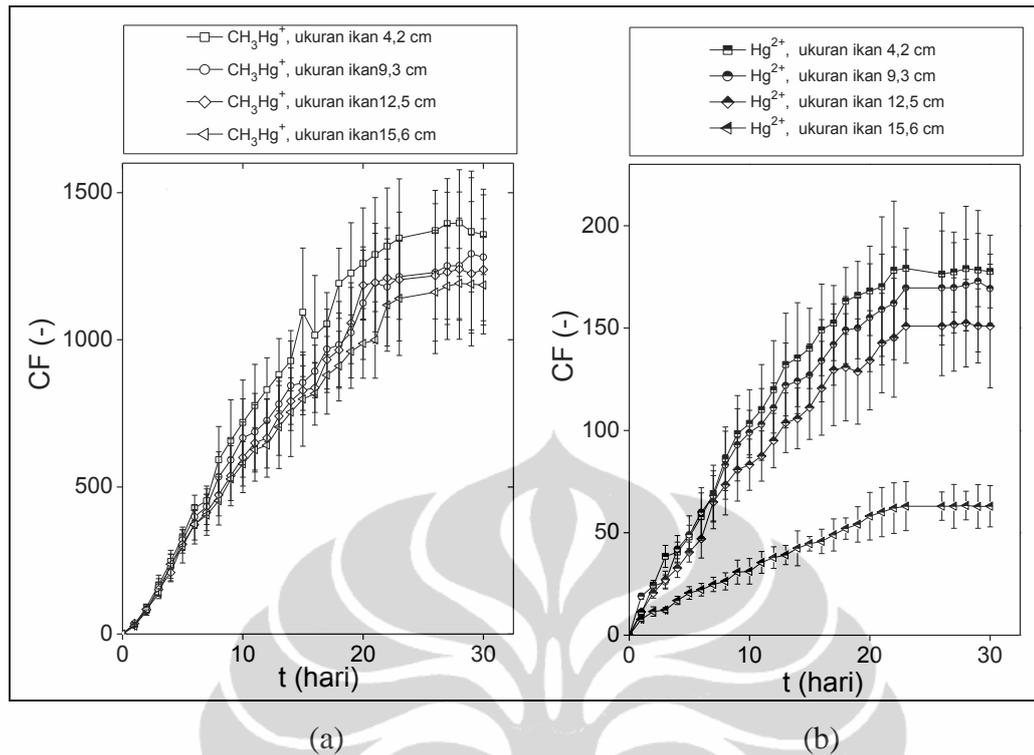
Gambar 4.21. Pengaruh salinitas medium air terhadap laju pelepasan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+}

berkisar 5 - 16% disebabkan pada kondisi salinitas 22 - 30‰ *O. mossambicus* masih toleran terhadap perubahan tersebut. Kehilangan toleransi terhadap perubahan salinitas lingkungan dijumpai pada kondisi hipersalinitas. *Oreochromis mossambicus* mengalami gangguan ketika berada pada medium salinitas 60‰ (Haney *et al.* 2003).

4.1.4. Pengaruh Ukuran *O. mossambicus* terhadap Bioakumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+}

4.1.4.1. Prediksi Bioakumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} Pada Berbagai Ukuran

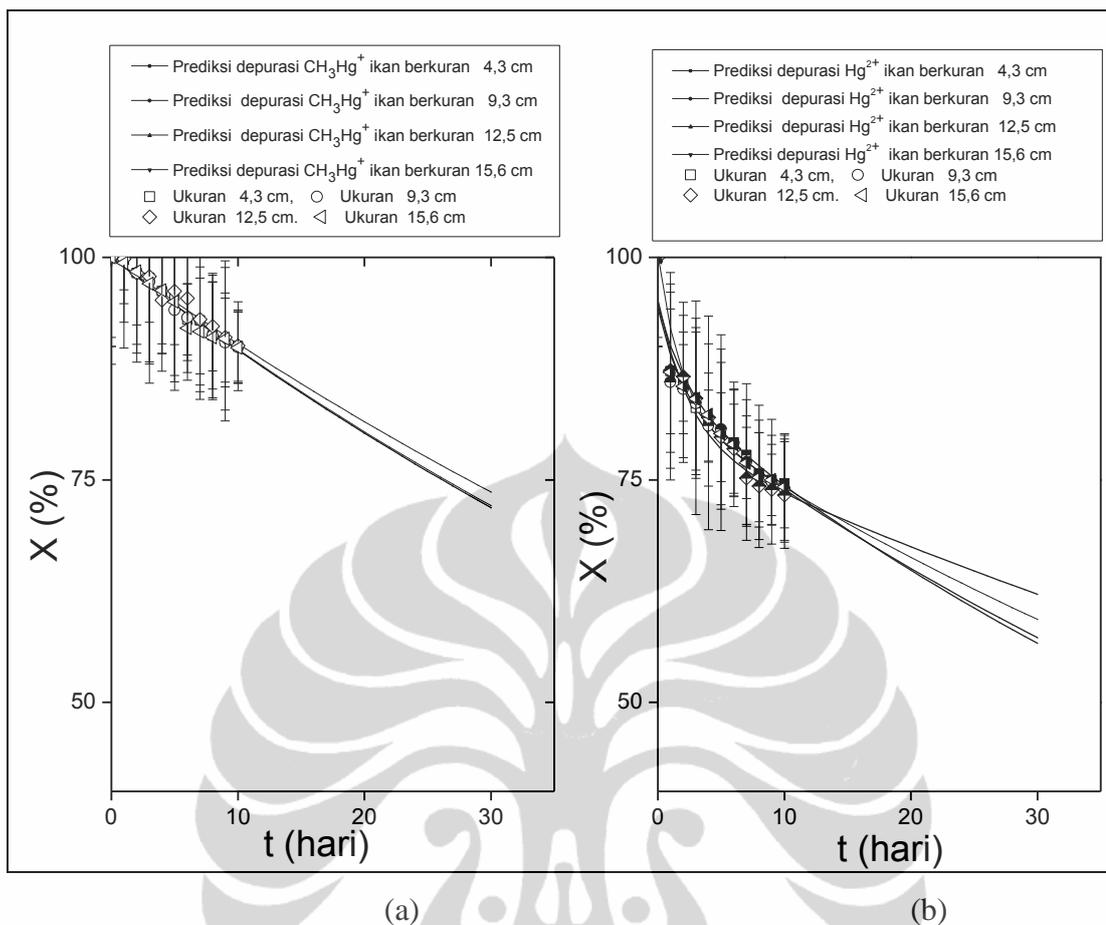
Faktor-faktor biologi seperti ukuran tubuh juga mempengaruhi proses pengambilan logam oleh biota perairan. Ukuran tubuh mengendalikan dan mempunyai korelasi terhadap akumulasi logam pada berbagai biota (Ke *et al.* 2000). Ukuran tubuh diketahui merupakan faktor yang mempengaruhi konsentrasi logam di dalam tubuh biota. Walaupun demikian, mekanisme yang menjelaskan pengaruh tersebut belum sepenuhnya diketahui (Hédouin *et al.*, 2006). Akumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} pada berbagai ukuran *O. mossambicus* ditunjukkan pada Gambar 4.22, Lampiran 7 dan 8.



Gambar 4.22. Pengambilan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} oleh *O. mossambicus* berukuran 4,2 - 15,6 cm dari medium air (a) CH_3Hg^+ (b) Hg^{2+}

Berdasarkan eksperimen, nilai CF setelah terpapar CH_3Hg^+ berkisar antara 1208,74 - 1419,34. Nilai CF CH_3Hg^+ pada ikan yang kecil (4,2 cm) 117% lebih besar dibandingkan dengan pada ukuran yang besar (15.6 cm). Nilai CF Hg^{2+} berkisar antara 64,20 - 181,59 dan pada ikan yang lebih kecil (4,2 cm) 284% lebih besar dibandingkan dengan pada ukuran yang besar (15.6 cm).

Pelepasan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} dari dalam tubuh *O. mossambicus* ditunjukkan pada Gambar 4.23. Setelah terpapar CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} selama 23 - 30 hari proses pelepasan kedua kontaminan tersebut dalam air menunjukkan pola yang berbeda. Proses pelepasan CH_3Hg^+ terdiri dari satu tahapan, disisi lain pelepasan Hg^{2+} terdiri dari 2 tahapan yaitu: pelepasan cepat dan pelepasan lambat. Pada hari pertama Hg^{2+} dilepas dari dalam tubuh dengan cepat dimana konstanta laju pelepasannya adalah $0,130 - 0,140 \text{ hari}^{-1}$. Pada hari kedua dan seterusnya pelepasan terjadi secara gradual. Perhitungan konstanta laju pelepasan Hg^{2+} adalah $0,023 \text{ hari}^{-1}$. Perkiraan pelepasan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} setelah terpapar selama 30 hari ditunjukkan pada Gambar 4.23.



Gambar 4.23. Pelepasan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} oleh *O. mossambicus* berukuran 4,3- 15,6 cm. (a) CH_3H^+ (b) Hg^{2+}

$$A_t = 85,00e^{-0,014.t} + 9,60e^{-0,442.t}$$

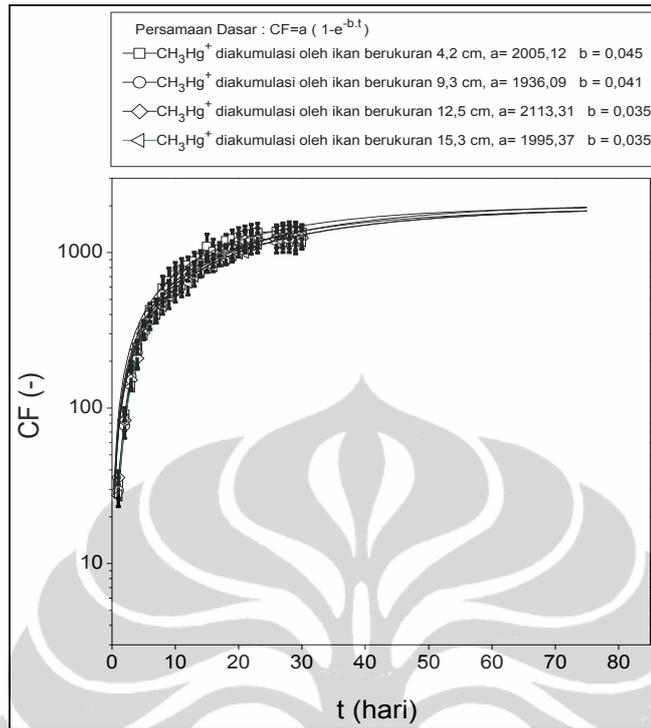
$$A_t = 83,89e^{-0,013.t} + 10,40e^{-0,509.t}$$

$$A_t = 79,54e^{-0,01.t} + 15,68e^{-0,401.t}$$

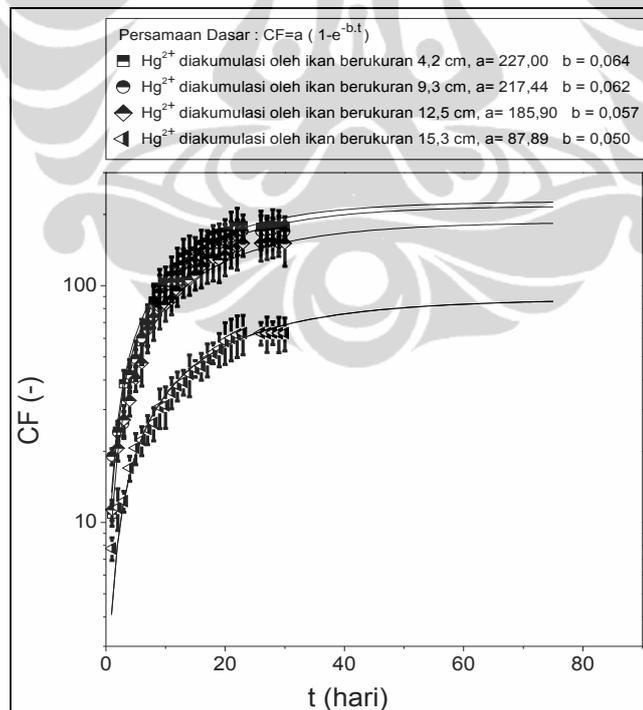
$$A_t = 82,81e^{-0,11.t} + 17,50e^{-0,543.t}$$

Estimasi waktu tinggal biologis Hg^{2+} di dalam tubuh *O. mossambicus* 26,06 – 9,6 hari. Pelepasan CH_3Hg^+ melalui 1 tahapan tunggal dan gradual. Perhitungan konstanta laju pelepasan CH_3Hg^+ adalah 0,010 – 0,011 hari⁻¹. Estimasi waktu tinggal biologis CH_3Hg^+ di dalam tubuh *O. mossambicus* 63,24 – 67,96 hari.

Perbandingan dan prediksi proses akumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} oleh *O. mosammbicus* ditunjukkan pada Gambar 4.24. Mengacu pada Gambar 4,24 menunjukkan bahwa hasil eksperimen maupun prediksi menggunakan persamaan



(a)



(b)

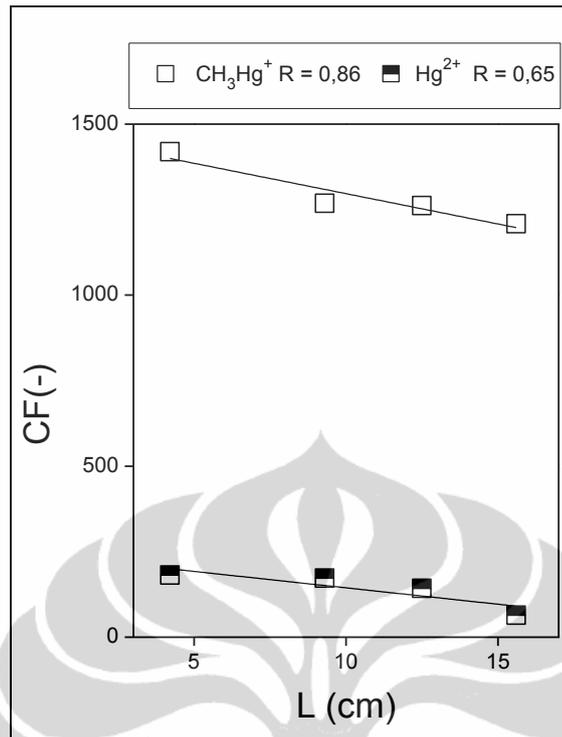
**Gambar 4.24. Pengambilan CH_3Hg^+ maupun Hg^{2+} dari medium air oleh *O. mossambicus* berukuran 4,2 cm – 15,3 cm.
(a) CH_3Hg^+ (b) Hg^{2+}**

non linier, ukuran tubuh *O. mossambicus* memberikan efek terhadap kemampuan bioakumulasi kedua kontaminan tersebut. Nilai CF CH_3Hg^+ berdasarkan prediksi berkisar antara 1936,09 – 2053,12. Nilai CF tersebut pada ikan yang lebih kecil (4,2 cm) 1,03 kali lebih besar dibandingkan ikan yang berukuran besar (15,3 cm). Disisi lain CF Hg^{2+} berdasarkan prediksi berkisar antara 87,89 - 227,00. Nilai CF pada ikan yang lebih kecil (4,2 cm) 2,56 kali lebih besar dibandingkan ikan yang berukuran besar (12,5 cm).

Peningkatan ukuran tubuh menurunkan rasio luas permukaan terhadap volume. Luas permukaan memainkan peranan yang signifikan terhadap proses bioakumulasi karena tahapan pertama proses ini adalah adsorpsi pada permukaan sel. Semakin besar luas permukaan tubuh ikan maka kuantitas kontaminan yang diadsorpsi semakin banyak. Ikan yang berukuran besar berumur lebih tua dibandingkan dengan yang berukuran kecil. Kemampuan pengaturan logam dimulai dari akumulasi sampai dengan eliminasi pada ikan berusia muda lebih cepat dibandingkan dengan yang berusia tua (Hedouin, 2006). Sebagai perbandingan kemampuan akumulasi krustase *Systellaspis debilis* terhadap Fe, Zn, Cd dan Mn menurun pada yang berukuran besar (White *et al.* 1987).

