

Acute and chronic effect of cyanide on survival rate, behavior, and reproduction of *Daphnia* sp.

Efek akut dan kronis sianida terhadap tingkat kelulusan hidup, tingkah laku dan perkembangbiakan *Daphnia* sp.

Melky R. Pattiwael^{1*}, Remy E. P. Mangindaan², Rudi Prabowo³, and Inneke F. M. Rumengan²

¹Program Studi Ilmu Perairan, Program Pascasarjana, Universitas Sam Ratulangi. Jln. Kampus UNSRAT Bahu, Manado 95115, Sulawesi Utara, Indonesia.

²Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi, Manado.

³PT. Nusa Halmahera Mineral

* E-mail: kyky_pattiwael@yahoo.com

Abstract: Cyanide (CN) through leaching process in the gold processing could produce tailings that have negative impacts on the aquatic environment. To determine the acute and chronic effects of cyanide on aquatic organisms, toxicity tests have been conducted in the laboratory using *Daphnia* sp. This zooplankton organism is recommended by APHA as standard test animals. In this study the test concentrations refer to the Ministerial Decree No. 202 of 2004 and Government Regulation No. 82 of 2001. Cyanide was analyzed as free CN and WADS CN. The result of acute toxicity test using cyanide solution showed that *Daphnia* could survive a maximum concentration of 0.2 ppm. LC₅₀ values for 24 and 72 hours were 0,59 mg/L and 0,10 mg/L, respectively. The LT₅₀ was found at 42 hours. *Daphnia* sp. produced different numbers of offspring at different CN concentrations, and changed their reproduction pattern from parthenogenesis to sexual reproduction after exposure to a cyanide concentration of 0.1 ppm for 24 hours©

Keywords: cyanide(CN); *Daphnia* sp.; acute effects; chronic effect.

Abstrak: Sianida (CN) melalui proses *leaching* dalam proses pengolahan emas menghasilkan limbah yang dapat memberi dampak negatif bagi lingkungan perairan. Untuk mengetahui sampai seberapa jauh CN dapat memberi efek akut dan kronis terhadap biota air, telah dilakukan uji toksisitas di laboratorium dengan menggunakan *Daphnia* sp. Zooplankton ini direkomendasikan oleh APHA sebagai salah satu hewan uji standar. Dalam penelitian ini konsentrasi uji yang dipakai mengacu pada peraturan yang berlaku, yaitu Keputusan Menteri No. 202, Tahun 2004, dan Peraturan Pemerintah No. 82, Tahun 2001. Analisis sianida yang dihitung adalah nilai *free* CN dan WADS CN. Hasil penelitian uji toksisitas akut dengan menggunakan larutan sianida didapati *Daphnia* mampu bertahan hidup sampai pada konsentrasi 0,2 ppm dan nilai LC₅₀ berada pada konsentrasi 0,1 ppm serta LT₅₀ pada jam ke 42. Hasil uji efek kronis, *Daphnia* sp. menghasilkan jumlah anakan yang berbeda pada konsentrasi CN yang berlainan, dan mengalami perubahan pola reproduksi dari partenogenesis menjadi seksual setelah dipaparkan pada konsentrasi sianida 0,1 ppm selama 24 jam©

Kata-kata kunci: Sianida (CN); *Daphnia* sp.; efek Akut; efek kronis.

PENDAHULUAN

Sianida (CN) adalah senyawa kimia yang mengandung kelompok siano C≡N, dengan atom karbon terikat-tiga ke atom nitrogen. Kelompok CN dapat ditemukan dalam bentuk senyawa yang berbeda-beda (Daintith, 1994), berupa gas, dan lainnya padat atau cair (Arsyad, 2001).

