

## PENGUJIAN TINGKAT TOKSISITAS KOMPLEK TEMBAGA ORTHONITROSOFENOL TERHADAP IKAN MAS (*C. carpio* L.) MAJALAYA

Admin Alif, Zulkarnain Chaidir dan Helmi Rusydi  
Jurusan Kimia FMIPA Universitas Andalas, Padang 25163

(Diterima, 1 Januari 1997, Disetujui 30 Januari 1997)

### INTISARI

Pengujian tingkat toksisitas kompleks tembaga orthonitrososofenol telah dilakukan terhadap ikan mas (*C. carpio* L.) Majalaya dengan metoda Bioassay statis, yang terdiri atas tiga tahap; yaitu tahap aklimatisasi, tahap uji pendahuluan dan tahap uji penentuan. Ikan mas Majalaya yang digunakan berukuran 5 - 7 cm dengan umur rata-rata 4 - 6 minggu.

Dari hasil penelitian didapatkan bahwa konsentrasi kritis ambang bawah dan konsentrasi kritis ambang atas dari kompleks tembaga orthonitrososofenol terhadap ikan mas Majalaya ini adalah  $1,5 \times 10^{-6}$  M dan  $5,0 \times 10^{-6}$  M dengan nilai  $LC_{50}$  24 jam  $2,8741 \times 10^{-6}$  M (0,88 ppm) dan  $LC_{50}$  48 jam  $2,874 \times 10^{-6}$  M (0,79 ppm).

### ABSTRACT

The toxicity of orthonitrosophenol-copper complex of gold fish (*C. carpio* L.) Majalaya has been examined by three step statically bioassay methode, acimatization, preliminary and determination assay. The size of the fish that were use 5-7 cm and 4-6 weeks old.

It was found that the lowest and highest ambient critycal concentration of complex orthonitrosophenol-copper were  $1.5 \times 10^{-6}$  M and  $5.0 \times 10^{-6}$  M respectively with  $LC_{50}$  24 hr  $2.8741 \times 10^{-6}$  M (0.88 ppm) and  $LC_{50}$  48 hr  $2.874 \times 10^{-6}$  M (0.79 ppm).

## PENDAHULUAN

Pencemaran dapat timbul dari berbagai ragam sumber dan akan terus bertambah dengan pertumbuhan produksi barang, pelayanan dan populasi. Pencemaran dapat mempengaruhi lingkungan secara lokal, wilayah, dan bahkan dalam beberapa kasus dapat mempengaruhi ekosfir.

Polutan tidak hanya berpengaruh terhadap spesies-spesies yang ada dalam perairan, tetapi juga pada manusia. Salah satu polutan yang kerap mencemari perairan adalah pestisida. Dampak lingkungan penggunaan pestisida berkaitan dengan sifat mendasar yang berhubungan dengan keefektifannya sebagai pestisida. Pertama; bahan tersebut cukup beracun untuk mempengaruhi seluruh kelompok taksonomi biota, termasuk makhluk bukan sasaran sampai batas tertentu, bergantung pada faktor fisiologis dan ekologis. Kedua; banyak pestisida perlu tahan terhadap degradasi lingkungan sehingga mereka dapat tahan dalam daerah yang diberi perlakuan dan dengan demikian keefektifannya dapat diperkuat. Sifat-sifat ini juga memberikan pengaruh jangka panjang dalam ekosistem alamiah.

Senyawa-senyawa nitrofenol atau senyawa-senyawa nitroaromatik banyak digunakan sebagai bahan dasar pembuatan pestisida seperti 4,6 dinitro ortokresol dan 2 sekunder butil 4,6 dinitrofenol.

Dismaping melalui reaksi-reaksi termal, senyawa-senyawa nitrofenol yang bersifat fitotoksik ini juga dapat terbentuk melalui reaksi fotokimia di lapisan troposfir (Rippen, 1987).

Senyawa-senyawa nitrofenol juga telah ditemukan dalam air hujan (Nojima *et. al* 1976, Larsen *et. al* 1991). Sebagai contoh di Uregon USA, senyawa ortonitrofenol ditemukan di udara dan dalam air hujan dengan konsentrasi masing-masing 0,42 nM dan 0,024 mg/m<sup>3</sup> (Cruetzwa, 1988).