4.1.4.2. Pengaruh Perubahan Ukuran Ikan Terhadap Faktor Konsentrasi, Laju Pengambilan, Influk dan Laju Pelepasan

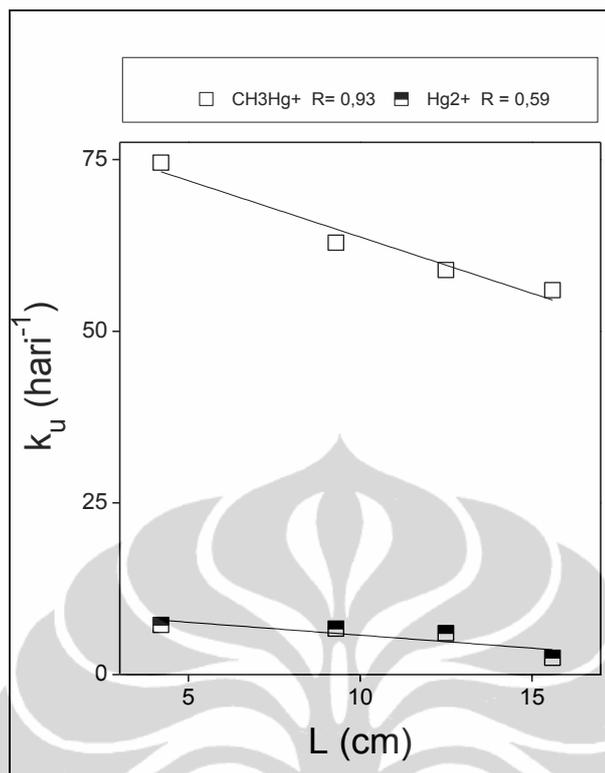
Rekapitulasi nilai CF CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} yang dipengaruhi ukuran tubuh baik berdasarkan eksperimen maupun prediksi ditunjukkan pada Gambar 4.25. Mengacu pada Gambar 4.25, menunjukkan bahwa kenaikan ukuran ikan akan sedikit menurunkan kemampuan akumulasi CH_3Hg^+ . Disisi lain kenaikan ukuran ikan akan menurunkan kemampuan akumulasi Hg^{2+} . Hal ini ditunjukkan oleh nilai slope pada kurva hubungan antara ukuran ikan terhadap nilai CF. Nilai slope CH_3Hg^+ sangat kecil dibandingkan dengan nilai slope Hg^{2+} . Sistem pengaturan logam di dalam tubuh ikan yang berusia muda pada umumnya umumnya lebih cepat dibandingkan ikan yang berusia tua. Laju pengambilan berhubungan dengan sistem regulasi tersebut sehingga laju bioakumulasi juga akan lebih tinggi pada ikan yang berusia muda (Kojadinovic, 2007). Pertumbuhan ukuran ikan mengencerkan kontaminan di dalam tubuh. Hubungan ukuran tubuh dengan



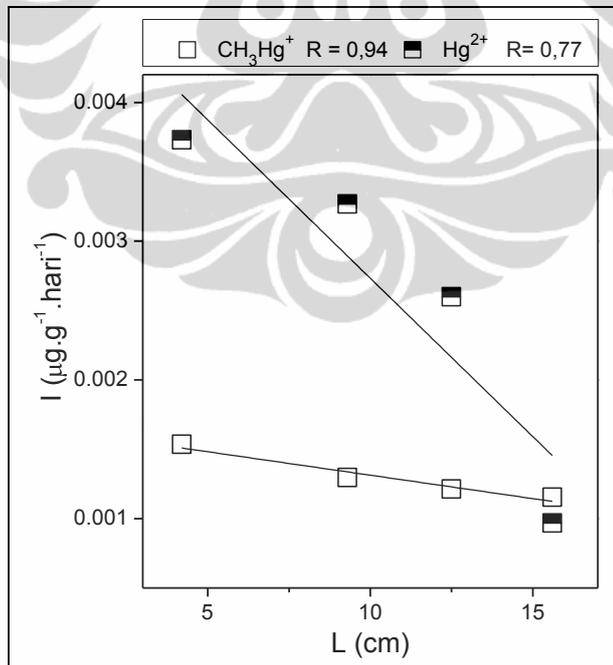
Gambar 4.25. Pengaruh kenaikan ukuran tubuh *O. mossambicus* terhadap kemampuan akumulasi CH₃Hg⁺ dan Hg²⁺.

kemampuan akumulasi kontaminan juga diamati oleh Cay *et al* (2007) yang melakukan analisis kandungan CH₃Hg⁺ dan Hg²⁺ pada berbagai ikan pelagis. Hasil analisis tersebut menunjukkan terdapat hubungan yang positif kuat antara kandungan senyawaan merkuri ukuran tubuh. Kandungan senyawaan merkuri pada ikan-ikan tersebut cenderung meningkat dengan bertambahnya ukuran tubuh. Kandungan asam lemak pada ikan-ikan pelagis tersebut cenderung tinggi pada ikan yang berukuran besar dibandingkan dengan ukuran yang kecil. Disisi lain dalam tubuh ikan merkuri tertimbun pada jaringan lemak.

Konstanta laju pengambilan dan laju pengambilan (influks) CH₃Hg⁺ dan Hg²⁺ pada berbagai ukuran *O. mossambicus* ditunjukkan pada Gambar 4.26 dan 4.27. Mengacu pada Gambar 4.26, menunjukkan bahwa k_u CH₃Hg⁺ dan Hg²⁺ cenderung mengalami penurunan pada kenaikan ukuran tubuh. Konstanta laju pengambilan CH₃Hg⁺ dan Hg²⁺ berturut-turut berkisar antara 55,96 - 74,52 .hari⁻¹ dan 2,66 - 9,69 hari⁻¹. Sebagai perbandingan, hasil eksperimen Liao *et al* (2003) menunjukkan bahwa *O. mossambicus* berukuran kecil lebih mampu



Gambar 4.26. Pengaruh ukuran *O.mossambicus* terhadap konstanta laju pengambilan Hg^{2+} dan CH_3Hg^+ .

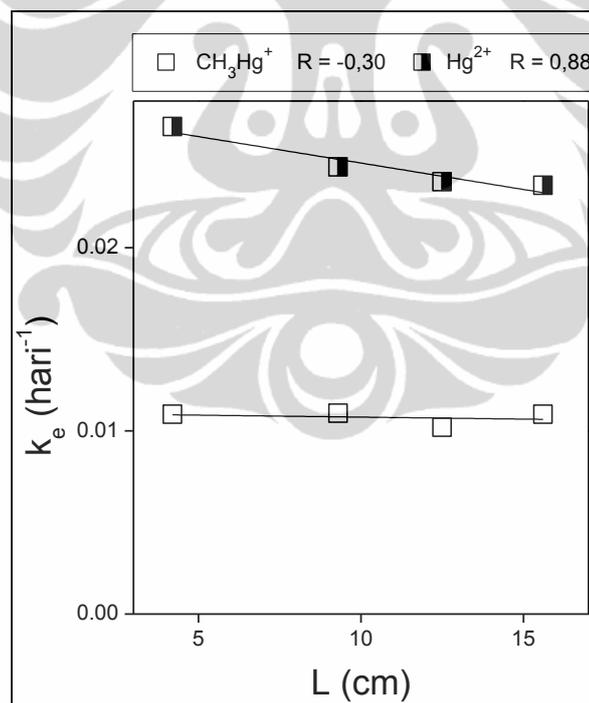


Gambar 4.27. Pengaruh ukuran *O.mossambicus* terhadap influks CH_3Hg^+ dan Hg^{2+}

mengakumulasi senyawaan arsenik dibandingkan dengan yang berukuran lebih besar. Laju pengambilan berhubungan dengan sistem regulasi logam di dalam

tubuh ikan sehingga laju bioakumulasi juga akan lebih tinggi pada ikan yang berusia muda (Kojadinovic, 2007). Lebih lanjut pengaruh pertumbuhan ikan mengencerkan kontaminan di dalam tubuh. Laju pengambilan dan pelepasan polutan tergantung dari koefisien difusi pada kedua lapisan tersebut, nilai koefisien partisi lemak-air polutan, luas perpindahan dan ukuran ikan. Luas pertukaran juga tergantung dari ukuran ikan (Jager *et al.* 2005).

Pengaruh ukuran tubuh *O. mossambicus* terhadap pelepasan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} ditunjukkan pada Gambar 4.28. Mengacu pada Gambar 4.28 menunjukkan bahwa ukuran sedikit mempengaruhi laju pelepasan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} . Hal ini ditunjukkan oleh nilai slope yang sangat kecil sehingga penambahan ukuran tubuh tidak mempengaruhi kecepatan pelepasan. Mekanisme pelepasan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} tidak ditentukan oleh bagaimana kedua kontaminan tersebut diakumulasi oleh *O. mossambicus*. Pada eksperimen ini nilai k_e merupakan laju pelepasan yang diamati pada saat paparan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} eksternal dihentikan. Pada



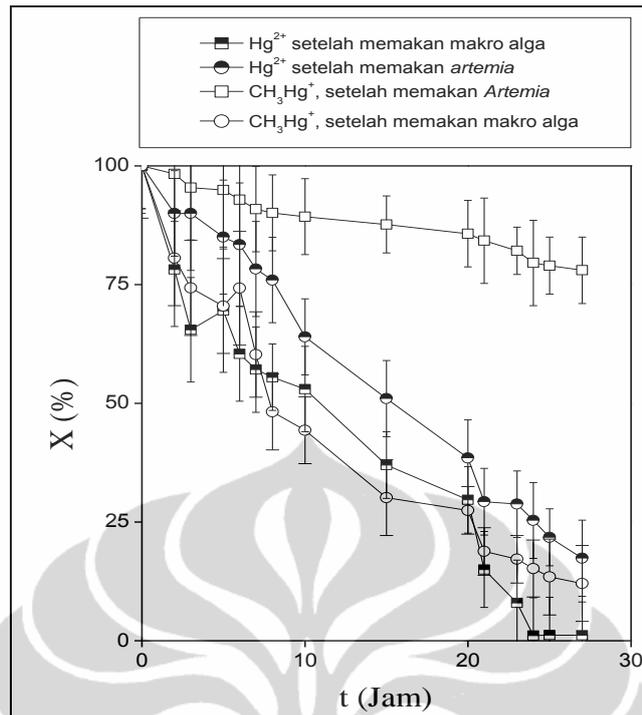
Gambar 4.28. Pengaruh ukuran *O. mossambicus* terhadap laju pelepasan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+}

pengamatan ini diasumsikan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} telah didistribusikan ke seluruh organ tubuh ikan. Berdasarkan asumsi tersebut proses pelepasan dimulai dari organ-organ sasaran dan dieksternalisasi ke sistem ekskresi ikan.

4.2. Bioakumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} Melalui Jalur Pakan

Jalur utama bioakumulasi merkuri pada biota perairan adalah melalui jalur pakan. Konsentrasi senyawaan merkuri dalam tubuh biota perairan berhubungan dengan fluktuasi konsentrasi merkuri di dalam air, pH dan tingkatan konsentrasi senyawaan karbon organik terlarut (Bank *et al.* 2009). Menurut Luoma *et al.* (2005) model biokinetika dapat memprediksi kondisi tunak kontaminan dalam tubuh biota berdasarkan parameter-parameter independen seperti laju pengambilan, konsentrasi kontaminan dalam pakan, laju pelepasan dan efisiensi asimilasi (AE). Nilai AE ditentukan dari persen senyawaan Hg yang tertahan dalam tubuh setelah 24 jam pemberian pakan yang mengandung kontaminan tersebut. Setelah 24 jam seluruh fase padatan yang tidak dapat dicerna selanjutnya diekresikan keluar tubuh melalui sistem pencernaan ikan. Fraksi yang tidak tercerna tersebut masih mengandung CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} (Wang *et al.*, 2003; Pickhard *et al.* 2006 dan Wang *et al.*, 2010). Fraksi yang tertahan di dalam tubuh ikan pada waktu periode tersebut merupakan bagian yang telah tercerna dan diserap oleh usus halus untuk selanjutnya masuk ke dalam sel darah merah dan didistribusikan keseluruh tubuh.

Oreochromis mossambicus mengkonsumsi pakan alami antara lain dari mulai fitoplankton, diatom, zooplankton, makroalga sampai dengan hewan kecil lainnya. Berbagai penelitian bioakumulasi melalui jalur pakan menggunakan *artemia sp* sebagai zooplankton. Fraksi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} yang tertahan dalam tubuh ikan setelah diberi pakan *artemia sp* dan makroalga ditunjukkan pada Gambar 4.29 . Berdasarkan Gambar 4.29 menunjukkan bahwa fraksi Hg^{2+} yang tertahan dalam tubuh *O. mossambicus* setelah 24 jam (AE) berturut-turut 25,34 dan 1,17% berasal dari artemia dan makroalga. Efisiensi Asimilasi (AE) CH_3Hg^+ masing-masing 79,56 dan 15,21% berasal dari artemia dan makroalga. Nilai AE CH_3Hg^+ dari pakan *Artemia sp* 3,14 kali lebih besar dibandingkan



Gambar 4.29. Fraksi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} yang tertahan dalam tubuh *O. mossambicus* setelah diberi pakan *artemia* dan makroalga

dengan Hg^{2+} . Nilai AE CH_3Hg^+ dari pakan makroalgae 13 kali lebih besar dibandingkan dengan Hg^{2+} . Berdasarkan Gambar 4.28 menunjukkan bahwa fraksi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} yang berasal dari sumber pakan hewani (*Artemia sp*) lebih mudah diasimilasi oleh *O. mossambicus* dibandingkan dengan sumber pakan yang kaya akan serat (makro alga). Hasil eksperimen ini cukup dapat dibandingkan dengan penelitian-penelitian bioakumulasi lainnya. Perbandingan tersebut disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3.3. Perbandingan nilai AE pada beberapa jenis ikan

Biota	Jenis pakan	AE (%)		Acuan
		CH_3Hg^+	Hg^{2+}	
<i>O. mossambicus</i>	Makro alga	15,21	1,17	Penelitian ini
	<i>Artemia sp</i>	79,56	25,34	
<i>P. gibbosuaik</i>	<i>Artemia sp</i>	80,0	20,0	Wang <i>et al.</i> 2003
<i>G. affinis</i>	<i>Artemia sp</i>	89,6 – 94,1	15,0 - 26,0	Pichardt <i>et al.</i> 2006
<i>L. microlophus</i>	<i>Artemia sp</i>	85,8 – 91,4	8,5 - 9,8	Pichardt <i>et al.</i> 2006
<i>O. nitolicus</i>	<i>Artemia sp</i>	85,2 – 95,4	13,2 - 24,9	Wang <i>et al.</i> 2010

Mengacu pada Tabel 3 menunjukkan bahwa ikan mempunyai kemampuan mengasimilasi CH_3Hg^+ yang terkandung dalam *Artemia sp.* Lebih dari 75% CH_3Hg^+ yang terkandung dalam *Artemia* diasimilasi ke dalam tubuh ikan. Sedangkan Hg^{2+} yang terkandung dalam *Artemia sp.* diasimilasi 13,2 – 25,34%. Berdasarkan hal tersebut maka CH_3Hg^+ dari jalur pakan lebih mudah diasimilasi karena dikontrol melalui kemampuan ikan mencerna pakan selanjutnya kelarutannya dari substrat dan ikatan subsekuen kemudian berikatan berikatan dengan tiol ($\text{CH}_3\text{Hg-SR}$) dalam usus ikan (Pickhard *et al.* 2006). Perbedaan antara nilai AE kedua kontaminan tersebut disebabkan oleh sifat lipofilik CH_3Hg^+ lebih besar dibandingkan dengan Hg^{2+} . Mc Closkey *et al* (1998) membuktikan bahwa setelah 4 jam dari pemberian pakan, CH_3Hg^+ terdapat di dalam darah ikan dan mencapai kesetimbangan setelah 30 jam. Mengacu pada fenomena tersebut maka proses pencernaan dan akumulasi di dalam darah sudah terjadi pada periode 4 jam pertama. Akumulasi CH_3Hg^+ dalam darah berlangsung 30 jam sebelum didistribusikan ke seluruh jaringan tubuh. Setelah proses kesetimbangan terjadi, CH_3Hg^+ dalam darah menurun secara bieksponensial.

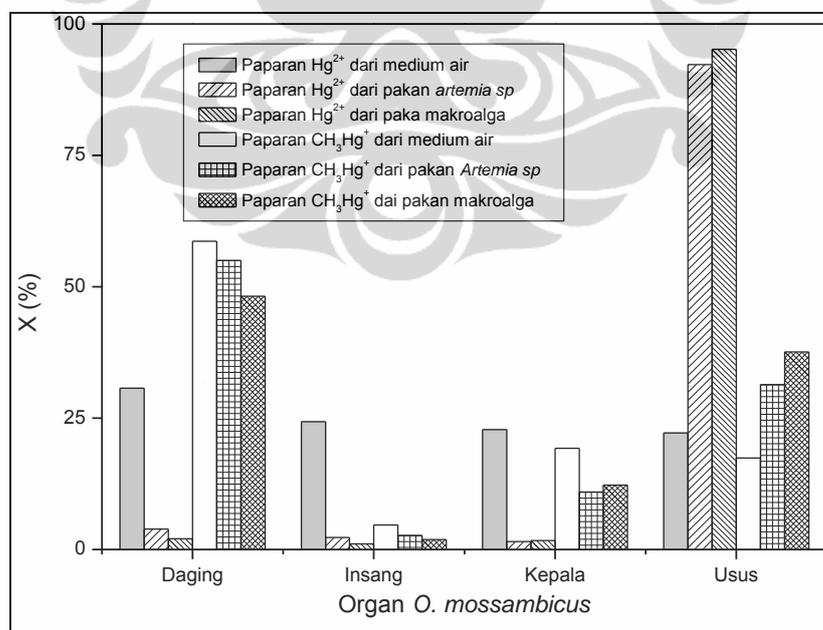
Penentuan nilai AE dilakukan 24 jam setelah diberi pakan dan fraksi tertahan ditentukan berdasarkan kandungan $\text{CH}_3^{203}\text{Hg}^+$ dalam seluruh tubuh ikan. Nilai AE tersebut merupakan persentase $\text{CH}_3^{203}\text{Hg}^+$ yang dapat dicerna dari pakan yang merupakan fase padat kemudian diserap dalam tubuh. Fase padat pakan berserta sisa $\text{CH}_3^{203}\text{Hg}^+$ yang terkandung di dalamnya. Schultz *et al* (1996) melakukan pengamatan perilaku Hg^{2+} yang diinjeksikan ke dalam pembuluh darah ikan. Dibandingkan dengan CH_3Hg^+ , konsentrasi Hg^{2+} di dalam darah menurun setelah 12 jam disuntikan ke dalam tubuh ikan.

Mengacu pada kedua percobaan tersebut, pakan yang mengandung CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} dicerna di dalam usus kemudian secara gradual diabsorpsi oleh usus halus dan didesopsi ke dalam darah. Proses akumulasi dalam darah berlangsung 12 jam untuk Hg^{2+} dan 30 jam untuk CH_3Hg^+ dan setelah kedua periode waktu tersebut diedarkan keseluruh jaringan tubuh untuk diakumulasi maupun diekskresikan.

