

## PENGARUH PEMAPARAN Cd DAN Cu TERHADAP ABNORMALITAS SPERMATOZOA IKAN MAS (*Cyprinus carpio*, Linn)

[The influence of Cd and Cu exposures to the abnormalities of common Carp (*Cyprinus carpio*, Linn) Sperm]

Yanuarso Eddy Hediando<sup>1</sup>, Esi Lisastuti<sup>1</sup>, Erma Najmiyati<sup>1</sup> dan Yetty Yusri Gani<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Balai Teknologi Lingkungan, BPP Teknologi, Puspiptek, Serpong, Tangerang, Tel 021-7560562, pes.4648

<sup>2</sup> Jurusan Biologi, F-MIPA, Universitas Padjadjaran, Jatinangor, Sumedang

### ABSTRAK

Suatu studi tentang pengaruh pemaparan Cd dan Cu terhadap abnormalitas spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio*, Linn) telah dilakukan. Untuk melihat pengaruh pemaparan logam berat kadmium (Cd) dan tembaga (Cu) terhadap abnormalitas spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio*, Linn) maka pada 2 percobaan terpisah telah dilakukan pemaparan logam berat kadmium (Cd) dan tembaga (Cu) terhadap semen ikan mas matang gonad. Hasil pemaparan menunjukkan bahwa rata-rata abnormalitas spermatozoa ikan mas menjadi 12,42; 22,00 dan 32,67% pada pemaparan dengan konsentrasi masing-masing 25, 50 dan 75 ppm Cd dan menjadi 15,50; 27,67 dan 40,33% pada pemaparan dengan masing-masing 31, 62 dan 93 ppm Cu selama 30 detik dibandingkan dengan abnormalitas pada semen segar sebesar 2,83 - 3,33%. Peningkatan kandungan Cd atau Cu menjadi 25 - 30 ppm di dalam air menyebabkan peningkatan abnormalitas spermatozoa sebesar 10 - 12%.

**Kata Kunci:** Kadmium (Cd), Tembaga (Cu), Spermatozoa, Ikan mas (*Cyprinus carpio*, Linn).

### ABSTRACT

To find the effect of heavy metals Cd or Cu to the abnormalities of common carp (*Cyprinus carpio*, Linn) sperm, Cd or Cu was exposed for 30 seconds to the fish semen obtained by stripping from matured fish in two separated experiments. The abnormalities of sperm were 12.42; 22.00 and 32.67% for 25, 50 and 75 ppm of Cd, respectively and 15.50; 27.67 and 40.33% for 31, 62 and 93 ppm of Cu, respectively, compared to 2.83 - 3.33% in the control. The increase of 25 - 30 ppm in Cd or Cu content resulted in the increase of 10 - 12% of sperm abnormalities.

**Key words:** Cadmium (Cd), Copper (Cu), Sperm, Common carp (*Cyprinus carpio*, Linn).

### PENDAHULUAN

Berbagai aktivitas manusia dalam kegiatan industri, pertanian ataupun rumah tangga telah berdampak pada meningkatnya jumlah polutan yang masuk ke dalam ekosistem perairan. Diantara logam berat yang merupakan limbah kegiatan industri adalah kadmium (Cd) dan tembaga (Cu), keduanya dikelompokkan sebagai bahan beracun dan berbahaya/B3 (EPA, 1983). Toksisitas kedua logam tersebut pada organisme akuatik seperti ikan, secara langsung telah berpengaruh pada organ reproduksi. Kadmium dapat menghambat spermatogenesis pada ikan mas jantan (Tandjung, 1992). Demikian pula Cu dapat menghambat pematangan spermatozoa selama spermatogenesis (Kime dalam Alsop, 1997)

Ikan mas (*Cyprinus carpio*, Linn) merupakan jenis ikan yang banyak dibudidayakan. Pengaruh

letal dan toksistas berbagai logam telah banyak diketahui pada ikan mas (Mason, 1981). Pada penelitian ini ingin diketahui pengaruh logam Cd dan Cu pada konsentrasi sub letal terhadap abnormalitas spermatozoa ikan mas.