Penggunaan sianida dalam proses pengolahan atau pengekstrasian emas dikenal dengan *leaching* sianida. Sianida (CN) senyawa dapat melepas ion sianida CN⁻ yang sangat beracun,

sehingga digolongkan dalam bahan B3. Karena itu, keberadaan sianida sebagai limbah dapat memberi dampak negatif bagi ekosistem, mulai pada tingkat rantai makanan paling bawah yaitu plankton. Zooplankton memiliki peranan penting dalam ekosistem perairan sebagai produsen sekunder, namun rentan terhadap berbagai kontaminan antropogenik (Rumengan and Ohji, 2009; 2012).

Daphnia sp. adalah zooplankton krustasea air tawar kecil yang direkomendasikan oleh APHA sebagai hewan uji standar toksisitas suatu kontaminan. Hal ini berkaitan dengan keberadaan

Daphnia sebagai *filter feeder* sehingga rentan terhadap adanya kontaminasi perairan. Terpaparnya organisme ini dalam lingkungan yang terkontaminasi dapat berakibat lanjut pada kelangsungan populasinya di alam, lewat terganggunya aspek reproduksi. Zooplankton ini bereproduksi secara normal dengan cara partenogenesis (Djarajah, 1995), tapi bisa berubah menjadi seksual oleh pengaruh perubahan faktor lingkungan.

Beberapa permasalahan yang perlu dikaji dari dampak sianida pada perairan terhadap *Daphnia* sp., yaitu apa efek akut sianida terhadap organisme ini? Apa dampak lanjut terhadap perkembangbiakannya ketika terkontaminasi oleh sianida? dan berapa besaran konsentrasi sianida yang masih dapat ditoleransi oleh organisme ini? Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan konsentrasi sianida yang memberi efek akut dan efek kronis terhadap organisme tersebut.

MATERIAL DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di lokasi pertambangan emas PT. Nusa Halmahera Mineral, Ternate. *Daphnia* sp. sebagai hewan uji diperoleh dari Balai Budidaya Air Tawar Tatelu dan dikembangbiakan sebagai stok hewan uji pada media kultur yang terbuat dari rendaman kotoran sapi dan tanah pekarangan. Dalam proses kultur, hewan uji *Daphnia* diberi makan dua hari sekali dengan menggunakan pakan ragi dan susu (Djarajah, 1995). Hewan uji keturunan pertama dipelihara selama dua hari kemudian diambil untuk dipakai pada pengujian toksisitas akut. Preparasi hewan uji pada pengujian kronis juga memakai keturunan pertama dalam pengkulturan skala laboratorium yang dipelihara sampai hewan uji siap untuk memijah berumur empat hari.

Bahan kimia yang dicobakan adalah sodium sianida (NaCN) yang digunakan dalam proses pengolahan bijih emas. Adapun konsentrasi sianida yang dipakai dalam penelitian untuk pengujian efek akut sebanyak sepuluh konsentrasi, yaitu 0 (Kontrol), 0,02, 0,05, 0,07, 0,09, 0,1, 0,5, 0,8 dan 1,4 ppm. Pada pengujian toksisitas akut, dilakukan Uji Penda-huluan pengaruh pH terhadap tingkat lulus hidup hewan uji. Selanjutnya, Uji Toksisitas Akut dilakukan dengan menggunakan larutan sianida pada pH 8. Prosedur pengujian toksisitas akut pada Uji Pendahuluan dan Uji Akut menggunakan sianida yang sama. Masing-masing larutan dengan konsentrasi yang sudah ditentukan dimasukkan

hewan uji sebanyak lima individu. Pengamatan pengujian dilakukan pada 5 waktu yang berbeda, yaitu 6, 12, 18, 24, 72 jam dan dilakukan empat kali pengulangan. Selama proses pengujian hewan uji tidak diberi makan.