4.3. Distribusi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} diberbagai Organ *O. mossambicus* dan Respon Enzim Antioksidan pada Proses Bioakumulasi

4.3.1. Distribusi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} diberbagai Organ *O. mossambicus*

Bioakumulasi terdiri dari tahapan pengambilan dari medium, distribusi ke seluruh organ tubuh, detoksifikasi dan ekresi. Pada penelitian ini pengamatan distribusi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} dilakukan hanya pada 4 bagian organ tubuh, yaitu: daging, insang, kepala dan usus. Pemilihan organ tubuh *O. mossambicus* didasarkan pada: insang organ yang pertama kali kontak dengan kontaminan melalui jalur air, usus merupakan organ yang pertama kali kontak dengan kontaminan melalui jalur pakan, daging dan kepala merupakan organ terakumulasinya kontamina tersebut. Distribusi kedua kontaminan tersebut ditunjukkan pada Gambar 4.30. Mengacu pada Gambar 4.30 menunjukkan bahwa persentase distribusi kedua kontaminan tersebut di dalam daging, insang, kepala dan usus tidak sama. Persentase distribusi pada organ ditentukan oleh sumber paparan (air dan pakan) dan kuantitas paparan (Havelkova *et al*, 2008). Paparan CH_3Hg^+ melalui jalur air mengakibatkan 58,65% terakumulasi di dalam daging, 4,69% di dalam insang, 19,26% di dalam kepala dan 17,4% di dalam usus. Akibat



Gambar 4.30. Distribusi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} pada beberapa organ tubuh setelah terpapar dari jalur air dan pakan

paparan CH_3Hg^+ melalui jalur pakan 48,21 - 55,02 % terakumulasi pada daging; 10,93 - 12,28% terakumulasi pada kepala; 31,37 - 31,67%; terakumulasi pada usus. Paparan Hg^{2+} dari medium air mengakibatkan kontaminan tersebut berada dalam daging, insang, kepala dan usus berturut-turut sebesar 30,71; 24,31; 22,81 dan 22,17%. Paparan Hg^{2+} dari jalur pakan *Artemia* dan makroalga berturut-turut 92,29 dan 95,2% terakumulasi di dalam usus. Pada paparan melalui medium air, Hg^{2+} pertama-tama diakumulasi oleh insang dan didistribusikan oleh darah keseluruh tubuh untuk diakumulasi dan diekskresi keluar tubuh. Melalui jalur pakan Hg^{2+} harus dicerna terlebih dahulu oleh sistem pencernaan sehingga sebagian besar terakumulasi di dalam usus. Setelah terpapar melalui jalur pakan, persentase fraksi Hg^{2+} dalam usus sangat dominan dibandingkan 3 organ lainnya. Disisi lain fraksi CH_3Hg^+ dalam usus setelah terpapar melalui jalur pakan tidak dominan. Paparan CH_3Hg^+ melalui jalur pakan dan air sebagian besar terakumulasi di dalam daging. Menurut Rouleau *et al* (1998), mekanisme pengambilan kontaminan melalui jalur pakan terdiri dari dua tahapan, yaitu: absorpsi oleh usus dan didistribusikan oleh darah ke seluruh organ tubuh. Metil merkuri lebih mudah diakumulasi oleh predator karena mudah melalui hambatan biologis (Rouleau *et al.* 1998).

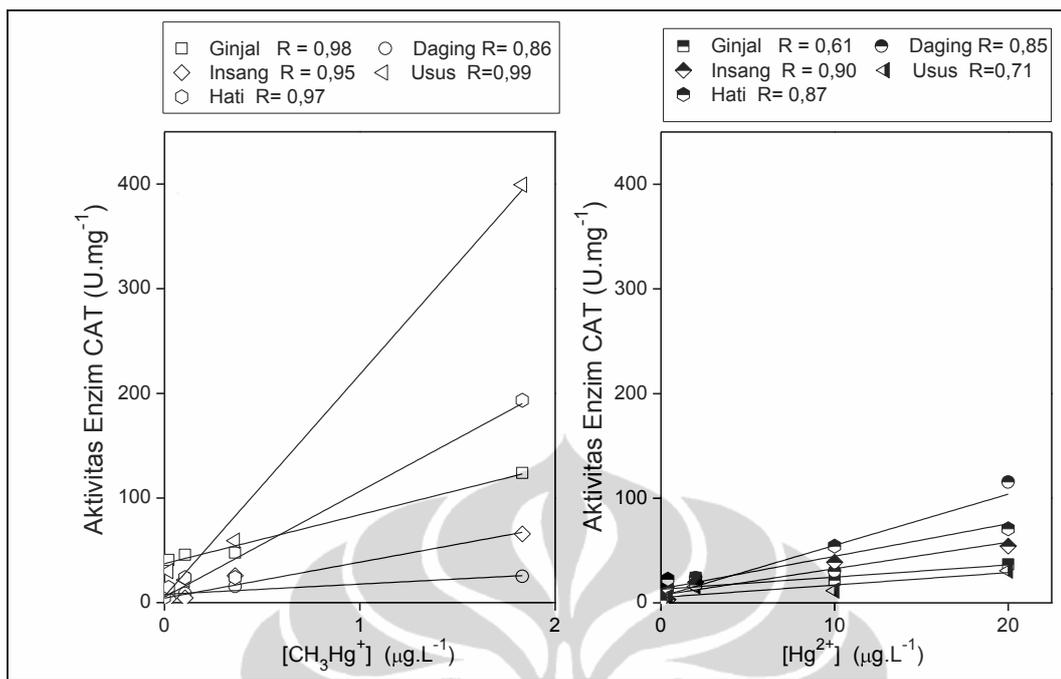
4.3.2. Respon Enzim Antioksidan pada Proses Bioakumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+}

Berbagai gangguan internal dan eksternal pada sel menghasilkan spesi oksigen reaktif (ROS). Pada kondisi normal biota menjaga keseimbangan antara menghasilkan dan menetralkan ROS dan pada saat terpapar oleh polutan (termasuk senyawaan merkuri). Pada kondisi ini, laju produksi ROS seperti radikal anion ($\text{O}_2^{\bullet-}$), hidrogen peroxide (H_2O_2), radikal hidroksi ($\text{OH}^{\bullet-}$) dan radikal peroksil ($\text{ROO}^{\bullet-}$) meningkat (Verlecar *et al.* 2006). Spesi oksigen reaktif tersebut akan bereaksi dengan makromolekul (lipida, protein dan asam nukleat). Oksigen reaktif ini menyebabkan perubahan sitosol termasuk keseimbangan redoks, inaktivasi enzim peroksidasi lipida, degradasi protein bahkan kematian sel. Seluruh biota mempunyai sistem pertahanan berupa antioksidan di dalam sel baik berupa komponen enzimatik maupun nonenzimatik. Jalur enzimatik mengandung super oksida dismutase (SOD), katalase (CAT) dan glutathion

peroksidase (GPX). Radikal $O_2^{\bullet-}$ dieliminir oleh SOD menjadi H_2O_2 , selanjutnya H_2O_2 dinetralkan menjadi air dan peroksida organik melalui reaksi yang dikatalisis oleh GPX. Enzim Glutathion reduktase meregenerasi GSH dari glutathione teroksidasi (GSSG). Konjugat GST xenobiotik dikonjugasi oleh GSH untuk diekresikan keluar sistem tubuh.

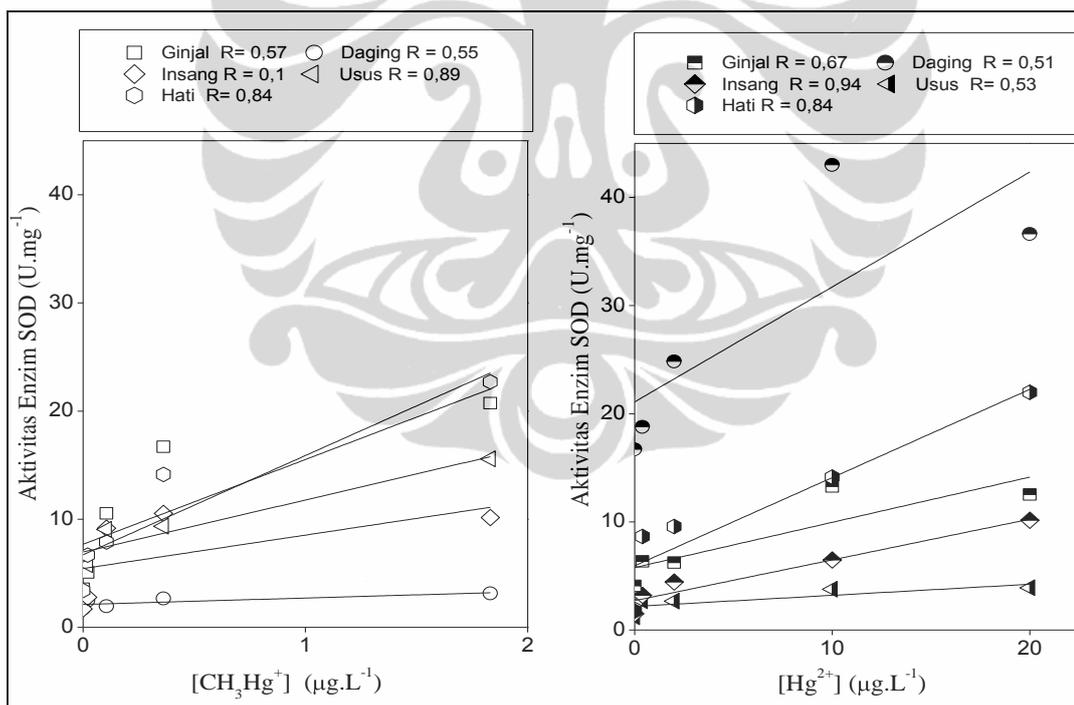
Pembentukan ROS merupakan faktor utama pada toksisitas Hg^{2+} dan CH_3Hg^+ . Stress oksidatif yang ditimbulkan oleh CH_3Hg^+ berkaitan dengan interaksinya dengan gugus tiol seperti GSH (Franco *et al.* 2009). Seperti halnya logam toksik lainnya, merkuri dalam berbagai bentuk senyawaan memicu pembentukan ROS di dalam jaringan tubuh ikan. ROS menyebabkan kerusakan berbagai molekul biologis. Dalam kondisi normal ikan mampu mendetoksifikasi dan menghilangkan ROS dalam sel melalui sistem antioksidan dan mempertahankan keseimbangan antara pembentukan ROS dengan netralisasinya (Huang *et al.* 2010). Pembentukan ROS dipengaruhi oleh dosis CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} terhadap tubuh *O. mossambicus*. Dosis ini berkaitan dengan konsentrasi eksternal dari medium air. Eksperimen ini hanya melakukan pengujian respon enzim SOD dan CAT terhadap variasi konsentrasi paparan kedua kontaminan tersebut. Informasi yang diperoleh cukup untuk menjelaskan hubungan antara kemampuan akumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} oleh *O. mossambicus* terhadap berbagai pengaruh faktor eksternal yang berkaitan toleransinya pada tingkatan toksisitas kedua kontaminan tersebut. Pengaruh paparan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} terhadap aktivitas enzim antioksidan yang direpresentasikan oleh SOD dan CAT ditunjukkan pada Gambar 4.31.

Gambar 4.31 menunjukkan bahwa kenaikan konsentrasi CH_3Hg^+ dalam medium air menyebabkan peningkatan aktivitas SOD maupun CAT di setiap jaringan tubuh *O. mossambicus*. Setelah 30 hari terpapar $1,831\mu g l^{-1}$ CH_3Hg^+ , kenaikan aktivitas enzim SOD pada daging, usus, insang, ginjal dan hati *O. mossambicus* berturut-turut sebesar 5,83; 1,82; 5,92; 1,30 dan 14,10 kali dibandingkan tidak terdapat paparan. Disisi lain, kenaikan konsentrasi Hg^{2+} dalam medium air menyebabkan peningkatan aktivitas SOD maupun CAT di setiap jaringan tubuh *O. mossambicus*. Peningkatan O_2^- menyebabkan kenaikan aktivitas enzim baik SOD maupun CAT. Kenaikan aktivitas enzim SOD pada



(a)

(b)



(c)

(d)

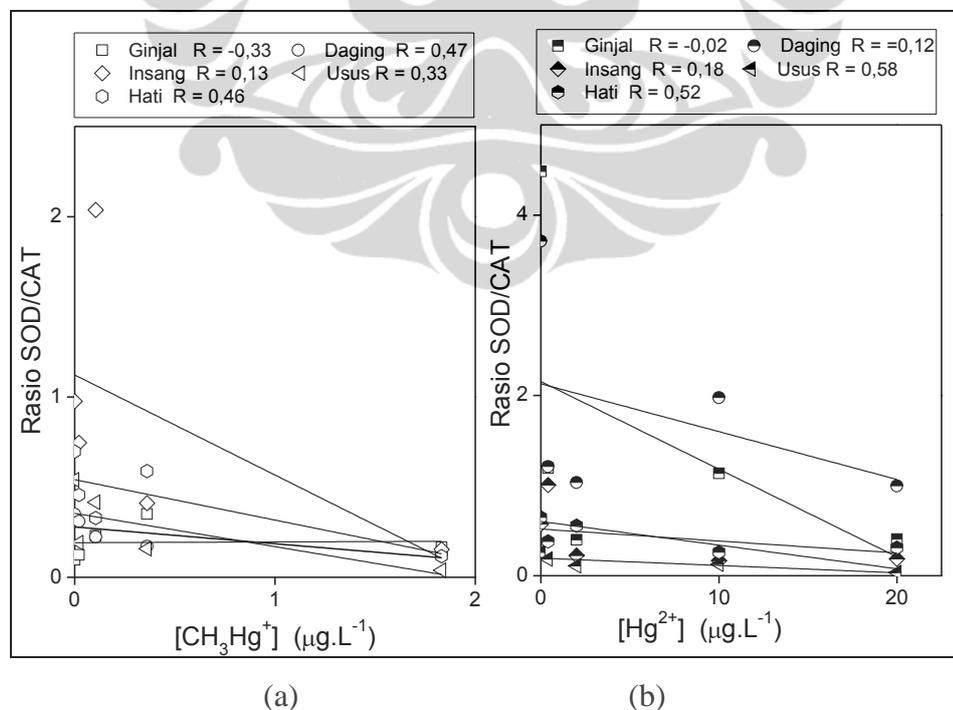
Gambar 4.31. Pengaruh konsentrasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} terhadap aktifitas enzim antioksidan berbagai organ *O. mossambicus*. (a). SOD akibat terpapar CH_3Hg^+ (b) CAT akibat terpapar CH_3Hg^+ (d). SOD akibat terpapar Hg^{2+} (d) CAT akibat terpapar Hg^{2+}

daging, usus, insang, ginjal dan hati *O. mossambicus* setelah terpapar $20\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ Hg^{2+} selama 23 hari berturut-turut sebesar 2,19; 3,26; 6,72; 3,07 dan 12,56 kali dibandingkan tidak terdapat paparan. Disisi lain kenaikan aktivitas enzim CAT akibat terpapar $20\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ Hg^{2+} selama 23 hari pada daging, usus, insang, ginjal dan hati *O. mossambicus* berturut-turut sebesar 24,82; 33,82; 33,10; 24,82 dan 16,57 kali dibandingkan tidak terkena paparan Hg^{2+} . Disisi lain kenaikan aktivitas enzim CAT akibat terpapar $1,831\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ CH_3Hg^+ selama 30 hari pada daging, usus, insang, ginjal dan hati *O. mossambicus* berturut-turut sebesar 26,16; 5,06; 37,39; 17,15 dan 19,02 kali dibandingkan tidak terkena paparan. Peningkatan aktivitas kedua jenis enzim tersebut berhubungan dengan upaya menetralkan ROS yang dihasilkan akibat paparan CH_3Hg^+ maupun Hg^{2+} .

Kemampuan *O. mossambicus* mengeliminasi ROS dapat dibandingkan dengan ikan jenis lain yang terpapar oleh logam berat. Viera *et al* (2010) melakukan percobaan pengaruh paparan merkuri terhadap *Pomatoschistus microps* sejenis ikan yang hidup dimuara. Hasil percobaan tersebut menunjukkan dapat dibandingkan dengan menunjukkan aktivitas enzim SOD maupun CAT mengalami peningkatan setelah terpapar Hg^{2+} $3,125 - 50 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Aktivitas enzim SOD mengalami peningkatan dari $23 \text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$ menjadi $40 \text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$ atau mengalami peningkatan 1,74 kali dibandingkan tidak terpapar Hg^{2+} . Aktivitas enzim CAT mengalami peningkatan dari $33 \text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$ menjadi $105 \text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$ atau mengalami peningkatan 3,18 kali dibandingkan tidak terpapar Hg^{2+} . Huang *et al* (2010) melakukan percobaan pengaruh paparan Hg^{2+} pada tahapan larva dan juvenil *Paralichthys olivaceus* sejenis ikan damersal. Hasil penelitian tersebut menunjukkan paparan Hg^{2+} $10 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ meningkatkan masing-masing SOD sebesar 80,1 dan 89,1% pada larva dan juvenil. Aktivitas enzim CAT juga mengalami peningkatan sebesar 127,2% pada larva dan 169,4% pada juvenil. Pengaruh paparan Pb^{2+} terhadap aktivitas enzim SOD dan CAT menunjukkan hal yang berbeda. Penelitian pada *Chlamys farreri* menunjukkan penurunan aktivitas SOD dibandingkan dengan hewan kontrol yang digunakan yang mana mengindikasikan paparan Pb^{2+} tersebut menghambat enzim SOD yang menyebabkan gangguan pada mitokondria sel yang memfasilitasi pelepasan O_2^- . Demikian halnya dengan aktivitas CAT mengalami inhibisi sebesar 28,7% setelah terpapar Pb^{2+} sehingga

H₂O₂ yang terbentuk dari ROS mengalami menumpukan akibat terlambat dihilangkan dari sel (Zhang *et al.* 2010). Pada *O. niloticus* paparan Cd²⁺ 1,0 mgL⁻¹ meningkatkan aktivitas enzim CAT 183% pada liver dibandingkan kondisi tidak terpapar (Atli *et al.* 2006). Disisi lain pada organ ginjal, peningkatan konsentrasi masing-masing sebesar 0,1 mg.l⁻¹ Cd²⁺, Cu²⁺, Cr⁶⁺, Ag⁺ menurunkan aktivitas enzim CAT masing-masing sebesar 87%; 25%; 21% dan 44%.