Senyawa-senyawa alkilfenol dan alkilfenol tersubstitusi juga telah teridentifikasi dalam udara di perkotaan dan dalam alat pembuangan gas mesin-mesin bakar (motor) (Schuetzle *et. al.*, 1975; Kuwata, *et. al.*, 1980).

Nitrasi senyawa benzen dan benzen tersubstitusi umumnya lebih mudah menghasilkan paranitrosifenol dari pada ortonitrosifenol. Namun dengan adanya ion-ion logam tertentu maka pembentukan ortonitrosifenol akan lebih dominan.

K. Murayama dan I. Tanimoto sudah berhasil meneliti ulang reaksi Baudisch dalam mensintesa ortonitrosifenol sebagai hasil utama yaitu dengan mereaksikan benzen atau benzen tersubstitusi dengan hidroksil amin hidroklorida dan hidrogen peroksida dengan adanya ion-ion tembaga II.



Diduga ion  $Cu(II)$  memegang peranan penting untuk mencegah oksidasi lebih lanjut dari orthonitrosufenol dan penataan ulang kebentuk para.

Orthonitrosufenol mempunyai harga  $pK_a = 5,7$  (terjadi keseimbangan antara o-nitrosufenol dalam bentuk molekuler dengan bentuk anioniknya). Dalam bentuk molekuler mempunyai serapan maksimum pada panjang gelombang 307 nm dan 392 nm, sedangkan dalam bentuk anionik serapan maksimumnya terjadi pada panjang gelombang 325 nm dan 466 nm.

Disamping melalui reaksi-reaksi termal, senyawa-senyawa nitroso juga bisa terbentuk melalui reaksi fotokimia. Dari hasil penelitian Alif, *et al.* (1987) ternyata fototransformasi senyawa p-nitrofenol dapat menghasilkan p-nitrosufenol, begitu juga fototransformasi senyawa o-nitrofenol dapat menghasilkan o-nitrosufenol.

Senyawa nitroso dalam kadar rendah apabila sudah menumpuk dalam jaringan dapat mengakibatkan kanker pada manusia seperti kanker tenggorokan, kanker lambung, kanker paru-paru, kanker kandung kemih, dan lain-lain.

Orthonitrosufenol adalah senyawa yang mudah menguap, dapat membentuk kompleks yang stabil dengan tembaga II, yang berwarna merah pekat dalam larutan air. Neni Suryani (1994) telah meneliti kestabilan kompleks tembaga ini dalam pelarut air pada berbagai pH dimana pada pH kecil dari 3 kompleks akan berada dalam bentuk o-nitrosufenol molekuler dalam arti kompleks akan pecah begitupun sebaliknya pada pH besar dari 10 akan berada dalam bentuk anionik.

Selain dari itu belum banyak informasi tentang sifat-sifat atau karakteristik dari kompleks tembaga orthonitrosufenol ini. Oleh sebab itu dalam penelitian ini akan dipelajari tentang sifat toksisitas dari kompleks tersebut melalui metoda bioassay terutama terhadap hewan air yaitu ikan.

Prinsip bioassay adalah membandingkan respon hewan uji yang diperlakukan dengan sampel dengan sejumlah hewan uji yang diperlakukan dengan sederetan standar (kontrol) di bawah kondisi percobaan yang sama.

Dalam bioassay, kematian hewan uji dihubungkan dengan responnya terhadap toksikan yang diberikan. Namun harus diperhatikan faktor-faktor yang mempengaruhi aktifitas dan fisiologi hewan uji, karena akan dapat mempengaruhi hasil bioassay.

## METODOLOGI

Penelitian ini dilakukan melalui dua tahapan utama yaitu tahap penyediaan larutan contoh dari kompleks tembaga ortonitrosifenol dan tahap bioassay (pengujian tingkat toksisitas). Kompleks tembaga ortonitrosifenol disintesis di laboratorium berdasarkan metoda K. Murayama dan I. Tanimoto. Kemurnian dari kompleks tersebut dibandingkan dengan standar. Pengujian tingkat toksisitas dilakukan melalui tiga tahap yaitu tahap aklimasi, tahap uji pendahuluan dan tahap uji penentuan. Hewan uji yang digunakan adalah ikan mas (*C. carpio* L.) Majalaya.