Pengujian toksisitas kronis menggunakan *Daphnia* betina yang siap bertelur pada tiga tingkat konsentrasi \leq LC₅₀ sianida dari hasil toksisitas akut; masing-masing konsentrasi yang dipakai, yaitu 0,10, 0,07 dan 0,02 ppm dengan pengulangan empat kali dan diberi makan seperti pada waktu kultur stok awal. Setiap unit percobaan dimasukkan satu individu *Daphnia* dan dibiarkan hidup pada larutan sianida selama waktu $<$ LT₅₀, yaitu 24 jam (nilai LT₅₀ didapat dari hasil Uji Toksisitas Akut). Setelah dipaparkan hewan uji dipindahkan ke media kultur yang normal. Pengamatan efek Uji Toksisitas Kronis dilakukan sampai pada proses reproduksi ke-2. Prosedur yang digunakan mengacu pada *Standard Operating Procedure (SOP# T07-003) for Toxicity Test Methods Daphnia* (Armstrong, 2010).

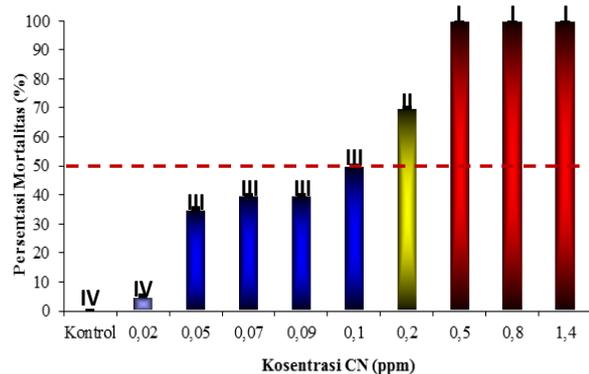
Data yang diperoleh dianalisis menggunakan rumus persentase mortalitas; untuk melihat efek mortalitas *Daphnia* digunakan Analisis Probit. Data yang diperoleh dilakukan *arsinh transformation* (Fowler et al., 1998) untuk diuji ANOVA (*analysis of variance*) dan dilanjutkan dengan Uji Tukey/Kramer (*Statview Version 5.0*) untuk menentukan perlakuan mana yang memberi pengaruh signifikan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Toksisitas Akut

Hasil Uji Pendahuluan menunjukkan bahwa *Daphnia* sp. dapat hidup pada pH 7 sampai 9 selama 3 hari dalam waktu pengamatan 72 jam dengan tingkat lulus hidup sebesar 100%. Menurut Delbaere and Dhert (1996), *Daphnia* sp. memiliki kemampuan hidup dalam air yang kandungan oksigen terlarutnya dari hampir nol sampai lewat jenuh pada kisaran pH cukup besar sampai pada pH 9,5. Rossiana (2006) melaporkan, *Daphnia* dapat bertahan hidup pada limbah cair tahu pada pH 5. Penurunan nilai tingkat lulus hidup *Daphnia* terjadi pada pH 10 pada jam ke 72. *Daphnia* tidak dapat hidup pada pH 9,5 (Delbaere and Dhert, 1996). Garno (2000) melaporkan *Daphnia* dapat hidup pada larutan "Rinso" dengan konsentrasi $<$ 10 ppm selama 72 jam dengan pH 8,8.

Hasil Uji Toksisitas Akut sianida menunjukkan tingkat lulus hidup *Daphnia* sp. yang berbeda pada setiap konsentrasi. Hasil pengamatan



Gambar 1. Mortalitas *Daphnia* terhadap sianida pada jam ke 72. n = 4 Tukey/Kramer test $p < 0,05$; I > II > III > IV

pengujian efek akut sianida sampai pada jam ke 72 *Daphnia* sp. mengalami mortalitas pada konsentrasi 0,02 ppm sebesar 5%. Mortalitas yang tinggi terlihat pada konsentrasi 0,5-1,4 ppm dengan nilai mortalitas sebesar 100% (Gambar 1). Hasil analisis data diperoleh LC₅₀ pada jam ke 72 sebesar 0,10 ppm dan LT₅₀ pada jam ke 42.