Dibandingkan dengan biota lainnya, peningkatan aktivitas enzim SOD dan CAT pada *O. mossambicus* sangat besar. Pada data pembandingan tersebut di atas, aktivitas enzim dianalisis setelah 2 sampai 96 jam terpapar kontaminan. Pada penelitian ini analisis enzim SOD dan CAT dilakukan setelah kondisi tunak tercapai pada proses bioakumulasi CH₃Hg⁺ dan Hg²⁺. Untuk mengetahui pengaruh peningkatan konsentrasi CH₃Hg⁺ dan Hg²⁺ terhadap aktivitas enzim SOD dan CAT harus diketahui keseimbangan antara produksi dan eliminasi ROS dari tubuh *O. mossambicus*. Tingkatan ROS pada keadaan tunak bisa digunakan untuk mengetahui keseimbangan antara produksi dan eliminasi (Lushchak, 2010). Pengaruh kenaikan konsentrasi CH₃Hg⁺ dan Hg²⁺ terhadap rasio enzim SOD/CAT ditunjukkan pada Gambar 4.32



Gambar 4.32. Rasio aktivitas enzim SOD terhadap CAT dalam berbagai organ *O. mossambicus*. (a) setelah terpapar CH₃Hg⁺ dari medium air (b) setelah terpapar Hg²⁺ dari medium air

Pada kondisi tidak terpapar CH_3Hg^+ rasio aktivitas SOD/CAT dalam daging, usus, insang, ginjal dan hati berturut-turut 0,75; 0,35; 0,98; 1,11 dan 0,33. Setelah terpapar Hg^{2+} $20\mu\text{g.l}^{-1}$ selama 23 hari rasio aktivitas SOD/CAT tersebut menjadi 0,17; 0,13; 0,15; 0,083 dan 0,24. Disisi lain pada kondisi tidak terpapar Hg^{2+} rasio aktivitas SOD/CAT dalam daging, usus, insang, ginjal dan hati berturut-turut 3,59; 1,32; 0,57; 0,88 dan 0,65. Setelah terpapar Hg^{2+} $20\mu\text{g.l}^{-1}$ selama 23 hari rasio aktivitas SOD/CAT tersebut menjadi 0,32; 0,13; 0,19; 0,11 dan 0,31.

Grotto *et al* (2009) mengevaluasi rasio SOD terhadap CAT untuk memahami efek dari paparan CH_3Hg^+ terhadap sistem antioksidasi. Rasio SOD/CAT meningkat akibat paparan CH_3Hg^+ . Pada kasus ini, peningkatan konsentrasi CH_3Hg^+ menyebabkan produksi O_2^- bertambah dan sel melakukan upaya menaikkan aktivitas SOD. Kenaikan aktivitas SOD tidak diimbangi dengan peningkatan aktifitas CAT secara proporsional dan menyebabkan penumpukan H_2O_2 dalam sel yang memfasilitasi produksi hidroksida reaktif (OH^\bullet). Rasio SOD/CAT yang tidak seimbang memicu kerusakan sel dan biomolekul.

Hasil eksperimen ini menunjukkan bahwa kenaikan konsentrasi CH_3Hg^+ maupun Hg^{2+} menyebabkan rasio SOD/CAT menurun. Penurunan ini mengindikasikan ketidakseimbangan antara produksi ROS dengan eliminasinya.

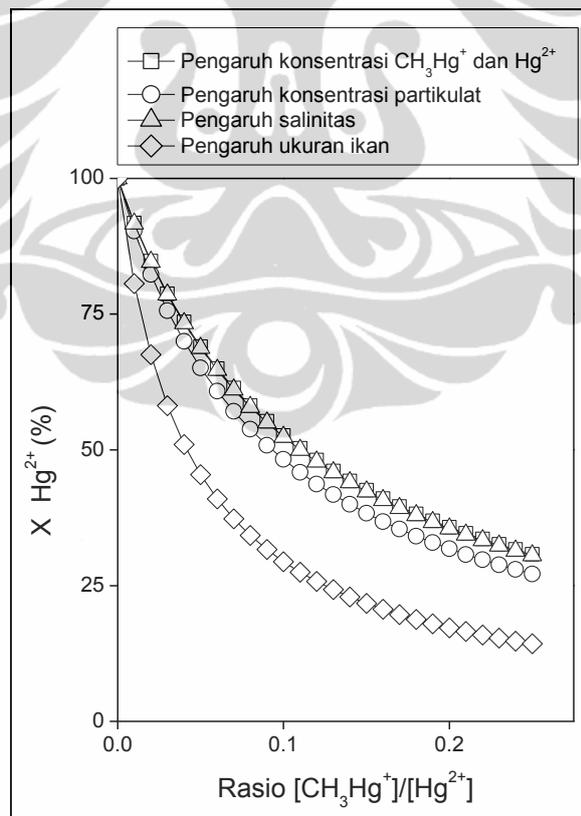
4.4. Prediksi Metilasi Merkuri

Untuk memprediksi relatif kontribusi pengambilan Hg^{2+} pada proses bioakumulasi merkuri, fraksi CH_3Hg^+ dalam lingkungan perairan harus ditetapkan. Berbagai studi pemantauan lingkungan melaporkan fraksi CH_3Hg^+ sangat kecil dibandingkan total merkuri yang terkandung di dalam air. Secara umum fraksi CH_3Hg^+ terhadap Hg^{2+} pada lingkungan perairan sebesar 5% (Morel *et al.* 1998). Pada prediksi ini digunakan asumsi rasio CH_3Hg^+ terhadap Hg^{2+} sebesar 5 - 10%. Prediksi menggunakan persamaan (15). Untuk keperluan perhitungan tersebut parameter bioakumulasi (CF_{ss} , k_u , k_e) dari seluruh variabel yang mempengaruhi bioakumulasi melalui jalur air (konsentrasi Hg^{2+} dan CH_3Hg^+ , kandungan partikulat, perubahan salinitas dan pengaruh ukuran *O. mossambicus*) harus ditetapkan.

Nilai CF digunakan untuk prediksi metilasi adalah rerata CF prediksi yang diperoleh dari eksperimen yaitu:

- (1) Variabel percobaan pengaruh konsentrasi, digunakan nilai CF CH_3Hg^+ 2001,92 dan CF Hg^{2+} 222,60
- (2) Variabel percobaan pengaruh partikulat, digunakan nilai nilai CF CH_3Hg^+ 2965,26 dan CF Hg^{2+} 275,30
- (3) Variabel percobaan pengaruh salinitas, digunakan nilai CF nilai CF CH_3Hg^+ 2022,66 dan CF Hg^{2+} 284,46.
- (4) Variabel percobaan pengaruh ukuran ikan , digunakan nilai nilai CF CH_3Hg^+ 2113,30 dan CF Hg^{2+} 227,00.

Hasil perhitungan yang merepresentasikan kontribusi Hg^{2+} terhadap bioakumulasi total merkuri ditunjukkan pada Gambar 4.3. Mengacu pada Gambar 4.33 menunjukkan bahwa pada asumsi rasio konsentrasi CH_3Hg^+ terhadap Hg^{2+} di perairan payau 0,1 sampai 0,25, maka diperoleh estimasi



Gambar 4.33. Prediksi persentase kontribusi Hg^{2+} terhadap bioakumulasi merkuri secara keseluruhan oleh *O. mossambicus*

rasio fraksi Hg^{2+} di dalam tubuh *O. mossambicus* hanya berkisar 14,3 - 27,5%. Hasil perhitungan menunjukkan kontribusi CH_3Hg^+ terhadap total akumulasi merkuri adalah 62,5 - 85,7%. Berdasarkan hal tersebut terbukti tidak terjadi metilasi dalam tubuh *O. mossambicus*.

4.4. Prediksi Bioakumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} oleh *O. mossambicus*

Keseluruhan proses bioakumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} merupakan kontribusi dari jalur air dan pakan yang direpresentasikan oleh faktor bioakumulasi (BAF). Mengingat potensi bahaya senyawaan merkuri bagi manusia, penetapan nilai CF_{ss} secara akurat sangat penting dilakukan dalam memprediksi nilai BAF. Metoda penetapan nilai CF_{ss} didasarkan pada kondisi tunak dimana nilai CF yang diamati pada periode waktu tersebut tidak lagi mempunyai kecenderungan peningkatan atau cenderung konstan. Pada kondisi tersebut nilai CF_{ss} ditetapkan menggunakan *fitting* kurva persamaan non linier. Berbagai studi bioakumulasi merkuri menggunakan metoda penetapan nilai CF_{ss} berdasarkan rasio konstanta laju pengambilan terhadap konstanta laju pelepasan (Wang *et al.* 2003, Pichardt *et al.* 2006, Wang *et al.* 2010). Menggunakan metoda ini maka eksperimen dapat dilakukan lebih singkat. Lacoue-Labarte *et al.* (2009) menetapkan nilai CF_{ss} berdasarkan *fitting* persamaan non linier kurva hasil penelitian setelah 10 hari walaupun kondisi tunak belum tercapai. Untuk memperkecil kesalahan dalam memprediksi nilai BAF maka pada penelitian ini nilai CF_{ss} ditentukan pada eksperimen telah mendekati kondisi tunak. Nilai BAF ditentukan menggunakan persamaan (13) sebagai perhitungan berdasarkan kondisi tunak.

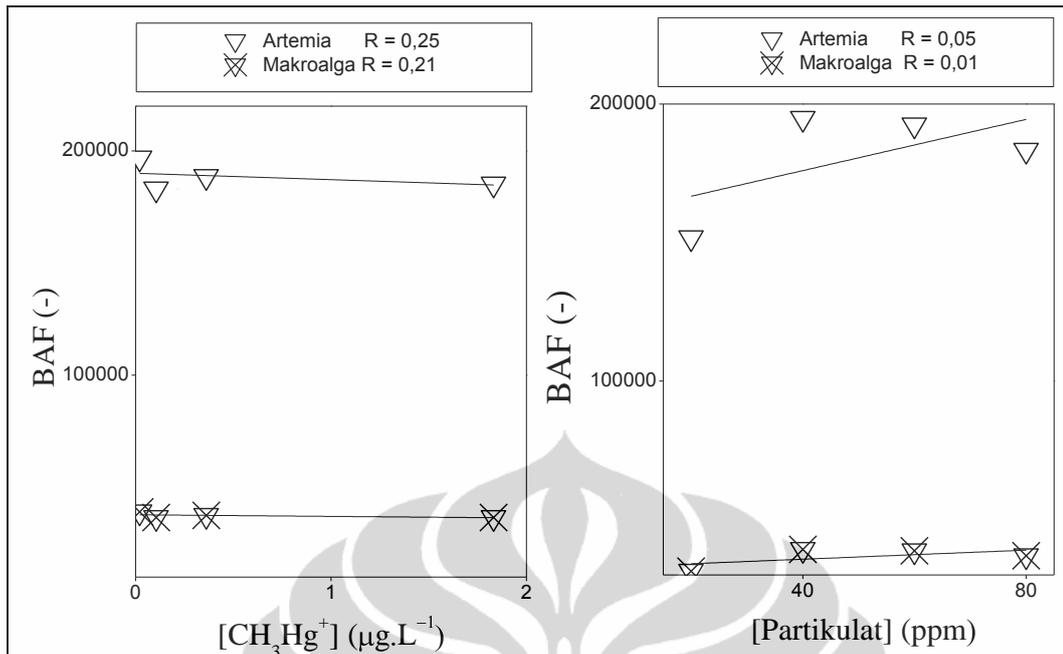
Rekapitulasi data-data yang digunakan untuk memprediksi BAF CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} oleh *O. mossambicus* ditunjukkan pada Tabel 4.4. Nilai AE berasal dari data biakumulasi melalui jalur pakan dan laju memangsa (*ingestion rate /IR*) adalah 1 - 5% dari berat badan (Wang *et al.* 2003, Wang *et al.* 2010). Nilai BCF Hg^{2+} *artemia sp* dan nilai BCF makroalga adalah 20000 (Wang *et al.* 2003, Wang *et al.* 2010). Nilai BCF CH_3Hg^+ *artemia sp* dan makroalga adalah 50000 (Wang *et al.* 2003, Wang *et al.* 2010). Laju pertumbuhan ikan tidak dimasukkan

Tabel 4.4. Rekapitulasi data-data yang digunakan untuk menghitung BAF

Parameter	CH ₃ Hg ⁺	Hg ²⁺
CF _{ss} akibat paparan berbagai konsentrasi melalui medium air	1472,88 – 2001,92	162,92 – 222,6
CF _{ss} akibat paparan partikulat	2531,58 – 2965,36	276,30 – 339,70
CF _{ss} akibat paparan dalam berbagai perubahan salinitas	1611,14 – 2022,66	233,60 – 284,46
CF _{ss} akibat paparan pada berbagai ukuran ikan	1936,09 – 2113,31	87,89 – 227,00
k _e (hari ⁻¹)	0,0102 - 0,0134	0,0216 – 0,0269
AE (%)		
Jenis pakan <i>Artemia sp</i>	79,56	25,34
Jenis pakan makro alga	15,21	1,17
IR (%)	5,00	5,00
BCF		
<i>Artemia sp</i>	50000	20000
makro alga	50000	20000
	(Wang <i>et al</i> , 2003; Wang <i>et al</i> , 2010)	(Wang <i>et al</i> , 2003; Wang <i>et al</i> , 2010)

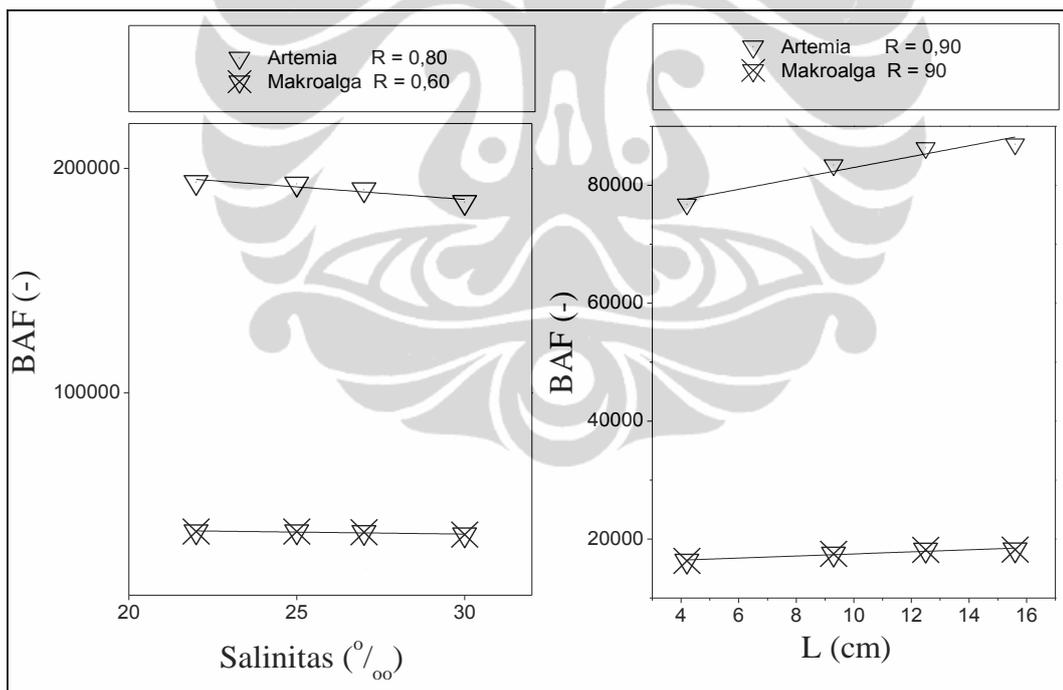
dalam perhitungan karena selama eksperimen bobot ikan dikendalikan agar tidak bertambah melalui jumlah pakan yang diberikan sangat sedikit. Hasil perhitungan nilai BAF ditunjukkan pada Gambar 4.34 sampai dengan 4.35. Nilai BAF CH₃Hg⁺ pada *O. mossambicus* adalah 16309 - 39210 (melalui jalur air dan memangsa makro alga) dan 76789 - 196918 (melalui jalur air dan memangsa *Artemia sp*). Kontribusi bioakumulasi Hg²⁺ melalui jalur air terhadap total bioakumulasi adalah 11,06 - 12,25%. Prediksi nilai BAF Hg²⁺ pada *O. mossambicus* adalah 607 - 1390 (melalui jalur air dan memangsa makro alga) dan 9592 - 25086 (melalui jalur air dan memangsa *Artemia sp*). Kontribusi bioakumulasi Hg²⁺ melalui jalur air terhadap total bioakumulasi adalah 3,72 - 12,80%.

Untuk memastikan jalur pakan merupakan faktor dominan dari bioakumulasi CH₃Hg⁺ dan Hg²⁺ maka ditetapkan nilai faktor perpindahan dalam rantai makanan (*Trophic transfer factor, TTF*). Nilai TTF merupakan rasio Hg²⁺, CH₃Hg⁺ di dalam jaringan tubuh ikan terhadap konsentrasinya di dalam pakan (DeForest *et al.* 2007). Nilai TTF dihitung menggunakan persamaan (16).