Uji pendahuluan bertujuan untuk menentukan konsentrasi kritis ambang atas; yaitu konsentrasi terkecil hewan uji dapat mati 90 - 100% selama 24 jam waktu uji, dan konsentrasi kritis ambang bawah; konsentrasi terbesar ikan dapat hidup 90 - 100% selama 48 jam.

Fariasi konsentrasi yang digunakan pada uji penentuan adalah konsentrasi yang dibuat berdasarkan pada konsentrasi kritis ambang bawah dan konsentrasi kritis ambang atas yang didapat pada uji pendahuluan. Konsentrasi yang digunakan adalah konsentrasi berdasarkan perhitungan menurut rumus :

$$F = r \sqrt{I}$$

dimana :

F = faktor pertambahan

I = Perbandingan konsentrasi tertinggi (ambangatas) dengan konsentrasi terendah (ambang bawah).

r = jumlah fariasi konsentrasi

Selama pengujian, ikan yang mati dikeluarkan dari akuarium dan untuk menambah ketersediaan oksigen digunakan aerator.

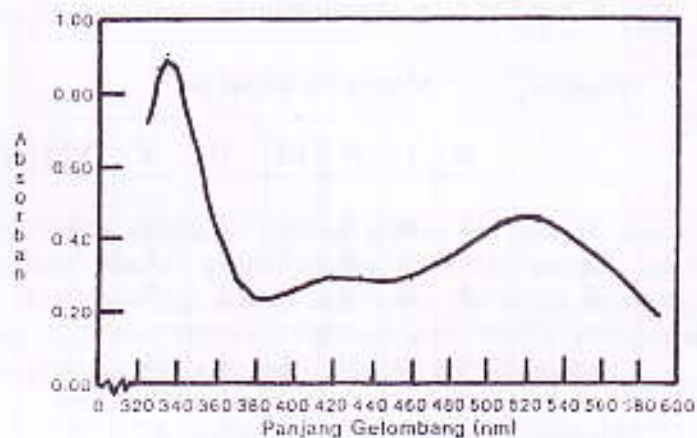
Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan enam perlakuan dan tiga kali pengulangan.

Untuk melihat masing-masing perlakuan, dilakukan uji fariansi (V), yaitu dengan membandingkan nilai fariansi hitung dengan nilai fariansi Tabel pada tingkat kepercayaan 95% dan 99%; dimana apabila nilai F hitung lebih kecil dari nilai F Tabel, berarti pemberian zat toksik tidak berpengaruh, dan sebaliknya jika harga F hitung lebih besar dari F Tabel, berarti pemberian zat toksik memberikan pengaruh yang nyata terhadap hewan uji. Untuk melihat perlakuan mana yang memberikan pengaruh nyata terhadap hewan uji, dilakukan uji lanjut Duncan's New Multiple Range Test (DNMRT).

## HASIL DAN DISKUSI

### Pengujian Spektra Komplek Tembaga Ortonitrosifenol

Spektra serapan kompleks tembaga o-nitrosifenol diukur dengan spektrofotometer (spektronic 20 D) dengan variasi panjang gelombang dan didapatkan spektrum dengan puncak-puncak serapan pada panjang gelombang 335 nm, 425 nm dan 520 nm. Puncak-puncak serapan yang didapatkan ini tidak jauh berbeda dengan yang pernah dilaporkan oleh Murayama Kazuhiro (1967) dan Alif A (1993) yaitu 339, 420 dan 520 nm. Spektrumnya dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Spektrum serapan kompleks tembaga o-nitrosifenol hasil percobaan.

## Tingkat Toksisitas Komplek Tembaga O-nitrosfenol

### Uji Pendahuluan

Konsentrasi larutan kompleks tembaga yang digunakan untuk uji pendahuluan adalah:  $1,0 \times 10^{-6}$ ;  $1,5 \times 10^{-6}$ ;  $2,0 \times 10^{-6}$ ;  $4,5 \times 10^{-6}$ ;  $5,0 \times 10^{-6}$ ;  $5,5 \times 10^{-6}$ , dengan waktu uji 24 jam dan 48 jam. Hasil uji pendahuluan ini dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1. Kematian ikan mas Majalaya pada uji pendahuluan**