Hasil ANOVA pada pengujian ini menunjukkan bahwa perlakuan pemaparan sianida dengan konsentrasi berbeda terhadap *Daphnia* memberikan toksisitas akut yang berbeda sangat nyata. Uji lanjutan dengan menggunakan Tukey/Kramer menunjukkan perbedaan efek mortalitas antara setiap perlakuan yang berbeda. Mortalitas *Daphnia* pada konsentrasi 0,5-1,4 ppm memberi efek mortalitas yang diberikan sama dan lebih besar atau berbeda nyata dari konsentrasi lainnya. Konsentrasi 0,2 ppm memberi efek mortalitas lebih kecil dari konsentrasi 0,5-1,4 ppm dan lebih besar dari 0,02-0,1 ppm dan Kontrol. Mortalitas pada konsentrasi 0,05-0,1 ppm memiliki persentasi mortalitas lebih besar dari perlakuan Kontrol dan konsentrasi 0,02 ppm, serta lebih kecil dari konsentrasi 0,2 -1,4 ppm. Perlakuan Kontrol dan konsentrasi 0,02 ppm tidak memberi efek mortalitas yang berbeda terhadap *Daphnia*; kedua konsentrasi ini persentasi mortalitasnya lebih kecil dari semua perlakuan konsentrasi.

Kemampuan hidup *Daphnia* yang tinggi pada konsentrasi sianida dikarenakan organism ini memiliki kemampuan untuk beradaptasi pada kondisi yang buruk. Soetopo *et al.* (2007) melaporkan, pada konsentrasi pentaklorofenol, *Daphnia* dapat bertahan hidup dengan konsentrasi 455 ppb. Kemampuan *Daphnia* untuk menyesuaikan diri pada kondisi ekstrim (miskin oksigen) disebabkan oleh kemampuannya dalam mensintesis haemoglobin (Delbaere and Dhert,

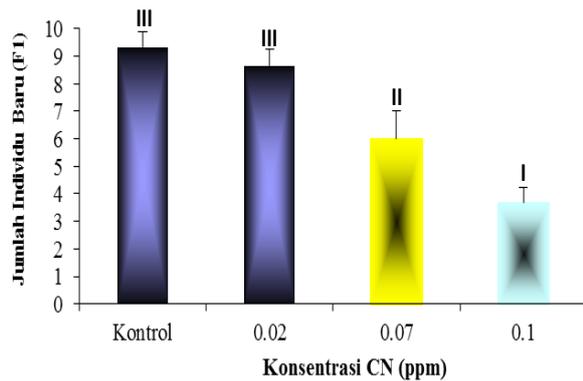
1996). Pembentukan *haemoglobin* di dalam tubuh *Daphnia magna* merupakan bentuk adaptasi terhadap toleransi oksigen terlarut yang rendah. Ebert (2005) menyatakan bahwa pada kondisi tersebut di atas, *Daphnia* akan membentuk *haemoglobin* dalam *hemolymph* untuk membantu pendistribusian oksigen dalam tubuhnya. Cara makan *filter feeder* dapat mempercepat penyerapan konsentrasi sianida masuk dalam tubuh sehingga sianida dengan cepat dapat bereaksi. Bishop (2000) mengemukakan cara kerja toksisitas sianida yang bersifat toksik dan dapat mengganggu sistem pernafasan. Tingkat toksisitas sianida ditentukan oleh konsentrasi dan pengaruhnya terhadap organisme hidup (Smith and Mudder, 1991).

Uji Toksisitas Kronis

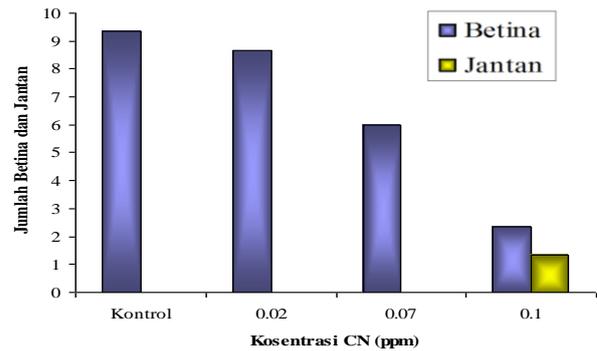
Daphnia sp. mengalami proses reproduksi pada jam ke 48. Jumlah anakan yang dihasilkan bervariasi menurut konsentrasi dengan rata-rata 9,33 individu pada kontrol, 8,6 individu pada 0,02 ppm, 6 individu pada 0,07 ppm, dan 3,6 individu pada 0,10 ppm (Gbr. 2). Hasil ANOVA dan Tukey/Kramer menunjukkan bahwa pemaparan sianida dengan konsentrasi yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda terhadap jumlah anakan *Daphnia*.