Logam esensial dibutuhkan dalam jumlah yang sangat kecil oleh makhluk hidup. Sebaliknya dalam jumlah yang berlebih, sekalipun kecil akan berubah menjadi bahan yang bersifat toksik (Tourmaa, 1995). Logam Cd sebagai bahan beracun dan berbahaya menjadi populer setelah kasus *Itai-itai Byo* di Jepang 1955. Sedangkan Cu yang seringkali digunakan untuk bahan algasida atau moluskisida, hingga sekarang belum dilaporkan mengakibatkan masalah yang besar.

Keberadaan Cd dan Cu dalam perairan dapat bersifat toksik bagi organisme di dalamnya.

Konsentrasinya yang tinggi dapat menyebabkan kematian, sedangkan pada konsentrasi sub letal dapat menyebabkan gangguan berbagai fungsi organ tubuh termasuk fungsi reproduksi; terlebih bagi sel-sel gamet yang sangat sensitif, misalnya spermatozoa.

Nilai toksisitas suatu toksikan terhadap suatu organisme dapat dinyatakan dengan beberapa parameter, diantaranya adalah nilai konsentrasi letal 50 (LC-50), yaitu nilai yang menyebabkan 50% organisme mengalami kematian. Dari LC-50 ini kemudian dapat ditetapkan toksisitas sub letal yang mengakibatkan pengaruh merusak atau mengganggu pertumbuhan, kemampuan reproduksi dan tingkah laku. Demikian juga dengan toksisitas kronis, pengaruhnya ditunjukkan dalam masa yang panjang (Mason, 1991). Pada toksikan logam berat, dua hal terakhir ini menjadi sangat penting, karena keberadaan logam berat dalam perairan umumnya dalam kadar yang rendah akan tetapi dalam masa yang panjang.

Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh logam berat kadmium dan tembaga terhadap abnormalitas spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio*, Linn)

**BAHAN DAN METODE**

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah aquarium kaca berukuran 40cm x 30cm x 20cm, tabung sentrifuse, mikropipet effendorf 1µl dan 100µl, magnetic stirrer, kamar hitung Neubauer improve, objek glass dan cover glass, spet 0,5 ml tanpa jarum, mikroskop cahaya, counter dan fotomikrograf.

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktor tunggal dengan satu kelompok kontrol serta tiga kelompok perlakuan yaitu tiga konsentrasi yang diambil dari nilai LC-50 sebesar 25 %, 50 % dan 75 %, masing-masing dengan enam kali ulangan. Satu mikro liter semen didedahkan terhadap berbagai konsentrasi tembaga atau Cd selama 30 detik untuk mendapatkan nilai LC-50.

Dari hasil perhitungan dihasilkan jumlah ulangan sebanyak 6 kali.

Ikan yang dipakai sebagai hewan uji adalah ikan mas jantan yang telah matang gonad (berumur sekitar 6 bulan ) dengan berat seragam 400 gram.

Sebelum dipergunakan untuk percobaan, ikan diaklimatisasi selama satu minggu dalam kondisi laboratorium. Ikan-ikan tersebut ditempatkan di dalam aquarium yang diberi aerator untuk membantu penyediaan oksigen. Kondisi ikan uji dipelihara sebaik-baiknya dengan pemberian makanan berupa pelet.

Pengencer semen yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstender Kime (Kime *et al*, 1996). yang komposisinya tertera pada Tabel 1:

Tabel 1. Komposisi larutan Kime (Kime *et al*, 1996)

Komposisi larutan	Banyaknya
Tris HCl	2,42 gram
NaCl	5,52 gram
KCl	2 gram
Glisin	3,75 gram

*Keterangan:* Masing-masing dalam 1 liter akuades

Pengujian pendahuluan dilakukan untuk mendapatkan konsentrasi ambang atas dan bawah. Konsentrasi ambang atas adalah konsentrasi terendah yang menyebabkan kematian 100% spermatozoa, sedangkan konsentrasi ambang bawah adalah konsentrasi tertinggi yang menyebabkan spermatozoa hidup 100%.

