

Pengaruh Toksisitas Timbal Asetat Pb(CH₃COO) Dan Kepadatan Terhadap Perubahan Warna Dan Persentase Anakan Jantan Kutu Air *Daphnia* sp.

Ariestyanto Eka Putera¹, Andi Rahmad Rahim², Firma Fika Rahmawati²

¹Mahasiswa Prodi Budidaya Perikanan, Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Gresik

²Dosen Prodi Budidaya Perikanan, Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Gresik

Email: ariestyantoputra@gmail.com, Phone +6285645359982

ABSTRACT

Pb (CH₃COO) was a metal that could accumulated in organisms tissue. Pb contents in organisms tissue increased by increasing of Pb (CH₃COO) concentration in the water and the duration organisms that live in water pollution by Pb (CH₃COO). It is caused organisms did not regulated by Pb (CH₃COO) one that turns in at organisms body. *Daphnia* sp. are sensitive to the chemical in the waters ecology and has an important role in the ecology of freshwater as the first of trophic level in the waters ecology. The objective of this study was to obtain information about effect the concentration of heavy metals Pb (CH₃COO) in differences densities of *Daphnia* sp. to color changes and percentage of male larvae *Daphnia* sp. This research design uses factorial complete randoms design. The main parameter in this research is color changing and male larvae on the *Daphnia* sp. While supporting parameters in this research is water quality (temperature, pH, ammonia and DO). The result of research indicates that the heavy metal Pb (CH₃COO) with different concentration to the adult female *Daphnia* sp. showed significantly difference (p<0,05) of the *Daphnia* sp. color change, the highest density of *Daphnia* sp. (400 *Daphnias*) with heavy metal concentration 3.16 mg/l.

Keywords : *Daphnia* sp., Pb(CH₃COO), colour.

PENDAHULUAN

Kandungan Pb dalam perairan semakin tinggi, terutama dapat berasal dari *tailing* (limbah tambang) (Herman, 2006). Selain itu, limbah Pb banyak dihasilkan dari pembuatan baterai, aki, bahan peledak, pestisida, cat dan pelapisan logam serta berbagai kebutuhan sehari-hari. Salah satu diantaranya timbal acetat PbCH₃COO. Pb(CH₃COO) sangat beracun dan berakumulasi dalam jaringan organisme air. Kandungan Pb dalam perairan semakin tinggi, terutama dapat berasal dari *tailing* (limbah tambang) (Herman, 2006). Selain itu, limbah Pb banyak dihasilkan dari pembuatan baterai, aki, bahan peledak, pestisida, cat dan pelapisan logam serta berbagai kebutuhan sehari-hari. Salah satu diantaranya timbal acetat PbCH₃COO. Pb(CH₃COO) sangat beracun dan berakumulasi dalam jaringan organisme air.

Daphnia sp. merupakan salah satu invertebrata yang dapat dikembangkan sebagai bioindikator (Dekken, 2005). *Daphnia* sp. dipilih karena memiliki daur hidup yang cepat. Selain itu, *Daphnia* sp. bersifat sensitif terhadap logam berat yang dibuang ke perairan dan memiliki peran penting dalam ekologi air tawar yaitu sebagai tingkat pertama *trophic level* (Parks and Leblanc, 1996). Kondisi populasi *Daphnia* sp. di perairan yang beragam menyebabkan respon Pb(CH₃COO) yang berbeda terhadap *Daphnia* sp., sehingga perlu diketahui respon konsentrasi oksigen dan Pb(CH₃COO) terhadap *Daphnia* sp. untuk menguji efektifitas *Daphnia* sp. sebagai kandidat *bioindikator* pencemaran.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan April sampai Mei 2016 di Hatchery pembenihan udang milik bapak Fansuri Jenu, Tuban.

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan untuk penelitian adalah timbangan, aerator, selang, *object glass*, *cover glass*, wadah perlakuan, mikroskop, pipet, bak plastik, saringan, termometer, amoniak *test kit*, DO meter, dan pH *pen*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian terdiri dari *Daphnia* sp., air PDAM, timbal acetat Pb(CH₃COO), akuades dan dedak padi.