Efek kronis sianida ini terhadap sistem reproduksi *Daphnia* sp. mengklarifikasi temuan Smith and Mudder (1991), efek toksisitas sianida menurunkan kemampuan reproduksi. Pada penelitian ini, efek kronis berlanjut sampai jam ke 120 (Gbr. 3) dengan terbentuknya anakan jantan pada konsentrasi 0,10 ppm. Hal ini mengakibatkan perubahan siklus reproduksi *Daphnia* sp. dari partenogenesis menjadi seksual. Perubahan pola reproduksi ini dapat berkonsekuensi pada peningkatan lama proses reproduksi namun hal ini memang perlu diteliti lebih lanjut.

Efek toksisitas kronis sianida yang menyebabkan deferensiasi jenis kelamin anakan *Daphnia* dijelaskan lebih rinci oleh Le Blanc *et al.* (2006) bahwa *stressor* kimia lingkungan berkaitan dengan respon balik terhadap sintesis *ecdysteroid* yang berperan sebagai *testosterone antagonizes*. *Stressor* tersebut memberikan respon pada reseptor protein kemudian terjadi regulasi negatif yang ditandai dengan aktifnya sintesis hormon terpenoid yakni *methyl farnesoate*. Hal ini menyebabkan kegagalan pembentukan kelamin betina. *Haemoglobin* diatur oleh hormon terpenoid (*methyl farnesoate*), konsentrasi *haemoglobin* meningkat secara signifikan pada pemaparan hormon *methyl farnesoate*. Potensi hormon terpenoid untuk



Gambar 2. Jumlah anakan *Daphnia* yang terpapar pada konsentrasi CN yang berbeda selama 24 jam, dan setelah 24 jam dipindahkan ke medium kultur normal. $n = 3$ Tukey/Kramer test $p < 0,05$; $I > II > III$.



Gambar 3. Jenis kelamin anakan *Daphnia* yang terpapar pada konsentrasi CN yang berbeda selama 24 jam dan setelah dipindahkan ke medium kultur normal selama 96 jam.

meningkatkan konsentrasi *haemoglobin* dan induksi anakan jantan berkorelasi positif. Apakah keadaan ini yang terjadi pada *Daphnia* dalam penelitian ini, perlu ditelaah lebih lanjut.

Dekken (2005) menemukan, pada kondisi oksigen rendah (*hypoxia*) *Daphnia magna* akan meningkatkan produksi *haemoglobin* untuk membantu transportasi oksigen di dalam tubuh. Mungkin fenomena ini terjadi dalam penelitian ini pada jam ke 120, namun perlu dibuktikan lebih lanjut. Smith and Mudder (1991) menyatakan bahwa efek toksik dari sianida dapat juga dilihat dari menurunnya pertumbuhan, kemampuan reproduksi, dan bentuk fisik yang tidak normal.

Dominansi anakan *Daphnia* berkelamin jantan dalam lingkungan terkontaminasi telah pula dilaporkan oleh Hermawati *et al.* (2009). Ketika hewan ini terpapar dengan kadmium klorida ($CdCl_2$) pada konsentrasi 0,0004 mg/l dan menghasilkan 100% jantan yang ukuran tubuhnya relatif lebih kecil dari betina. Fenomena seperti ini nampak pada organisme tingkat rendah, seperti yang juga dilaporkan oleh Rumengan (1990) untuk rotifer dan Ohji *et al.* (2004) untuk amphipod.