Pengujian dilakukan terhadap konsentrasi (ppm) dalam deretan angka basis 10, seperti 10<sup>0</sup>, 10<sup>1</sup>, 10<sup>2</sup>, 10<sup>3</sup> (Sprague, 1973 dalam Wardoyo, 1979).

Pengujian lanjutan dilakukan terhadap enam konsentrasi diantara nilai ambang atas dan bawah. Deretan konsentrasi tersebut ditentukan dalam interval jarak dosis, yang dihitung dengan persamaan logaritma (Sprague, 1972 dalam Wardoyo 1979). Selanjutnya data mortalitas sperma

diolah dengan menggunakan piranti lunak *Micro Probit 3.0* untuk mendapatkan nilai LC-50.

Semen ikan mas jantan diencerkan dengan pengencer Kime 1:100, pada kelompok perlakuan pengencer ditambahkan sejumlah Cu atau Cd sehingga konsentrasi Cu atau Cd dalam pengencer menjadi 75 %, 50 % dan 25 % dari nilai LC-50. Kemudian dari campuran tersebut diambil 1 µl spermatozoa dan diencerkan lebih lanjut dengan aquades steril sebanyak 19 µl (untuk memberikan pengenceran akhir 1:2000) pada saat pengamatan pada kaca objek penilaian abnormalitas morfologis spermatozoa.

Evaluasi abnormalitas spermatozoa dilakukan dengan cara pembuatan preparat ulas (apusan) yang menggunakan pewarnaan diferensial dengan pewarna nigrosin 10% dan eosin 1%. Cara yang dipakai dalam pembuatan preparat ulas ini adalah sebagai berikut :

Gelas objek yang bersih ditetesi semen hasil pengenceran dengan ekstender kecuali untuk kelompok perlakuan ditambahkan logam tembaga pada berbagai konsentrasi, kemudian ditambahkan eosin 1 % (0,1 gram eosin dalam 10 ml aquades) sebanyak 1 tetes, kemudian tambahkan 1 tetes

nigrosin 10% (1 gram nigrosin dalam 10ml aquades) diaduk rata. Pembuatan preparat ulas dibantu dengan gelas objek lain yang langsung dikeringkan pada udara hangat.

Pengamatan abnormalitas dilakukan di bawah mikroskop dengan perbesaran 100x10. Jumlah spermatozoa abnormal dihitung dari pemeriksaan 100 spermatozoa (Partodihardjo, 1977).

$$\text{Abnormalitas spermatozoa (\%)} = \frac{P}{Q} \times 100\%$$

Keterangan :