Prosedur kerja

Persiapan alat

Persiapan yang dilakukan sebelum penelitian adalah persiapan peralatan. Peralatan yang akan digunakan dicuci bersih dan dibilas dengan air tawar. Peralatan yang sudah bersih dikeringkan selama 24 jam.

Kultur *Daphnia* sp.

Mengkultur *Daphnia* sp. melalui teknik *daily feeding* menggunakan rendaman dedak padi. Pada hari ke-3 dilakukan pemanenan anakan *Daphnia* sp. Penentuan konsentrasi LC₅₀ Pb terhadap kepadatan anakan *Daphnia* sp. yang berbeda. Anakan *Daphnia* sp. diberi 3 perlakuan dengan konsentrasi Pb(CH₃COO) yang berbeda pada setiap perlakuan. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Setiap perlakuan dan ulangan dilakukan terhadap 50 ekor, 200 ekor dan 400ekor anakan *Daphnia* sp. dengan kepadatan yang berbeda tersebut dipelihara dalam wadah tertutup dengan lubang kecil pada tutupnya. Selanjutnya, dilakukan pengukuran konsentrasi oksigen terlarut pada jam ke-6 untuk mengkondisikan oksigen terlarut pada *Daphnia* sp.

Pemaparan Pb(CH₃COO)

Pemaparan Pb(CH₃COO) dilakukan pada setiap perlakuan dengan konsentrasi yang berbeda. Konsentrasi Pb yang digunakan diambil berdasarkan data penelitian sebelumnya yang menyebutkan bahwa LC₅₀ 48 jam dari Pb terhadap *Daphnia* sp. adalah 3,166 mg/l (Chang, 2005). Konsentrasi Pb(CH₃COO) yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 1,05 mg/l, 2,1 mg/l, dan 3,16 mg/l.

Pengamatan Skor Warna *Daphnia* sp.

pengamatan skor warna *Daphnia* sp. dilakukan setelah 16 jam, hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa kondisi tersebut mempengaruhi konsentrasi oksigen terlarut yang relatif stabil dan terjadi perubahan warna *Daphnia* sp. (Ayu, 2009). Pada penelitian ini dilakukan pengamatan anakan jantan *Daphnia* sp. dilakukan pada hari ke-3 sebab daur hidup *Daphnia* sp. dari anakan hingga dewasa kelamin memerlukan waktu 3-4 hari (Clare, 2002).

Parameter Penelitian

Parameter utama pada penelitian ini adalah perubahan warna dan anakan jantan *Daphnia* sp. Sedangkan parameter pendukung penelitian ini adalah kualitas air (suhu, pH, amoniak dan oksigen terlarut).

Analisis Data

Data penelitian perubahan warna *Daphnia* sp. dianalisis secara statistik dengan uji *Kruskal-Wallis* (Schlefer, 2006), sedangkan data hasil pengamatan anakan jantan *Daphnia*

sp. akan dianalisis secara statistik dengan menggunakan ANOVA (*Analisis of Variance*). Uji lanjutan yang digunakan adalah Uji Jarak Berganda Duncan (*Duncan' Multiple Range Test*) (Kusriningrum, 2008).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Skoring warna *Daphnia* sp. dapat diamati setelah 16 jam dengan menggunakan indikator pada kertas pH yang memiliki 5 nilai warna (skor 1-5) dengan metode skoring warna menurut Deken (2005). Hasil rata-rata skoring perubahan warna *Daphnia* sp. dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata skoring perubahan warna tubuh *Daphnia* sp.