(a)

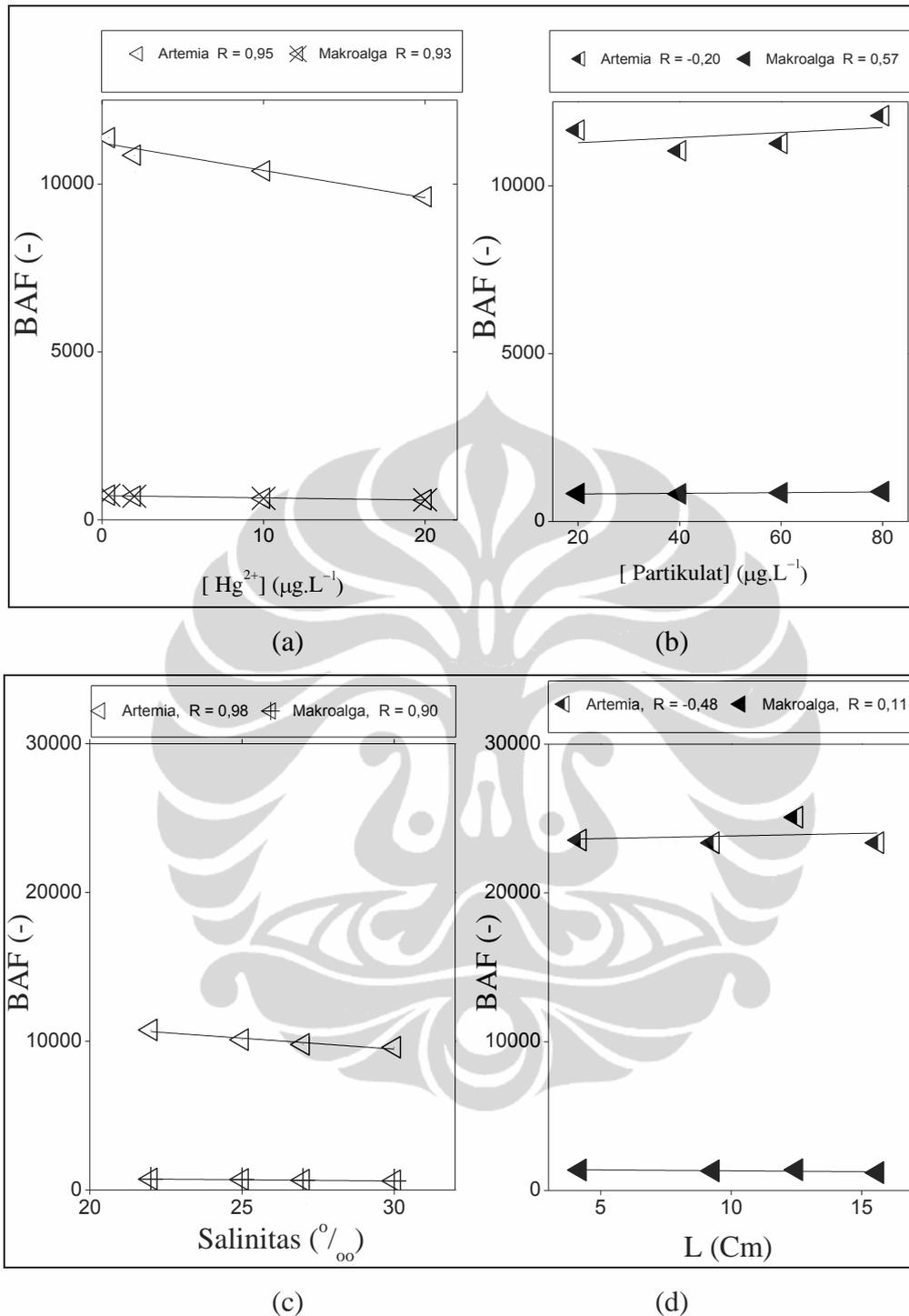
(b)



(c)

(d)

Gambar 4.34. Nilai CH_3Hg^+ yang merupakan kontribusi dari jalur air dan pakan (a) Pengaruh konsentrasi CH_3Hg^+ , (b) Pengaruh kandungan partikulat, (c) Pengaruh salinitas (d) Pengaruh ukuran ikan

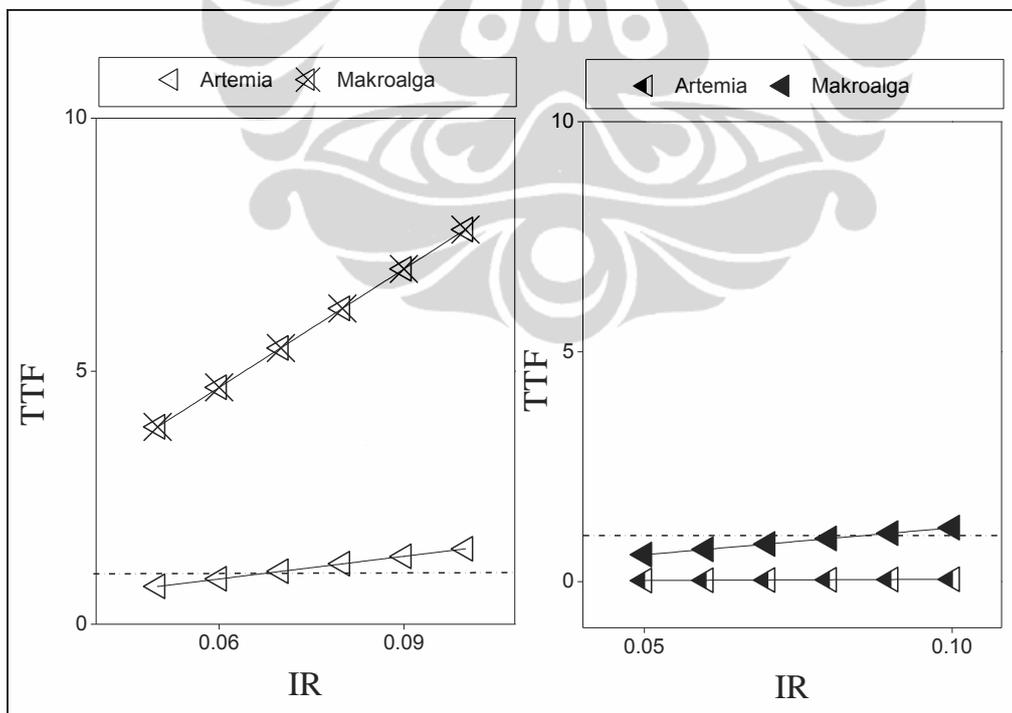


Gambar 4.35. Nilai Hg^{2+} yang merupakan kontribusi dari jalur air dan jalur(a) Pengaruh konsentrasi Hg^{2+} , (b) Pengaruh kandungan partikulat, (c) Pengaruh salinitas (d) Pengaruh ukuran pakan.

Hasil perhitungan ditunjukkan pada Gambar 4.36. Berdasarkan eksperimen, diperoleh hasil perhitungan bahwa $TTF\ CH_3Hg^+ > 1$ jika memakan *Artemia sp* pada setiap tingkatan IR. Pada saat mengonsumsi makroalga, nilai $TTF\ CH_3Hg^+ > 1$ pada IR dimulai dari 7%. Disisi lain $TTF\ Hg^{2+} < 1$ jika memangsa makroalga dan $TTF > 1$ jika memangsa *Artemia* pada tingkatan IR diatas 9%.

Hasil tersebut menunjukkan jalur pakan pada bioakumulasi CH_3Hg^+ dominan dibandingkan dengan jalur air. Prediksi BAF CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} digunakan untuk menghitung potensi bahaya bagi kesehatan masyarakat yang mengonsumsi ikan *O. mossambicus*.

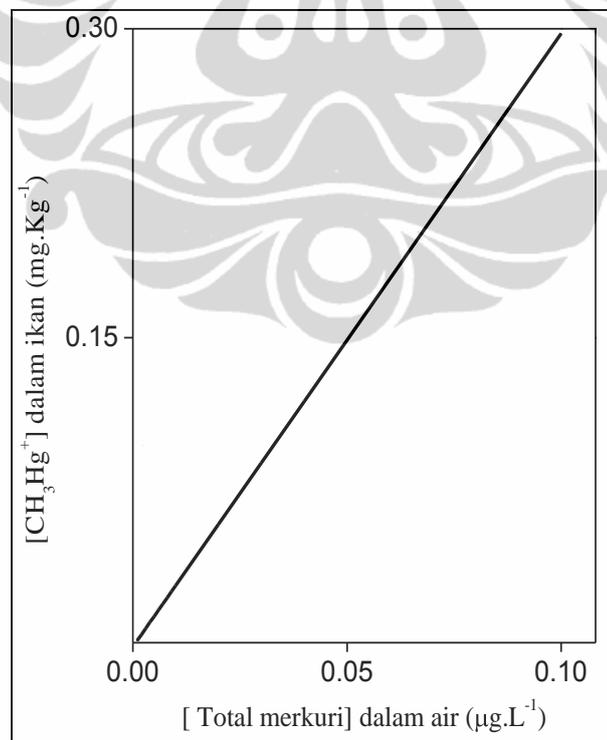
EPA juga telah mengembangkan dosis acuan (*Reference Dose/RfD*) untuk metil merkuri sebesar $0.1\ \mu g\ kg^{-1}\ hari^{-1}$ yang merupakan perkiraan paparan harian terhadap manusia berberat badan 70 kg. Hasil perhitungan TRC menggunakan persamaan (18) adalah $0,3\ mg.kg^{-1}$. Hasil perhitungan ini menunjukkan konsentrasi CH_3Hg^+ dalam tubuh ikan maksimal sebesar $0,3\ mg.kg^{-1}$. Mengacu pada Peraturan Pemerintah Republik Indonesia nomor 82 tahun 2001 tentang pengelolaan kualitas air dan pengendalian pencemaran air, konsentrasi maksimal



Gambar 4.36. Prediksi nilai TTF berdasarkan jenis pakan (a) CH_3Hg^+ (b) Hg^{2+}

total merkuri dalam air permukaan adalah 0,001; 0,002 dan 0,005 mg.l^{-1} masing-masing untuk air golongan I, II, III dan IV. Konsentrasi CH_3Hg^+ tidak diatur dalam peraturan pemerintah tersebut. Menggunakan asumsi konsentrasi CH_3Hg^+ sebesar 1,5% dari total merkuri, sehingga konsentrasinya dalam air adalah 0,015; 0,03 dan 0,075 $\mu\text{g.l}^{-1}$. Perhitungan estimasi kandungan CH_3Hg^+ dalam tubuh *O. mossambicus* menggunakan nilai BAF tertinggi, yaitu 196918. Hasil perhitungan ditunjukkan pada Gambar 4.37.

Mengacu pada hasil perhitungan maka kualitas air pada Peraturan Pemerintah (PP) nomor 81 untuk parameter total merkuri tidak menimbulkan dampak yang signifikan jika terakumulasi oleh *O. mossambicus*. Batasan konsentrasi merkuri total untuk budidaya ikan (termasuk *O. mossambicus*) diatur sebagai air kelas III yaitu air yang peruntukannya dapat digunakan untuk pembudidayaan ikan, peternakan, air untuk mengairi pertanaman, dan atau peruntukan lain yang mempersyaratkan air yang sama dengan kegunaan tersebut. Pada PP nomor 81, untuk air Golongan III, maksimal konsentrasi total merkuri adalah 0,002 mg.l^{-1} .



Gambar 4.37. Estimasi hubungan konsentrasi merkuri total dalam air terhadap Konsentrasi CH_3Hg^+ dalam jaringan tubuh *O. mossambicus*

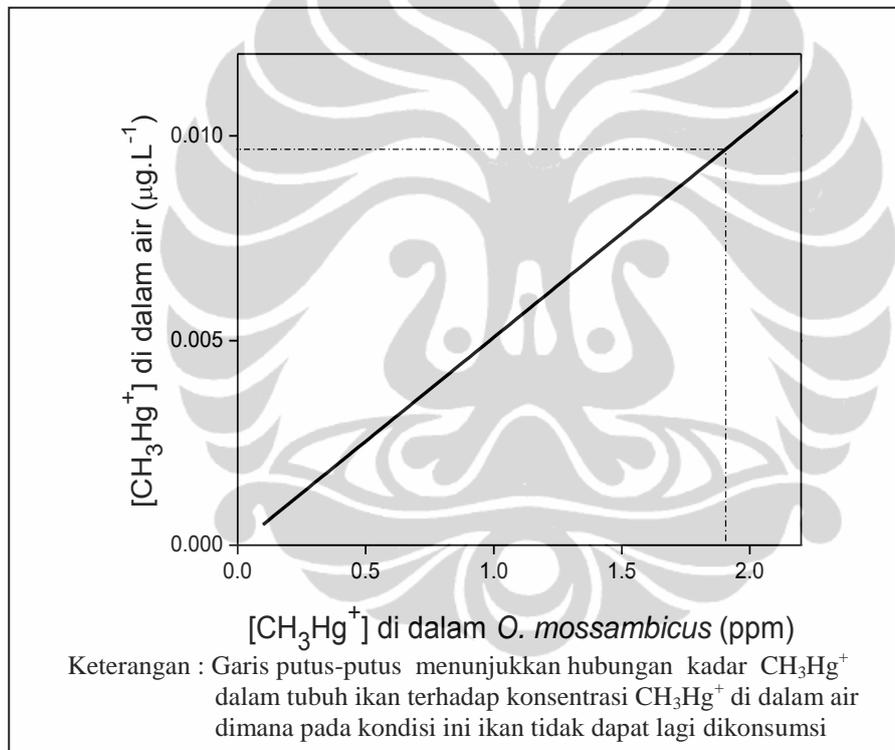
Prediksi menggunakan berbagai parameter biokinetika pada eksperimen ini, maka diperoleh konsentrasinya dalam tubuh *O. mossambicus* sebagai akibat bioakumulasi adalah sebesar $5,95 \times 10^{-3} \text{ mg.kg}^{-1}$. Kadar tersebut masih jauh dari maksimal yang dipersyaratkan agar tidak menimbulkan gangguan pada kesehatan manusia. Kenaikan konsentrasi total merkuri $0,05 \text{ mg.L}^{-1}$ dalam air diprediksikan akan terakumulasi sehingga konsentrasinya dalam tubuh *O. mossambicus* sebesar $0,015 \text{ mg.kg}^{-1}$. Kadungan tersebut masih berada pada posisi aman dikonsumsi oleh manusia.

Potensi paparan senyawaan merkuri terhadap manusia sebagian besar berasal dari konsumsi ikan. Mengingat CH_3Hg^+ lebih toksik dibandingkan Hg^{2+} maka CH_3Hg^+ digunakan sebagai acuan dalam mengkaji berbagai dampak terhadap kesehatan manusia akibat mengkonsumsi ikan (US EPA 2001). Kandungan CH_3Hg^+ di dalam tubuh ikan 1000 – 10000 kali lebih tinggi dibandingkan dengan kandungannya dalam makanan lainnya seperti daging, buah telur dan sebagainya. Kandungan CH_3Hg^+ dalam tubuh ikan tidak dapat dijadikan patokan terhadap dampak negatif manusia karena kandungan senyawaan tersebut sangat bervariasi. Untuk keperluan tersebut US EPA menggunakan nilai RfD merupakan batasan antara aman dan mengakibatkan keracunan. Berdasarkan nilai RfD tersebut dihitung batasan aman mengkonsumsi ikan dengan asumsi berat badan orang dewasa 70 Kg, rerata konsumsi 0,22 Kg ikan periode 1 bulan, dosis referensi metal merkuri $1 \times 10^{-4} \text{ mg.Kg}^{-1}.\text{hari}^{-1}$. Batasan tersebut ditunjukkan pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5. Batasan konsumsi ikan berdasarkan kadar CH_3Hg^+ dalam tubuh ikan.

Batasan Konsumsi berdasarkan resiko (frekuensi per bulan)	Kadar CH_3Hg^+ dalam ikan (ppm) yang tidak menimbulkan efek kanker
16	0,03-0,06
12	0,06-0,08
12	0,08-0,12
8	0,12-0,24
4	0,24-0,32
3	0,32-0,48
2	0,48-0,97
1	0,97-1,9
0.5	>1,9

Mengacu pada hasil eksperimen, kadar CH_3Hg^+ dalam tubuh ikan dihitung berdasarkan perkalian nilai BAF terhadap konsentrasi di air. Hasil perhitungan ditunjukkan pada Gambar 4.38. Mengacu pada Gambar 4.37 maka budidaya ikan mujair dapat dilakukan pada kondisi lingkungan akuatik dimana konsentrasi CH_3Hg^+ maksimal sebesar $9,6 \times 10^{-4} \mu\text{g.L}^{-1}$. Mengingat kandungan CH_3Hg^+ tidak diatur di dalam Peraturan Pemerintah maupun produk-produk hukum di bawahnya maka diasumsi konsentrasi CH_3Hg^+ sebesar 1,5% terhadap konsentrasi total merkuri di dalam air. Hasil perhitungan diperoleh konsentrasi merkuri total dalam air untuk keperluan budidaya *O. mossambicus* adalah sebesar $640 \mu\text{g.L}^{-1}$ atau 0,64 ppm.