Waktu uji (jam)	Ulangan	Kematian ikan uji						
		Macam Perlakuan (a)						
		K	I	II	III	IV	V	VI
24	1	0	0	0	0	2	5	5
	2	0	0	0	3	4	4	5
	3	0	0	0	1	2	5	5
	total	0	0	0	4	8	14	15
	% mati	0	0	0	26,7	53,3	93,3	100
	% hidup	100	100	100	73,3	46,7	6,7	0
48	1	0	0	0	2	4	5	5
	2	0	0	0	3	4	4	5
	3	0	0	0	1	3	5	5
	total	0	0	0	6	11	14	15
	% mati	0	0	0	40	73,3	93,3	100
	% hidup	100	100	100	60	26,7	6,7	0

Keterangan: K = Kontrol; I =  $1,0 \times 10^{-6}$  M; II =  $1,5 \times 10^{-6}$  M; III =  $2,0 \times 10^{-6}$  M; IV =  $4,5 \times 10^{-6}$  M; V =  $5,0 \times 10^{-6}$  M; VI =  $5,5 \times 10^{-6}$  M (a) = dalam setiap perlakuan terdapat 5 ekor ikan (hewan uji).

Dari hasil uji pendahuluan terlihat bahwa konsentrasi kritis ambang bawah  $1,5 \times 10^{-6}$  M, dan konsentrasi kritis ambang atas  $5,0 \times 10^{-6}$  M.

### Uji Penentuan

Konsentrasi kompleks tembaga yang digunakan untuk uji penentuan adalah:  $1,5 \times 10^{-6}$ ;  $2,0268 \times 10^{-6}$ ;  $2,7386 \times 10^{-6}$ ;  $3,7004 \times 10^{-6}$ ;  $5,0 \times 10^{-6}$  M. Hasil uji penentuan ini dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kematian ikan mas Majalaya pada uji penentuan

Waktu Uji (jam)	Ulangan	Kematian ikan uji					
		Konsentrasi uji					
		K	I	II	III	IV	V
4	1	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-
	total	0	0	0	0	0	0
	% mati	0	0	0	0	0	0
	% hidup	100	100	100	100	100	100
8	1	-	-	-	-	-	1
	2	-	-	-	-	-	0
	3	-	-	-	-	1	0
	total	0	0	0	0	1	1
	% mati	0	0	0	0	6,7	6,7
	% hidup	100	100	100	100	93,3	93,3
24	1	0	0	1	2	3	5
	2	0	0	1	2	3	5
	3	0	0	0	4	5	5
	total	0	0	2	8	11	15
	% mati	0	0	13,3	53,3	73,3	100
	% hidup	100	100	86,7	46,7	26,7	0
48	1	0	0	1	2	3	5
	2	0	0	2	3	4	5
	3	0	0	1	5	5	5
	total	0	0	4	10	12	15
	% mati	0	0	26,7	66,7	80	100
	% hidup	100	100	83,3	33,3	20	0

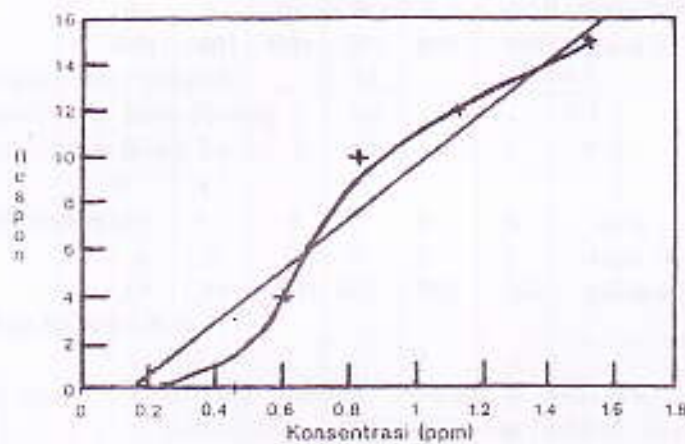
Keterangan: K = Kontrol; I =  $1,5 \times 10^{-6}$  M; II =  $2,0268 \times 10^{-6}$  M; III =  $2,7386 \times 10^{-6}$  M; IV =  $3,7004 \times 10^{-6}$  M; V =  $5,0 \times 10^{-6}$  M.

Dari hasil percobaan terlihat adanya kecenderungan bahwa semakin meningkat konsentrasi kompleks tembaga o-nitrosifenol makin meningkat pula persentase kematian ikan uji.