KESIMPULAN

Efek toksitas akut sianida pada *Daphnia* terdeteksi dengan nilai LC_{50} pada konsentrasi 0,1 ppm dan LT_{50} pada jam ke 42, walaupun sebagian individu mampu bertahan hidup sampai pada konsentrasi 0,2 ppm. Efek kronis sianida terlihat pada jumlah anakan yang berbeda menurut konsentrasi, dan perubahan pola reproduksi dari partenogenesis menjadi seksual setelah dipaparkan dengan konsentrasi sianida 0,1 ppm selama 24 jam.

Ucapan terima kasih: penelitian ini dapat terlaksana berkat berbagai fasilitas yang tersedia di PT. Nusa Halmahera Minerals; ucapan terima kasih kami tujukan kepada Bpk. Agus Darmawan (Manajer Environment) dan Reymelda Tahamata (Manager Intertek Testing and Services).

REFERENSI

- ANONYMOUS (2010) *Sianida adalah zat beracun*. <http://ndypionipop.multiply.com/journal/item/51/Sianida> [Accessed 14/03/12].
- APHA (2005) *Standart metode for the examination of water and wastewater*. 21th ed. Washington DC: American Public Health.
- ARMSTRONG, B.M. (2010) *Standard operating prosedur for acute toxicity test*.
- ARSYAD, N. (2001) *Kamus kimia arti dan penjelasan ilmiah*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- BISHOP, P.L. (2000) *Pollution prevention: fundamentals and practice*. Singapore: McGraw-Hill Co. Inc.
- DAINTITH, J. (1994) *Kamus lengkap kimia*. (Terjemahan: Achmadi, S). Jakarta: Erlangga.
- DELBARE, D. and DHERT, P. (1996) Cladocera, nematodes and trocophara larva. In: Lavens, P. and Sorgelos, P. (eds.) *Manual on the production and use of food*. FAO Fisheries Technical. pp. 283-395.
- DJARIJAH, A.S. (1995) *Pakan ikan alami*. Yogyakarta: Kanisius.
- EBERT, D. (2005) *Ecology, epidemiology, and evolution of parasitism in Daphnia*. Switzerland: University of Basel.

- FOWLER, J., COHEN, L. and JARVIS, P. (1998) *Practical statistics for field biology*. 2nd ed. New York: John Wiley and Sons.
- GARNO, Y.S. (2000) Daya tahan beberapa organisme air pada pencemar limbah deterjen. *Jurnal Teknologi Lingkungan*, pp. 212-218.
- HERMAWATI, A.W.S., KUSDARWATI, R., SIGIT, S. and MURBARAK. (2009) Pengaruh konsentrasi kadium terhadap perubahan warna dan neonate *Daphnia magna*. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*, 1, pp. 27-40.
- OHJI, M., ARAI, T. and MIYAZAKI, N. (2004) Biological effects of low concentration of tributyltin on the caprellid amphipod *Caprella danilevskii*. *Coastal Marine Science*, pp. 13-26.
- RUMENGAN, I.F.M. (1990) *Studies of growth characteristic and L type rotifers, Brachionus plicatilis*. Dissertation. Japan: Nagasaki University.
- RUMENGAN, I.F.M. and OHJI, M. (2009) Plankton, Chapter 15. In: ARAI *et al.* (eds.). *Ecotoxicology of antifouling biocides*. Springer. pp. 253-270
- RUMENGAN, I.F.M. and OHJI, M. (2012) Ecotoxicological risk of organotin compounds on zooplankton community. *Costal Marine Science*, pp. 129 -135.
- SMITH, A. and MUDDER, T. (1991) *The chemistry and treatment of cyanidation wastes*. London: Mining Journal Books Ltd.
- SOETOPPO, R.S., ADITYA, K. and INDRASARI, I. P. (2007) Tingkat Toksisitas Pentaklorofenol Terhadap Organisme Air Tawar. *Berita Selulosa*, 42.

*Diterima: 24 Agustus 2012
Disetujui: 15 September 2012*