Gambar 4.37. Prediksi kadar CH_3Hg^+ dalam tubuh *O. mossambicus*

BAB V

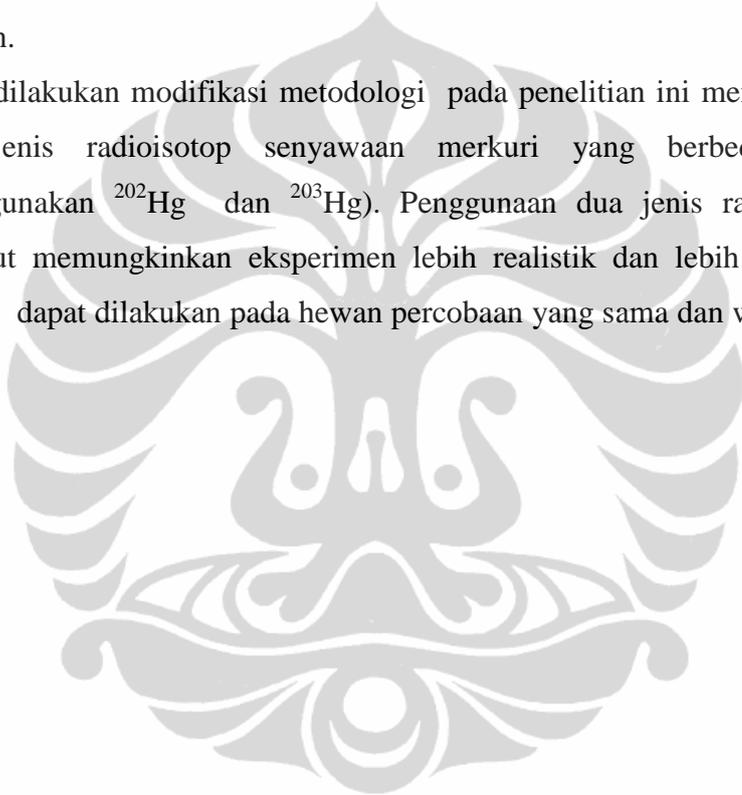
SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

1. Bioakumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} oleh *O. mossambicus* dari medium air berkaitan dengan transportasi kedua kontaminan tersebut dari medium air ke dalam insang. Perubahan medium air seperti: konsentrasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} , kandungan partikulat dan salinitas menyebabkan kemampuan bioakumulasinya berada pada kisaran yang lebar. Kemampuan bioakumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} dari medium air yang dinyatakan sebagai CF berturut-turut berkisar 1032,63 – 1883,70 dan 64,20 – 288,84. Prediksi berdasarkan persamaan non linier nilai CF_{ss} CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} berturut-turut 1472,88 - 2965,26 dan 87,89 – 339,70. Nilai CF hasil penelitian ini berada pada kisaran yang lebar akibat kondisi eksternal medium air yang berubah. Hal serupa ditunjukkan oleh berbagai jenis biota akuatik yang mempunyai nilai CF dengan kisaran yang lebar.
2. Laju pengambilan CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} dari medium air lebih besar dibandingkan laju pelepasannya. Kecepatan pengambilan dan Efisiensi Asimilasi (AE) CH_3Hg^+ lebih besar dibandingkan Hg^{2+} serta kecepatan pelepasan CH_3Hg^+ lebih lambat dilepas dibandingkan dengan Hg^{2+} menyebabkan CH_3Hg^+ bersifat lebih bioakumulatif.
3. Kandungan CH_3Hg^+ di dalam *O. mossambicus* sebagai akibat perilaku bioakumulasinya air adalah 62,5 – 85,7%. Prediksi nilai BAF CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} dari seluruh jalur (air dan pakan) berturut-turut berkisar antara 36880 – 196955 dan 507 – 12071. Kontribusi bioakumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} melalui jalur air terhadap total bioakumulasi berturut-turut 1,06 - 12,25% dan 3,72 - 12,80%. Nilai TTF > 1 menunjukkan akumulasi CH_3Hg^+ dari jalur pakan melalui mekanisme biomagnifikasi. Berdasarkan kalkulasi tersebut maka metilasi tidak terjadi di dalam tubuh ikan.
4. Implementasi dari berbagai nilai parameter biokinetika maka ikan ini dapat dibudidayakan pada air payau dimana konsentrasi total merkuri adalah sebesar maksimum 0,64 ppm.

5.2. Saran

1. Keberadaan senyawaan merkuri yang berasal dari sumber alam maupun antropogenik dalam lingkungan akuatik di Indonesia berpotensi mengalami bioakumulasi pada berbagai jenis organisme termasuk berbagai jenis ikan. Kemampuan bioakumulasi senyawaan berbagai jenis ikan sangat bervariasi. Mengingat ikan merupakan salah satu sumber pangan dan rentan terhadap bioakumulasi senyawaan merkuri maka perlu dilakukan penelitian spesies ikan lainnya untuk kepentingan keamanan pangan.
2. Perlu dilakukan modifikasi metodologi pada penelitian ini menggunakan dua jenis radioisotop senyawaan merkuri yang berbeda (misal menggunakan ^{202}Hg dan ^{203}Hg). Penggunaan dua jenis radioisotope tersebut memungkinkan eksperimen lebih realistis dan lebih terkontrol karena dapat dilakukan pada hewan percobaan yang sama dan waktu yang sama.



DAFTAR PUSTAKA

- An, R., *et al.* (2008). Responses antioxidant enzymes in catfish exposed to liquid crystals from E-Waste. *Int.J. Environ.Res.Public.Health.* (5) 2, 99-103
- Alvarez ,M.C *et al.*(2006) Maternal body burdens of methylmercury impair survival skills of offspring in Atlantic croaker (*Micropogonias undulatus*). *Aqua Toxicol* 80, 329–337
- Arcos, J.M., Ruiz,X., Bearhop, S., Furness, R. W (2002). Mercury levels in seabirds and their fish prey at the Ebro Delta (NW Mediterranean): the role of trawler discards as a source of contamination. *Mar Ecol Prog Ser* 232, 281–290
- Atli, G *et al.* (2006) Response of catalase activity to Ag^+ , Cd^{2+} , Cr^{6+} , Cu^{2+} and Zn^{2+} in five tissues of freshwater fish *Oreochromis niloticus*, *Comparative Biochemistry and Physiology*, C 143, 218–224
- Bank, M.S., Loftin, C.S., Jung, R.E (2005) Mercury Bioaccumulation in Northern Two-lined Salamanders from Streams in the Northeastern United States. *Ecotoxicology*, 14, 181–191
- Baker, M ., *et al* (2009) Bioaccumulation and Transport of Contaminants: Migrating Sockeye Salmon As Vectors of Mercury. *Environ. Sci. Technol.* 43, 8840–8846
- Barkey, T., Dobler, I.W. (2005). Microbial Transformations of Mercury: Potentials, Challenges, and Achievements in Controlling Mercury Toxicity in the Environment. *Advances in Applied Microbiology* 57, 1-54
- Blackmore, G., Wang, W-X (2004) Relationships between metallothioneins and metal accumulation in the whelk *Thais clavigera*. *Mar Ecol Prog Ser* 277, 135–145, 2004
- Blackmore, G., Wang, W-X.(2004)The transfer of cadmium, mercury, methylmercury, and zinc in an intertidal rocky shore food chain. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 307, 91– 110
- Booth, S., Zeller, D (2005) Mercury, Food Webs, and Marine Mammals: Implications of Diet and Climate Change for Human Health. *Environmental Health Perspectives* 113, 5:521-526
- Boszke, L., Głosińska, G., Siepak,J.(2002) Some Aspects of Speciation of Mercury in a Water Environment. *Polish Journal of Environmental Studies* 11, 4: 285-298

Boszke, L. *et al.* (2003). Environmental factors affecting speciation of mercury in the bottom sediment; an overview. *Polish Journal of Environmental Studies* 12(1): 5-13, 2003

Blust, R (2002) Models for the bioaccumulation of metals in aquatic organisms, CIESM, 2002. *CIESM CIESM Workshop Monographs Metal And Radionuclides Bioaccumulation In Marine Organisms*. n°19, 128 pages

Byrne, R.H (2002) Inorganic speciation of dissolved elements in seawater: the influence of pH on concentration ratios. *Geochem. Trans.* 3, 2: 11-16

Bridges, C.C., Zalups, R.K. (2005). Review molecular and ionic mimicry and the transport of toxic metals. *Toxicology and Applied Pharmacology* 204, 274– 308

Campbell, P (2002) Predicting metal bioavailability – applicability of the Biotic Ligand Model; *CIESM Workshop Monographs Metal And Radionuclides Bioaccumulation In Marine Organisms*; CIESM, Monaco, 2002

Cardoso, P.G *et al* (2009) Different mercury bioaccumulation kinetics by two macrobenthic species: the bivalve *Scrobicularia plana* and the polychaete *Hediste diversicolor*, *Marine Environmental Research*. doi: 10.1016/j.marenvres.2009.03.006

Carvalho, R.C., Benfield, M.C., Santschi, P.H. (1999) Comparative bioaccumulation studies of colloiddally complexed and free-ionic heavy metals in juvenile brown shrimp *Penaeus aztecus* (Crustacea: Decapoda: Penaeidae). *Limnol. Oceanogr.*, 44, 2: 403–414

Casas, S., Bacher, C. (2006) Modelling trace metal (Hg and Pb) bioaccumulation in the Mediterranean mussel, *Mytilus galloprovincialis*, applied to environmental monitoring. *Journal of Sea Research* 56, 2: 168-181

Cay, Y., Roker, R., Gill, G.A., Tuner, J.P (2007) Bioaccumulation of Mercury in Pelagic Fishes from the Northern Gulf of Mexico. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 64, 458-469

Chasar, L *et al* (2009) Mercury Cycling in Stream Ecosystems. 3. Trophic Dynamics and Methylmercury Bioaccumulation. *Environ. Sci. Technol.* 43, 2733–2739

Chételat, J., Amyot, M., Garcia, E. (2011) Habitat-specific bioaccumulation of methylmercury in invertebrates of small mid-latitude lakes in North America. *Env Poll.* 159, 10-17

Chojnacka, K., Wojciechowski, P.M (2007) Bioaccumulation of Cr(III) ions

by Blue Green-alga *Spirulina* sp. Part II. Mathematical Modeling. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences* 2 (4): 291-298, 2007

Choya, C.A., *et al.* (2009) The influence of depth on mercury levels in pelagic fishes and their prey. *PNAS*. 106, 13865–13869

Croteau, M-L, Luoma, S.N (2007) Characterizing Dissolved Cu and Cd Uptake in Terms of the Biotic Ligand and Biodynamics Using Enriched Stable Isotopes *Environ. Sci. Technol.* 41, 3140-3145

Czepirski, L., Balys, M.R., Komorowska-Czepirka, E (2000). Some Generalization of Langmuir Adsorption Isotherm. *Internet Journal of Chemistry* 3:14

Da Silva Rabbito, I. *et al.* (2011) Mercury and DDT exposure risk to fish-eating human populations in Amazon, *Environment International* 37, 56–65

De Forest, D.K., Brix, K.V., Adams, W.J. (2007) Assessing metal bioaccumulation in aquatic environments: The inverse relationship between bioaccumulation factors, trophic transfer factors and exposure concentration. *Aquatic Toxicology* 84, 236–246

Ekstrom, E.B., Morel, F.M.M., Benoit, J.M. (2003) Mercury Methylation Independent of the Acetyl-Coenzyme A Pathway. in Sulfate-Reducing Bacteria. *Appl. Env. Microbiol* 69,9: 5414–5422

Fernández, H. P *et al* (2010). Cadmium bioaccumulation and retention kinetics in the Chilean blue mussel *Mytilus chilensis*: Seawater and food exposure pathways, *Aquatic Toxicology* 99 :448–456

Fisher, N.S.(2002) Executive Summary “CIESM Workshop Monographs 19, *CIESM Workshop Monographs Metal And Radionuclides Bioaccumulation In Marine Organisms*, Monaco, p 7-25

Fisher, N.S(2003) Advantage and Problems in The Application of Radiotracer for Determining The Bioaccumulation of Contaminant in Aquatic Organism, *RCM on Biomonitoring*, IAEA, Monaco

Fowler, *et al* (2004) Applied Radiotracer Techniques For Studying Pollutant Bioaccumulation In Selected Marine Organisms (Jellyfish, Crabs And Sea Stars), *Nukleonika* (3):97–100

Franco, J.L., *et al.*(2009).Methylmercury neurotoxicity is associated with inhibition of the antioxidant enzyme glutathione peroxidase. *Free Radical Biology & Medicine* 47 (2009) 449–457

Geret, F.; *et al* (2002). Influence of metal exposure on metallothionein synthesis and lipid peroxidation in two bivalve mollusks: the oyster

(*Crassostrea gigas*) and the mussel (*Mytilus edulis*) *Aquat. Living Resour.* 15: 61–66

Gochfeld, M (2003) Cases of mercury exposure, bioavailability, and absorption. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 56, 174–179

Griscom, S.B., Fisher, N.S., Luoma, S.N (2002). Kinetic modeling of Ag, Cd and Co bioaccumulation in the clam *Macoma balthica*: quantifying dietary and dissolved sources. *Mar Ecol Prog Ser* 240: 127–141

Grotto, D., *et al* (2009). Low level and sub-chronic exposure to methylmercury induces hypertension in rats: nitric oxide depletion and oxidative damage as possible mechanisms, *Arch Toxicol.* 83, 653–662

Haney, D., Walsh, S (2003) Influence of Salinity and Temperature on the Physiology of *Limia melanonotata* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae): A Search for Abiotic Factors Limiting Insular Distribution in Hispaniola. *Caribbean Journal of Science*, 39, 3: 327–337

Hall, B.D *et al* (1997) Food As The Dominant Pathway of Methylmercury Uptake by Fish. *Water, Air, and Soil Pollution* 100: 13–24

Havelkova, M *et al* (2008) Comparison of Mercury Distribution Between Liver and Muscle – A Biomonitoring of Fish from Lightly and Heavily Contaminated Localities, *Sensors* 8: 4095–4109

Hédouin, L. *et al.* (2006) Allometric relationships in the bioconcentration of heavy metals by the edible tropical clam *Gafrarium tumidum*. *Science of the Total Environment* 366, 154–163

Hill, J.R., O'Driscoll, N.J., Lean, D.R.S. (2009) Size distribution of methylmercury associated with particulate and dissolved organic matter in freshwaters, *Science of the Total Environment* 408, 408–414

Houserova, P., *et al.* (2006) Determination of total mercury and mercury species in fish and aquatic ecosystems of moravian rivers. *Veterinarni Medicina*, 51(3): 101–110, 2006

Huang, W *et al* (2010) Antioxidative responses and bioaccumulation in Japanese flounder larvae and juveniles under chronic mercury exposure, *Comparative Biochemistry and Physiology*, 152, 99–106

IAEA (2008). *Radiotracer Residence Time Distribution Method For Industrial and Environmental Applications*. IAEA-TCS-31. IAEA, Vienna , 153p

IAEA (1985) *Sediment Kds and concentration factors for radionuclides in the marine environment*. International Atomic Energy Agency Tech Rep Ser

247:1–44

Ishikawa, N.M., *et al* (2007) Hematological Parameters in Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* Exposed to Sub-lethal Concentrations of Mercury. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 50, 4 : 619-626

Jager, D.T, Hamers T (2005), *Estimation Methods for Bioaccumulation in Risk assessment of Organic Chemical*, Report no. 679102013, National Institute of Public Health and Environment Bilthoven, Netherlands.

Kasper, D *et al.*(2009) Mercury distribution in different tissues and trophic levels of fish from a tropical reservoir, Brazil. *Neotropical Ichthyology* 7,4:751-758

Ke, C., Yu, K.N., Lam, P.K.S., Wang, W-X (2000) Uptake and Depuration of Cesium in the Green Myssel *Perna viridis*. *Marine Biology* 137:567-575

Koztowny, A.L.; Hirano, T., Grau, E,G (2008) Developmental Changes in Na⁺, K⁺- ATPase Activity in Mozambique Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) embryos and Larvae in Various Salinity, *Proceed of 8th Intl Sym on Tilapia in Aquaculture*, Egypt Oct 12 to 14

Kojadinovic, J *et al* (2006) Mercury content in commercial pelagic fish and its risk assessment in the Western Indian. *Ocean Science of the Total Environment* 366, 688–700

Kongchum, M., Devai, I., DeLaune, R.D., Jugsujinda, A (2006) Total mercury and methylmercury in freshwater and salt marsh soils of the Mississippi river deltaic plain. *Chemosphere* 63 :1300–1303

Krivan,V., Rossbach, M (2004) Radioisotopes for method validation Analytical Applications of Nuclear Techniques. International Atomic Energy Agency STI/PUB/1181, IAEA Vienna

Kuwabara,J. *et al.*(2007) Mercury Speciation in Piscivorous Fish from Mining-Impacted Reservoirs *Environ. Sci. Technol.* 41, 2745-2749

Lacoue-Labarthe, T. *et al* (2009) Bioaccumulation of Inorganic Hg by the Juvenile Cuttlefish *Sepia officinalis* Exposed to ²⁰³Hg Radiolabelled Seawater and Food, *Aquat Biol* 6, 91–98

Leji,J., *et al.*(2007) Thyroidal and osmoregulatory responses in tilapia (*Oreochromis mossambicus*) to the effluents of coconut husk retting. *J Endocrinol Reprod* 11, 1: 23 – 30

Liao, C-L., Lin, M.C. (2001) Acute Toxicity Modeling of Rainbow Trout and Silver Sea Bream Exposed to Waterborne Metals , *Environ Toxicol* 16: 349-360

Liao, C.M., Chen, B.C., Singh, S., Lin, M.C., Liu, C.W.(2003) Acute Toxicity and Bioaccumulation of Arsenic in Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) from a Blackfoot Disease Area in Taiwan, *Wiley Periodicals*

Limpong, D *et al*(2004) Artisanal gold mining related mercury pollution in Rawatotok area of North Sulawesi, Indonesia. *Coastal Marine Science* 29,1:69-74

Luoma, S.N., Rainbow, P.(2005) Why Is Metal Bioaccumulation So Variable? Biodynamics as a Unifying Concept Critical Review. *Environmental Science & Technology* 39, 7:1921-1931

Lu, X., Jaffe, R (2001) Interaction Hg(II) and Natural Dissolved Organic Matter: A Fluorescence Spectroscopy Based Study, *Wat. Res.* 35, 7:1793–1803

Malley, D.F., Stewart, A.R., Hall, B.D (1996) Uptake Of Methyl Mercury By The Floater Mussel, *Pyganodon Grandis* (Bivalvia, Unionidae), Caged In A Flooded Wetland, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 15(6): 928–936

Martins, C.D.M.G., *et al.* (2010) Acute toxicity, accumulation and tissue distribution of copper in the blue crab *Callinectes sapidus* acclimated to different salinities: In vivo and in vitro studies. *Aquat. Toxicol.* doi:10.1016/j.aquatox.2010.09.005

McCloskey, J.T., Schultz, I.R., Newman, M.C (1998). Estimating the Oral Bioavailability of Methylmercury To Channel Catfish (*Ictalurus Punctatus*), *Envi Toxi and Chem* 17, 8: 1524–1529

Mc.Nevin, A (2007). Farmed Tilapia, WWF Aquaculture Specialist, Word Wild Life, Washington, DC, USA

Mc Geer, *et.al.* (2003). Inverse relationship between bioconcentration factor and exposure Concentration for metals: implications for hazard assessment of metals in the aquatic environment. *Env Toxicol and Chem.* 22, 5: 1017–1037

Metian, M. *et al* (2008) Bioaccumulation and detoxification processes of Hg in the king scallop *Pecten maximus*: field and laboratory investigations, *Aquatic Toxicology* 90, 3 : 204-213

Miller, C.L., *et al* (2007). Influence of dissolved organic matter on the complexation of mercury under sulfidic conditions, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 26(4): 624–633

Modassir , Y.(2000) Effect of Salinity on the Toxicity of Mercury in

Mangrove Clam, *Polymesodaerosa* (Lightfoot 1786), *Asian Fisheries Science* 13: 335-341

Morel, F.M.M., Kraepiel, A.M.L., Amyot, M (1998). The Chemical Cycle and Bioaccumulation of Mercury. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 29, 543–66.