- P = Spermatozoa abnormal yang terhitung
- Q = Total spermatozoa yang dihitung

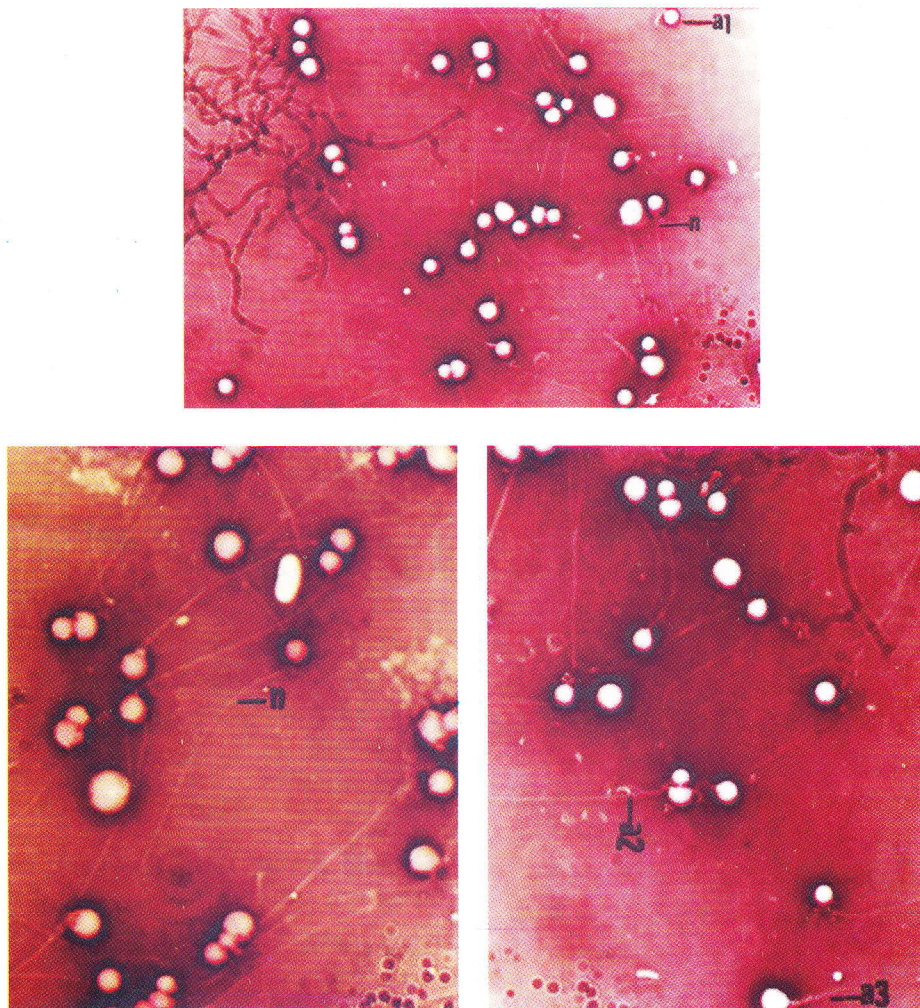
Metode analisis data yang digunakan untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap kualitas spermatozoa ikan mas adalah uji F atau Analisis Varians/Anova dengan aras 1% (Sokal & Rohlf, 1995).

#### HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari dua percobaan secara terpisah untuk pengamatan terhadap pengaruh Cd dan Cu, diperoleh hasil pada Tabel 2 dan Gambar 1.

Tabel 2. Persentase abnormalitas spermatozoa ikan mas setelah pemaparan berbagai konsentrasi sub letal Cd dan Cu.

Konsentrasi sub letal logam berat	Abnormalitas spermatozoa (%)	
	Kadmium	Tembaga
0	2,83	3,33
25% LC-50	12,42	15,50
50% LC-50	22,00	27,67
75% LC-50	32,67	40,33



Gambar 1. Foto mikrogram spermatozoa ikan mas (Pembesaran 1000x)

Keterangan:

a1 : abnormal kepala tanpa ekor

a2 : abnormal ekor tergulung

a3 : abnormal ekor putus

n : normal

Abnormalitas spermatozoa dibagi menjadi 2 kelompok yaitu abnormalitas primer dan sekunder. Abnormalitas primer yaitu abnormalitas yang terjadi selama proses spermatogenesis. Sedangkan abnormalitas sekunder adalah abnormalitas yang terjadi karena pengaruh lingkungan. Keberadaan abnormalitas spermatozoa dalam jumlah tertentu (di bawah 5%) merupakan kondisi yang normal sebagai bentuk abnormalitas primer. Sebagaimana hasil yang diperoleh dalam penelitian ini sekalipun

spermatozoa tidak mendapatkan perlakuan pemaparan logam (0 ppm). Jenis-jenis kelainan yang ditemukan diantaranya adalah kepala ganda.