Berdasarkan data yang diperoleh didapat nilai Letal konsentrasi 50% 24 jam dan 48 jam masing-masing  $2,8741 \times 10^{-6}$  M (0,8845 ppm) dan  $2,5527 \times 10^{-6}$  M (0,7856 ppm). Nilai ini dihitung berdasarkan metoda yang ada dalam Farmakope Indonesia Edisi III.

#### Respon Toksisitas Pada Ikan

Respon hewan uji dalam hal ini ikan mas Majalaya terhadap kompleks tembaga ortonitrosifenol dapat dilihat pada kurva di bawah ini (Gambar 2). Terlihat tingkat subletal berada pada daerah  $< 0,4616$  ppm. Jadi kematian hewan uji baru terjadi pada konsentrasi  $> 0,4616$  ppm.



Gambar 2. Respon hewan uji terhadap kompleks tembaga ortonitrosifenol.

Dari analisa sidik ragam pengaruh kompleks tembaga ortonitrosifenol terhadap ikan mas Majalaya ukuran 5 - 7 cm diperoleh nilai F hitung  $>$  F Tabel, berarti  $H_0$  ditolak. Dengan kata lain pemberian kompleks tembaga ortonitrosifenol memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap kelangsungan hidup ikan mas Majalaya.

Untuk melihat perlakuan mana yang memberikan pengaruh yang sangat nyata, maka dilakukan uji lanjut Duncan's. Pada hasil uji lanjut (Tabel 3) terlihat perlakuan II berpengaruh tidak nyata terhadap kontrol, sedangkan perlakuan III, IV dan V berpengaruh sangat nyata. Terhadap perlakuan I dapat dilihat bahwa perlakuan II berpengaruh tidak nyata, sedangkan



perlakuan III, IV, dan V berpengaruh sangat nyata terhadap perlakuan I. Selanjutnya perlakuan III berpengaruh nyata terhadap perlakuan II sedangkan perlakuan IV dan V berpengaruh sangat nyata. Perlakuan IV berpengaruh tidak nyata, sedangkan perlakuan V berpengaruh nyata terhadap perlakuan III. Sedangkan perlakuan V berpengaruh tidak nyata terhadap perlakuan IV.

Tabel 3 Hasil uji lanjut Duncan's

Kematian rata-rata	K 0	I 0	II 1,33	III 3,33	IV 4	V 5
K 0	-	-	-	-	-	-
I 0	-	-	-	-	-	-
II 1,33	1,33*	1,33*	-	-	-	-
III 3,33	3,33**	3,33**	2,0*	-	-	-
IV 4	4***	4***	2,67**	0,67*	-	-
V 5	5***	5***	3,67***	1,67*	1,0*	-

Keterangan: \* = tidak berpengaruh nyata  
 \*\* = berpengaruh nyata  
 \*\*\* = berpengaruh sangat nyata

## KESIMPULAN

1. Batas kritis ambang atas dan batas kritis ambang bawah kompleks tembaga o-nitrosobenzenol terhadap ikan mas Majalaya adalah  $5,0 \times 10^{-6}$  M dan  $1,5 \times 10^{-6}$  M.
2. Nilai LC50 24 jam dan 48 jam kompleks tembaga ortonitrosobenzenol adalah  $2,8741 \times 10^{-6}$  dan  $2,5527 \times 10^{-6}$  M (0,8845 dan 0,7856 ppm).

## DAFTAR PUSTAKA

- Alif, A., P. Boule, and J. Lemaire, 1989. Phototransformation of 3-nitrofenol in aqueous Solution, *J. of Photochem and Photobiology*, 332 - 341.
- Alif, A., dan J. Mustafa, 1991. *Penentuan Karakteristik Spektroskopi Senyawa o-nitrosophenol*, Padang, Pusat Penelitian Universitas Andalas, , 99-104.
- Depkes RI, 1979, *Farmakope Indonesia*, Edisi III, hal 910.
- Larson, R.A., and E.J. Weber, 1994, *Reaction Mechanisms in Environmental Organic Chemistry*, London, Lewis Publishers, pp. 31
- Murayama, K., I. Tanimoto and R. Goto, 1967. The Synthesis of orthonitrosophenols, *J. Organic Chem.*, 32, 2516 - 2520.