Morgan, T.P., *et al.* (2004) The time course of silver accumulation in rainbow trout during static exposure to silver nitrate: physiological regulation or an artifact of the exposure conditions? *Aquatic Toxicology*. 66: 55–72

Newman, M.C., Jagoe, R.H. (1996) Bioaccumulation Models With Time Lags: Dynamics And Stability Criteria. *Ecological Modelling* 84, 281-286

Niyogi, S., Pyle, G., Wood, C.M. (2007) Branchial versus intestinal zinc uptake in wild yellow perch (*Perca flavescens*) from reference and metal-contaminated in aquatic ecosystem. *Can J. Fish. Aquat. Sci.* 64, 1605-1613

Oliveiraribeiro, C.A. (1999) Distribution Kinetics of Dietary Methylmercury in the Arctic Charr (*Salvelinus alpinus*). *Environ. Sci. Technol.* 33, 902-907

Otsuka, F (2001) Molecular Mechanism of the Metallothionein Gene Expression Mediated by Metal-Responsive Transcription Factor, *Journal of Health Science*, 47(6): 513-519

Paasivirta, J.K (2000). Long-term Effects of Bioaccumulation in Ecosystems. *The Handbook of Environmental Chemistry*, Vol. 2 Part J Bioaccumulation (ed. by B. Beek) © Springer-Verlag Berlin Heidelberg

Pan, J-F., Wang, W-X (2004). Uptake of Hg(II) and methylmercury by the green mussel *Perna viridis* under different organic carbon conditions. *Mar Ecol Prog Ser* 276, 125–136

Passos, C.J.S., *et al.* (2007) Fish consumption and bioindicators of inorganic mercury exposure. *Science of the Total Environment* 373, 68–76

Parashar, R.S., Banerjee, T.K. (2002) Toxic impact of lethal concentration of lead nitrate on the gills of air-breathing catfish *Heteropneustes fossilis* (Bloch). *Veterinarski Arhiv* 72, 3: 167-183

Patel, J.M. Bahadur, A (2010) Histopathological Alterations In Catla Catla Induced By Chronic Exposure Of Copper Ions. *Journal of Cell and Tissue Research*. 10,3: 2365-2370

Pickhardt, P.C., Stepanova, M.C., Fisher, N.S. (2006). Contrasting Uptake Routes and Tissue Distributions of Inorganic and Methylmercury in Mosquitofish (*Gambusia affinis*) and Redear Sunfish (*Lepomis*

microlophus) *Environ. Toxicol. Chem.* 25,8: 2132–2142

Ranzani-Paiva, M.N.M., *et al.* (2007). Hematological Parameters in Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* Exposed to Sub-lethal Concentrations of Mercury, *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 50, 4: 619-626

Rainbow, P.S. (2007) Review article Trace metal bioaccumulation: Models, metabolic availability and toxicity. *Environment International* 33,576–582

Ravichandran, M (2004) Interactions between mercury and dissolved organic matter—a review. *Chemosphere* 55, 319–331

Reinfelder, J.R. *et al* (1997) Assimilation efficiencies and turnover rate of trace elements in marine bivalves: a comparison of oysters, clams and mussels. *Mar. Biol.*, 129, 443 – 452

Rouleau, C., Gobeil, C., Tjalve (1998). Pharmacokinetics and distribution of dietary tributyltin compared to those of methylmercury in the American plaice *Hippoglossoides platessoides*. *Mar Ecol Prog Ser* 171: 275-284

Rudd, J.W.M., Furutani, A., Turner, M.A. (1980). Mercury methylation by fish intestinal contents, *Appl Env Microbiology* 40,4:777-7

Sekretariat Negara (2001). *Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 82 Tahun 2001. Tentang Pengelolaan Kualitas Air Dan Pengendalian Pencemaran Air*. Sekretariat Negara RI, Jakarta 2001

Selid, P.D *et.al* (2009) Sensing Mercury for Biomedical and Environmental Monitoring: Review. *Sensors*. 9, 5446-5459

Schwindt, R.A *et al* (2008) Mercury Concentrations in Salmonids from Western U.S. National Parks and Relationships With Age and Macrophage Aggregates. *Environ. Sci. Technol.* 2, 1365–1370

Schultz, I.R., Peters, E.L., Newman, M.C. (1996) Toxicokinetics and Disposition Of Inorganic Mercury And Cadmium In Channel Catfish After Intravascular Administration. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 140, 39–

Schultz, I.R., Newman, M.C. (1997). Methyl mercury toxicokinetics in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) and largemouth bass (*micropterus salmoides*) After intravascular administration, *Environ. Toxicol. Chem.* 16(5): 990–996.

Seixas, S., Bustamante, P., Pierce, G (2005) Accumulation of mercury in the tissues of the common octopus *Octopus vulgaris* (L.) in two localities on the Portuguese coast. *Science of the Total Environment* 340:113-122

Simmons-Willis, T.A., *et al.* (2002). Ballatory Transport of a neurotoxicant

by molecular mimicry : the methylmercury–L-cysteine complex is a substrate for human L-type large neutral amino acid transporter (LAT) 1 and LAT2, *Biochem. J.* (367: 239-246

Steffens, W., Hilge, V(1999). The importance of tilapias (*Cichlidae*) for tropical aquaculture. *Proceed Deutscher Tropentag*. Berlin

Stokes, P.M., Wren, C.D. (1987) Bioaccumulation of Mercury by Aquatic Biota in Hydroelectric Reservoirs: A Review and Consideration of Mechanisms, In *Lead, Mercury, Cadmium and Arsenic in Environment*, Eds by Hutchinson. T.C. and Meema, K.M, John Wiley & Son Ltd, 381-392

Stohs,S.J., Bagchi,D., (1995). Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions Free Radical. *Biology & Medicine*, 18, 2:321-336

Tsui,K.M., Wang, W-X.(2004) Uptake and Elimination Routes of Inorganic Mercury and Methylmercury in *Daphnia magna*, *Environ. Sci. Technol.* 38, 808-816

US EPA (2002). *Methodology for Deriving Ambient Water Quality Criteria for the Protection of Human Health*, Technical Support Document , Vol 2: Development of National Bioaccumulation Factors. U.S. Environmental Protection Agency, Washington DC

U.S. EPA (2001) *Fact Sheet Mercury Update: Impact on Fish Advisories*, EPA-823-F-01-011. Office of Water -US Environmental Protection Agency Washington DC.

Vanderploeg, H.A., Parzyck, D.C., Kercher, J.R., Kaye, S.V (1975). *Bioaccumulation Factors for Radionuclides in Freshwater Biota*. Publication no 783, US Atomic Energy Commission, USA. 218p

VanWalleghem,J.L.A., Blanchfield, P.J., Hintelmann, H.(2007). Elimination of Mercury by Yellow Perch in the Wild. *Environ. Sci. Technol* 41, 5895-5901

Veltman, K *et al.*(2008) Metal Bioaccumulation in Aquatic Species: Quantification of Uptake and Elimination Rate Constants Using Physicochemical Properties of Metals and Physiological Characteristics of Species. *Environ. Sci. Technol.* 42, 852–858

Verlecar, X.N.; Jena,K.B.; Chainy, G.B.N (2007), *Biochemical markers of oxidative stress in Perna viridis exposed to mercury and temperature*, National Institute of Oceanography, Dona Paula, Goa, India, 18p

Vijver, M.G (2005) *The Ins and Outs of Bioaccumulation Metal Bioaccumulation Kinetics in Soil Invertebrates in Relation to Availability*

and Physiology. PhD Desertation, Vrije Universiteit, Amsterdam, The Netherlands

Velásquez, L., Dussan, J (2009) Biosorption and bioaccumulation of heavy metals on dead and living biomass of *Bacillus sphaericus*. *Journal of Hazardous Materials* 167: 713–716

Vieira. L.R., *et al.*(2009). Acute effects of copper and mercury on the estuarine fish *Pomatoschistus microps*: Linking biomarkers to behaviour. *Chemosphere* 76 , 1416–1427

Wang, W.X., Fisher, N (1999). Delineating metal accumulation pathways for marine invertebrates, *The Science of Total Environment* 237: 459-472

Wang, W-X ., Wong, R.S.K (2003) Bioaccumulation kinetics and exposure pathways of inorganic mercury and methylmercury in a marine fish, the sweetlips *Plectorhinchus gibbosus*. *Mar Ecol Prog Ser* 261: 257–268

Wang, R., Wong, M.H., Wang, W-X . (2010).Mercury exposure in the freshwater tilapia *Oreochromis niloticus*. *Environmental Pollution* 158: 2694-2701

Whicker, F.W. and Schultz, V.(1982) Radioecology: *Nuclear Energy and the Environment*. Volume II. CRC Press, Boca Raton, FL, 117 pp

WHO (2008), *Guidance for identifying populations at risk from mercury exposure*, Issued by UNEP DTIE Chemicals Branch and WHO Department of Food Safety, Zoonoses and Foodborne Diseases Geneva, Switzerland

White, S.L., Rainbow, P.S. (1987) Heavy metal concentrations and size effects in thamesopelagic decapod crustacean *Systellaspis debilis*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 37: 147-151

Wood, C.M *et al* (2002) Kinetics of radiolabelled silver uptake and depuration in the gills of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and European eel (*Anguilla anguilla*): the influence of silver speciation. *Aquatic Toxicology* 56 (2002) 197–213

Yap, C.K., *et al* (2007) Tolerance of High Inorganic Mercury of *Perna viridis*: Laboratory Studies of Its Accumulation, Depuration and Distribution, *J. Appl. Sci. Environ. Manage.* (11)3:119 – 125

Zhang, Y *et al* (2010).Biomarker responses in the bivalve (*Chlamys farreri*) to exposure of the environmentally relevant concentrations of lead, mercury, copper. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 30: 19–25

Lampiran 10. Pengaruh konsentrasi partikulat terhadap bioakumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+}

Pengaruh konsentrasi partikulat terhadap bioakumulasi CH_3Hg^+

Konsentrasi partikulat (ppm)	Konsentrasi CH_3Hg^+ dalam air ($\mu\text{g.l}^{-1}$)	CFss	Presiksi CFss	k_u (hari^{-1})	Laju masuk ($\mu\text{g.g}^{-1}.\text{hari}^{-1}$)	Kadar dalam tubuh ikan ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	k_e (hari^{-1})	$t_{1/2b}$ (hari)	Laju keluar ($\mu\text{g.g}^{-1}.\text{hari}^{-1}$)	Laju akumulasi ($\mu\text{g.g}^{-1}.\text{hari}^{-1}$)
20	0,46	1611,08	2965,26	76,971	0,0341	0,7133	0,013	51,88	0,0095	0,025
40	0,92	1705,42	2579,96	87,17	0,0757	1,4816	0,010	67,04	0,0153	0,060
60	1,38	1796,220	2531,58	93,75	0,1199	2,2973	0,011	66,27	0,0240	0,096
80	1,85	1883,770	2585,78	94,56	0,1592	3,1710	0,011	63,07	0,0348	0,124

Pengaruh konsentrasi partikulat terhadap bioakumulasi Hg^{2+}

Konsentrasi partikulat (ppm)	Konsentrasi Hg^{2+} dalam air ($\mu\text{g.l}^{-1}$)	CFss	Presiksi CFss	k_u (hari^{-1})	Laju masuk ($\mu\text{g.g}^{-1}.\text{hari}^{-1}$)	Kadar dalam tubuh ikan ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	k_e (hari^{-1})	$t_{1/2b}$ (hari)	Laju keluar ($\mu\text{g.g}^{-1}.\text{hari}^{-1}$)	Laju akumulasi ($\mu\text{g.g}^{-1}.\text{hari}^{-1}$)
20	4,21	214,37	276,3	9,13	0,0370	0,8686	0,023	31,01	0,0194	0,018
40	8,42	252,46	300,66	12,87	0,1023	2,0073	0,024	29,30	0,0475	0,055
60	12,63	203,75	333,9	22,25	0,2604	2,3850	0,023	29,84	0,0554	0,205
80	16,85	288,84	339,7	15,43	0,2366	4,4285	0,022	32,09	0,0957	0,141

Lampiran 9. Rekapitulasi data parameter biokinetika pengaruh konsentrasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} terhadap bioakumulasi
 Pengaruh konsentrasi CH_3Hg^+ terhadap bioakumulasi CH_3Hg^+

Konsentrasi dalam air ($\mu\text{g},\text{l}^{-1}$)	CFss	Presiksi CFss	k_u (hari $^{-1}$)	Laju masuk ($\mu\text{g},\text{g}^{-1},\text{hari}^{-1}$)	Kadar dalam tubuh ikan ($\mu\text{g},\text{g}^{-1}$)	k_e (hari $^{-1}$)	$t_{1/2b}$ (hari)	Laju keluar ($\mu\text{g},\text{g}^{-1},\text{hari}^{-1}$)	Laju akumulasi ($\mu\text{g},\text{g}^{-1},\text{hari}^{-1}$)
0,021	1308,46	1763,9	49,15	0,0010	0,03	0,01019	68,02	0,0003	0,0007
0,105	1217,65	1944,32	52,38	0,0054	0,13	0,01098	63,13	0,0014	0,0040
0,361	1286,02	2001,92	55,81	0,0198	0,46	0,01064	65,15	0,0048	0,0149
1,832	1032,63	1472,88	42,9	0,0771	1,86	0,01082	64,06	0,0201	0,0570

Pengaruh konsentrasi Hg^{2+} terhadap bioakumulasi Hg^{2+}

Konsentrasi dalam air ($\mu\text{g},\text{l}^{-1}$)	CFss	Presiksi CFss	k_u (hari $^{-1}$)	Laju masuk ($\mu\text{g},\text{g}^{-1},\text{hari}^{-1}$)	Kadar dalam tubuh ikan ($\mu\text{g},\text{g}^{-1}$)	k_e (hari $^{-1}$)	$t_{1/2b}$ (hari)	Laju keluar ($\mu\text{g},\text{g}^{-1},\text{hari}^{-1}$)	Laju akumulasi ($\mu\text{g},\text{g}^{-1},\text{hari}^{-1}$)
0,4	179,72	222,6	9,77	0,0038	0,07	0,0227	30,54	0,0016	0,0022
2	165,03	215,77	8,77	0,0172	0,32	0,0238	29,12	0,0077	0,0095
10	145,4	175,72	7,5	0,0736	1,43	0,0248	27,95	0,0354	0,0382
20	137,62	162,92	5,4	0,1060	2,70	0,0268	25,86	0,0724	0,0336

Lampiran 12. Pengaruh ukuran ikan terhadap bioakumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+}

Pengaruh ukuran ikan terhadap bioakumulasi CH_3Hg^+

Ukuran (cm)	Konsentrasi dalam air ($\mu\text{g}, \text{l}^{-1}$)	CF _{ss}	Presiksi CF _{ss}	k_u (hari^{-1})	Laju masuk ($\mu\text{g}, \text{g}^{-1}, \text{hari}^{-1}$)	Kadar dalam tubuh ikan ($\mu\text{g}, \text{g}^{-1}$)	k_c (hari^{-1})	$t_{1/2b}$ (hari)	Laju keluar ($\mu\text{g}, \text{g}^{-1}, \text{hari}^{-1}$)	Laju akumulasi ($\mu\text{g}, \text{g}^{-1}, \text{hari}^{-1}$)
4,2	0,021	1419,34	2053,12	74,52	0,0015	0,0293	0,0109	63,59	0,0003	0,0012
9,3	0,021	1268,74	1936,09	62,87	0,0013	0,0261	0,0109	63,59	0,0003	0,0010
12,5	0,021	1261,840	2113,31	58,88	0,0012	0,0260	0,0102	67,96	0,0003	0,0009
15,6	0,021	1208,610	1995,37	55,96	0,0012	0,0249	0,0109	63,59	0,0003	0,0009

Pengaruh ukuran ikan terhadap bioakumulasi Hg^{2+}

Ukuran (cm)	Konsentrasi dalam air ($\mu\text{g}, \text{l}^{-1}$)	CF _{ss}	Presiksi CF _{ss}	k_u (hari^{-1})	Laju masuk ($\mu\text{g}, \text{g}^{-1}, \text{hari}^{-1}$)	Kadar dalam tubuh ikan ($\mu\text{g}, \text{g}^{-1}$)	k_c (hari^{-1})	$t_{1/2b}$ (hari)	Laju keluar ($\mu\text{g}, \text{g}^{-1}, \text{hari}^{-1}$)	Laju akumulasi ($\mu\text{g}, \text{g}^{-1}, \text{hari}^{-1}$)
4,2	0,4	181,59	227	9,69	0,0037	0,0699	0,0266	26,06	0,0019	0,0247
9,3	0,4	172,83	217,44	8,65	0,0033	0,0653	0,0244	28,41	0,0016	0,0228
12,5	0,4	143,020	185,9	7,01	0,0026	0,0530	0,0236	29,37	0,0013	0,0223
15,6	0,4	64,200	87,89	2,66	0,0010	0,0234	0,0234	29,62	0,0005	0,0229

Lampiran 11. Pengaruh salinitas terhadap bioakumulasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+}