Dari seluruh perlakuan pemaparan spermatozoa dengan kadar Cd dan Cu yang meningkat dalam konsentrasi sub letal telah mengakibatkan peningkatan persentase abnormalitas spermatozoa secara signifikan. Abnormalitas spermatozoa yang ditemukan pada masing-masing kelompok percobaan dengan Cd dan Cu juga menunjukkan jenis

penyimpangan morfologis yang sama. Diantaranya yaitu kepala tanpa ekor, ekor patah, ekor tergulung, butiran protoplasma proksimal dan distal.

Abnormalitas berupa ekor spermatozoa yang tergulung diduga karena pemaparan dengan logam berat menyebabkan larutan menjadi hipertonis. Jika spermatozoa disimpan dalam larutan hipertonis akan mengakibatkan vakuola sitoplasma membuka dan membran ekor menjadi lebih permeabel, sehingga ekor tergulung (Ginzburg, 1972). Pengaruh keadaan ini bagi fertilitas adalah adanya hambatan pergerakan.

Analisis secara kimiawi terhadap ekor spermatozoa ikan salmon menunjukkan bahwa kandungan proteinnya sebesar 41,90%. Kandungan tersebut lebih banyak dibandingkan dengan bagian lainnya. Diduga terjadi perlekatan antara logam (terutama Cd) dengan protein yang ada pada bagian leher spermatozoa dengan bagian ekor, sehingga menyebabkan ekor spermatozoa mudah terlepas dari bagian leher/kepala.

#### KESIMPULAN

Kadmium dan tembaga bersifat toksik terhadap spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio*, Linn) dengan masing-masing nilai LC-50 sebesar 98,41 ppm dan 123, 78 ppm. Terjadi peningkatan abnormalitas spermatozoa ikan mas menjadi 12,42; 22,00 dan 32, 67% pada pemaparan masing-masing 25, 50 dan 75 ppm Cd dan menjadi 15,50; 27,67 dan 40,33% pada pemaparan dengan masing-masing 31,62 dan 93 ppm Cu selama 30 detik dibandingkan dengan 2,83-3,33% pada abnormalitas semen segar.

Disarankan agar dilakukan pengujian lebih lanjut terhadap logam yang digunakan dalam bentuk campuran dengan logam berat lain karena beberapa logam seringkali menjadi polutan secara bersamaan.

#### UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih ditujukan kepada Sdr. Reliana Lumban Toruan, S.Si atas bantuan teknisnya selama penelitian ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Alsop, D. 1997. Some Effect of Heavy Metal on Early Lifestages of Fish. *Aquatic Toxicology*. <http://www.science.mcmaster.ca/biology/4s03/DA3.html>.
- EPA (Environmental Protection Agency). 1993. *Hazardous Waste Land Treatment*. USA.
- Kime, DE, M Ebrahimi, K. Nynsten, I. Roelants, E. Rurangwa, H. D. M. Moore, F. Ollivier. 1996. Use\_of Computer Assisted Sperm Analysis (CASA) for Monitoring The Effect of Pollution on Sperm Quality of Fish : Application to the Effect of Heavy Metals . *J. Aquatic Toxicology* . pp : 223 - 237.
- Ginzburg, SA, 1972. Fertilization in fishes and the problem of polyspermy. Wiener Bindery. Jerusalem.
- Mason, CF. 1981. *Biology of Freshwater Pollution*. Longman Inc, New York.
- Sokal, RR dan FJ Rohlf. 1995. *Pengantar Biostatistika.. Edisi ke 2*. UGM-Press, Yogyakarta.
- Tandjung, HSD. 1992. Pengaruh kadmium klorida kadar rendah terhadap Spermatogenesis Ikan. *Biologi*. I:159-167.
- Tourmaa, TE. 1995. The Role of Chromium, Selenium and Copper in Human and Animal Metabolism. *Journal of Orthomolecular Medicine*. 10(3):149-164.
- Wardoyo, STH. 1979. Panduan uji biologis untuk evaluasi toksisitas minyak dan dispersan. Pusat Pengembangan Teknologi dan Gas Bumi (LEMIGAS). Study Group Proyek Lingkungan Hidup.