Pengaruh salinitas terhadap bioakumulasi CH_3Hg^+

Salinitas (‰)	Konsentrasi dalam air ($\mu\text{g.l}^{-1}$)	CF _{ss}	Presiksi CF _{ss}	k_u (hari ⁻¹)	Laju masuk ($\mu\text{g.g}^{-1}.\text{hari}^{-1}$)	Kadar dalam tubuh ikan ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	k_e (hari ⁻¹)	$t_{1/2b}$ (hari)	Laju keluar ($\mu\text{g.g}^{-1}.\text{hari}^{-1}$)	Laju akumulasi ($\mu\text{g.g}^{-1}.\text{hari}^{-1}$)
22	0,021	1293,66	1679,54	71,19	0,0015	0,0261	0,0104	66,65	0,0003	0,0012
25	0,021	1316,71	1611,14	69,64	0,0014	0,0261	0,0104	66,65	0,0003	0,0012
27	0,021	1475,870	1968,04	78,57	0,0016	0,0287	0,0105	66,01	0,0003	0,0013
30	0,021	1500,350	2022,66	76,33	0,0016	0,0287	0,0109	63,59	0,0003	0,0013

Pengaruh salinitas terhadap bioakumulasi Hg^{2+}

Salinitas (‰)	Konsentrasi dalam air ($\mu\text{g.l}^{-1}$)	CF _{ss}	Presiksi CF _{ss}	k_u (hari ⁻¹)	Laju masuk ($\mu\text{g.g}^{-1}.\text{hari}^{-1}$)	Kadar dalam tubuh ikan ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	k_e (hari ⁻¹)	$t_{1/2b}$ (hari)	Laju keluar ($\mu\text{g.g}^{-1}.\text{hari}^{-1}$)	Laju akumulasi ($\mu\text{g.g}^{-1}.\text{hari}^{-1}$)
22	0,4	176,22	251,55	8,95	0,0035	0,0678	0,0241	28,76	0,0016	0,0019
25	0,4	168,7	241,56	8,49	0,0033	0,0637	0,0257	26,97	0,0016	0,0017
27	0,4	156,680	233,6	7,88	0,0031	0,0581	0,0265	26,16	0,0015	0,0016
30	0,4	154,760	284,46	6,87	0,0027	0,0563	0,0269	25,77	0,0015	0,00121

Lampiran 13. Contoh-contoh perhitungan

(1) Contoh perhitungan koreksi aktivitas

Pada eksperimen pengaruh konsentrasi CH_3Hg^+ dalam air $0,021\mu\text{g.L}^{-1}$ terhadap bioakumulasi CH_3Hg^+ , pengamatan hari ke 1 hasil analisis $\text{CH}_3^{203}\text{Hg}^+$ dalam tubuh ikan diperoleh sebesar $51,79\text{ Bq.g}^{-1}$. Mengingat perunut $\text{CH}_3^{203}\text{Hg}^+$ meluruh dengan waktu paro 47 hari maka hasil tersebut harus dikoreksi. Menggunakan persamaan $N_t = N_o e^{-0,693t/t_{1/2}}$,

$$N_o = \frac{51,79\text{ bq.g}^{-1}}{e^{-0,693 \cdot \frac{\text{hari}}{47\text{ hari}}}} = 52,562\text{ bq.g}^{-1}$$

Maka aktivasi $\text{CH}_3^{203}\text{Hg}^+$ dalam tubuh ikan $52,562\text{ Bq.g}^{-1}$

(2) Contoh perhitungan menentukan kandungan CH_3Hg^+ setelah kondisi Tunak

$$C_b = CF_{ss} \cdot C_w$$

Pada eksperimen pengaruh konsentrasi CH_3Hg^+ dalam air $0,021\mu\text{g.L}^{-1}$ (C_w) terhadap bioakumulasi diperoleh:

Nilai CF_{ss} 1308,46.

BJ air payau $1.019\text{ g.mL}^{-1} = 1019\text{ g.L}^{-1}$

$$C_b = 1308,46 \times 0,021\ \mu\text{g.L}^{-1} / 1019\ \text{g.L}^{-1} = 0,03\ \mu\text{g.g}^{-1}$$

(3) Contoh perhitungan menentukan fluks masuk

Pada eksperimen pengaruh konsentrasi CH_3Hg^+ dalam air $0,021\mu\text{g.L}^{-1}$ (C_w) terhadap bioakumulasi diperoleh:

k_u 49,15 hari⁻¹.

Laju Pengambilan/Influks (I) = $k_u \cdot C_w$

$$I = 49,15\text{ hari}^{-1} \times 0,021\mu\text{g.L}^{-1} = 1,0321\text{ hari}^{-1} \cdot \mu\text{g.L}^{-1}$$

BJ air payau $1.019\text{ g.mL}^{-1} = 1019\text{ g.L}^{-1}$

$$I = 1,30321\text{ hari}^{-1} \cdot \mu\text{g.L}^{-1} / 1019\ \text{g.L}^{-1} = 0,001\ \mu\text{g.g}^{-1}\text{hari}^{-1} \text{ (pembulatan)}$$

Lanjutan lampiran 13

(4) Contoh perhitungan menentukan fluk keluar dan laju akumulasi

Pada eksperimen pengaruh konsentrasi CH_3Hg^+ dalam air $0,021\mu\text{g.L}^{-1}$ (C_w) terhadap bioakumulasi diperoleh:

$$k_e = 0,01019 \text{ hari}^{-1}.$$

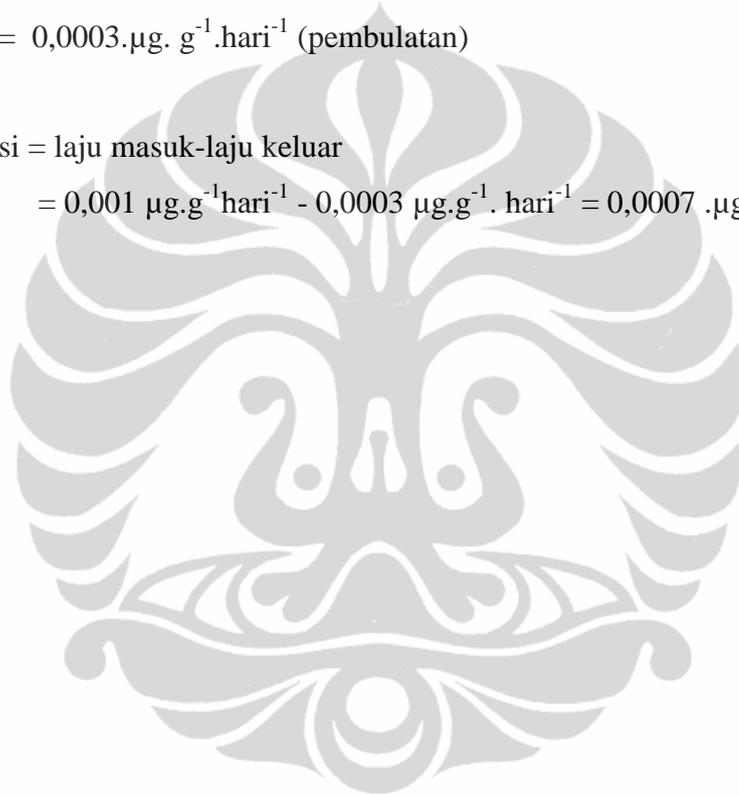
$$\text{Laju pelepasan} = k_e \cdot C_b$$

$$= 0,01019 \text{ hari}^{-1} \cdot 0,03 \mu\text{g.g}^{-1}$$

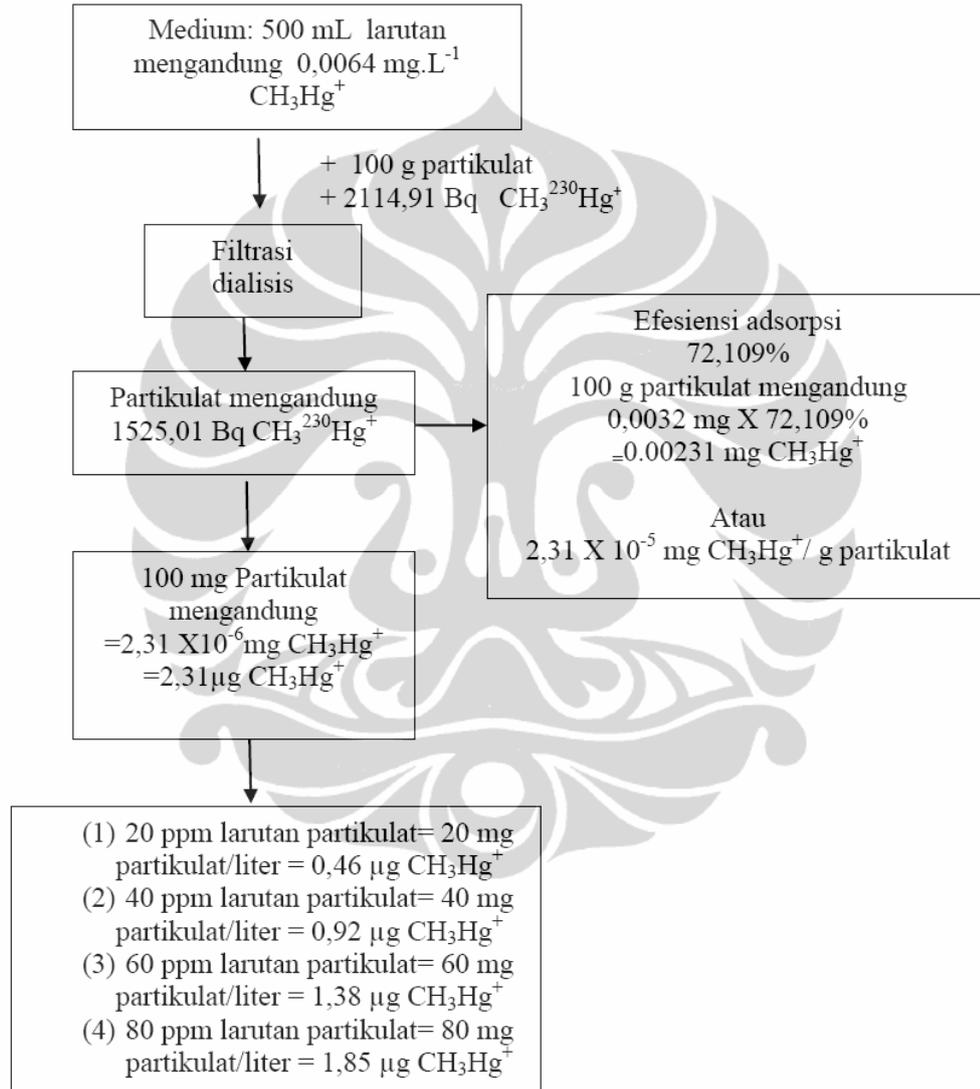
$$= 0,0003 \mu\text{g.g}^{-1} \cdot \text{hari}^{-1} \text{ (pembulatan)}$$

$$\text{Laju akumulasi} = \text{laju masuk} - \text{laju keluar}$$

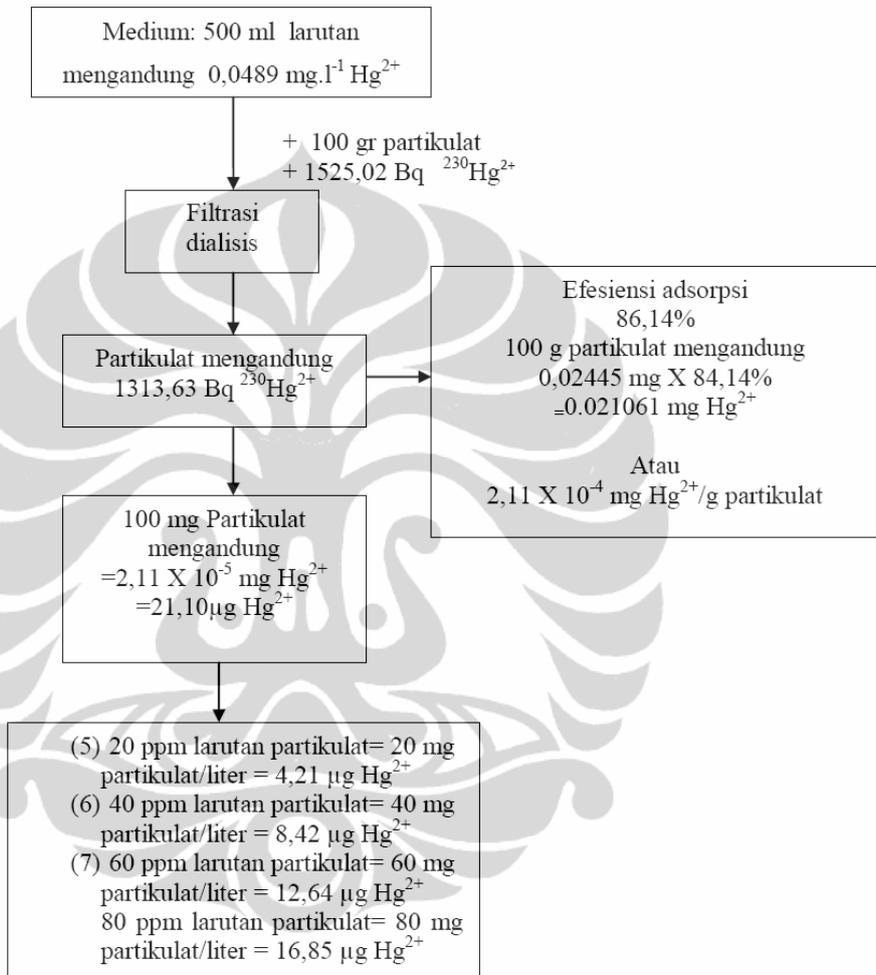
$$= 0,001 \mu\text{g.g}^{-1} \cdot \text{hari}^{-1} - 0,0003 \mu\text{g.g}^{-1} \cdot \text{hari}^{-1} = 0,0007 \mu\text{g.g}^{-1} \cdot \text{hari}^{-1}$$



(5) Menentukan konsentrasi CH_3Hg^+ di dalam partikulat



(6) Menentukan konsentrasi Hg^{2+} di dalam partikulat



Lanjutan lampiran 13

(7) Contoh perhitungan dugaan metilasi

Pada eksperimen pengaruh konsentrasi CH_3Hg^+ dan Hg^{2+} dalam air diperoleh :

Prediksi CF_{ss} maksimal pada kondisi tersebut sebagai berikut:

$$\text{CF}_{\text{ss}} \text{ CH}_3\text{Hg}^+ = 222,60$$

$$\text{CF}_{\text{ss}} \text{ Hg}^{2+} = 2001,92$$

Asumsi rasio konsentrasi CH_3Hg^+ terhadap Hg^{2+} di perairan payau 0,1 sampai 0,25.

Menggunakan persamaan berikut

$$R = \frac{\text{CF}_{\text{Hg}^{2+}}}{\left[\text{CF}_{\text{Hg}^+} + \left(\text{CF}_{\text{CH}_3\text{Hg}^+} \times \frac{\text{C}_{\text{CH}_3\text{Hg}^+}}{\text{C}_{\text{Hg}^+}} \right) \right]}$$

Maka relatif fraksi Hg^{2+} dalam tubuh ikan yang diperoleh adalah sebagai berikut:

R pada rasio konsentrasi CH_3Hg^+ terhadap Hg^{2+} 0,1

$$R = 222,60 / (222,60 + (2001,92 \times 0,1)) = 0,9175$$

$$\text{Persentase Hg}^{2+} \text{ dalam tubuh } O. \text{ mossambicus} = 0,9175 \times 100\% = 91,75\%$$

R pada rasio konsentrasi CH_3Hg^+ terhadap Hg^{2+} 0,2

$$R = 222,60 / (222,60 + (2001,92 \times 0,2)) = 0,8475$$

$$\text{Persentase Hg}^{2+} \text{ dalam tubuh } O. \text{ mossambicus} = 0,8475 \times 100\% = 84,75\%$$

Menggunakan cara yang sama maka rekapitulasi Persentase Hg^{2+} dalam tubuh *O. mossambicus* dengan asumsi konsentrasi CH_3Hg^+ terhadap Hg^{2+} di perairan payau 0,01 sampai 0,25.

Lanjutan lampiran 13

(8) Contoh menghitung nilai BAF

Rekapitulasi data pada Tabel 4.4 digunakan sebagai basis perhitungan BAF

$$CF \text{ CH}_3\text{Hg}^+ = 1472,88$$

$$k_e = 0,0102 \text{ hari}^{-1}$$

$$AE \text{ jenis pakan artemia} = 79,56\% = 0,7956$$

$$BCF \text{ CH}_3\text{Hg}^+ \text{ oleh } Artemia \text{ sp} = 50000$$

$$IR \text{ 5\%} \cdot \text{hari}^{-1} = 0,05 \text{ hari}^{-1}$$

Menggunakan persamaan

$$BAF = CF_{ss} \frac{(AE \cdot IR \cdot BCF)}{k_e}$$

$$BAF = 1472,88 \frac{(0,7956 \times 0,05 \text{ hari}^{-1} \times 50000)}{0,0102 \text{ hari}^{-1}} = 196955$$

(9) Contoh menghitung nilai TTF

Pada eksperimen melalui jalur pakan diperoleh

$$AE \text{ CH}_3\text{Hg}^+ \text{ dari mengkonsumsi } Artemia \text{ sp} = 79,56\%$$

$$AE \text{ Hg}^{2+} \text{ dari mengkonsumsi } Artemia \text{ sp} = 25,34\%$$

$$IR \text{ 0,02}$$

$$k_e \text{ CH}_3\text{Hg}^+ = 0,01020$$

$$k_e \text{ Hg}^{2+} = 0,0216$$

Berdasarkan persamaan (16)

$$TTF = AE \cdot IR / k_e$$

$$\begin{aligned} TTF \text{ CH}_3\text{Hg}^+ \text{ dari mengkonsumsi } Artemia \text{ sp} &= 79,56\% \times 0,02 \text{ hari}^{-1} / 0,0202 \text{ hari}^{-1} \\ &= 1,56 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} TTF \text{ Hg}^{2+} \text{ dari mengkonsumsi } Artemia \text{ sp} &= 25,34\% \times 0,02 \text{ hari}^{-1} / 0,0202 \text{ hari}^{-1} \\ &= 0,24 \end{aligned}$$