Perlakuan		Kepadatan <i>Daphnia</i> sp. (ekor)			
		A0	A1	A2	A3
Konsentrasi	B0	1,13 ^e	1,23 ^{cde}	1,33 ^{cde}	1,83 ^a
logam berat	B1	1,03 ^e	1,2 ^{de}	1,27 ^{cde}	1,5 ^{abc}
Pb (CH ₃ COO)	B2	1,27 ^{cde}	1,33 ^{bcde}	1,47 ^{abcd}	1,63 ^{ab}
(mg/l)	B3	1,17 ^e	1,3 ^{cde}	1,57 ^{abc}	1,9 ^a

Berdasarkan Tabel 1 menunjukkan bahwa skoring warna tertinggi diperoleh pada kepadatan *Daphnia* sp. 400 ekor (A3) dengan konsentrasi logam berat 3,16 mg/l (B3) sebesar 1,9 dan skoring warna terendah diperoleh pada kepadatan *Daphnia* sp. 50 ekor (A0) dengan konsentrasi 1,05 mg/l (B1) sebesar 1,03 mg/l. Hal ini dikarenakan kepadatan dan logam berat dapat mempengaruhi skoring warna *Daphnia* sp.. Hasil uji *Kruskal – Wallis* terhadap data perubahan warna *Daphnia* sp. menunjukkan bahwa perlakuan A3B3 dan A3B0 tidak berbeda nyata dengan A2B2, A2B3, A3B1, dan A3B2, tetapi berbeda nyata dengan perlakuan A0B0, A0B1, A0B2, A0B3, A1B1, A1B2, A1B3, A2B0 dan A2B1. Hasil ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh interaksi antara kepadatan dan pemaparan logam berat Pb (CH₃COO) terhadap perubahan warna *Daphnia* sp.. Hasil pengamatan persentase anakan jantan dari anakan *Daphnia* sp. yang terpapar Pb (CH₃COO) dengan konsentrasi berbeda ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata persentase anakan jantan *Daphnia* sp. dari induk *Daphnia* sp. yang terpapar Pb (CH₃COO) dengan konsentrasi berbeda

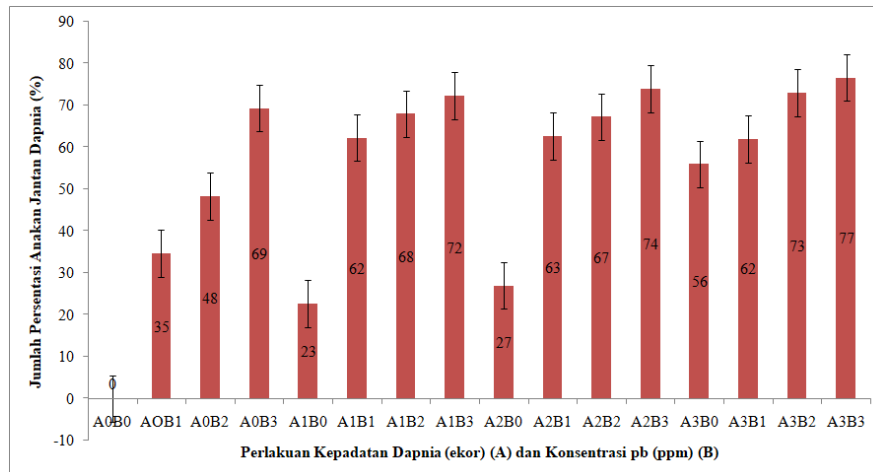
Perlakuan	Kepadatan <i>Daphnia</i> sp.				Rata-rata	
	A0	A1	A2	A3		
Konsentrasi logam berat Pb (CH ₃ COO)	B0	0 ^g	22,67 ^f	27 ^f	56 ^f	26,42 ^a
	B1	34,67 ^e	62,33 ^{de}	62,67 ^{de}	62 ^{cd}	55,42 ^b
	B2	48,33 ^{bcd}	68 ^{abcd}	67,33 ^{abcd}	73 ^{abc}	64,16 ^c
	B3	69,33 ^{abc}	72,33 ^{abc}	74 ^{ab}	76,67 ^a	73,08 ^d
Rata-rata		38,08 ^a	56,33 ^b	57,75 ^{bc}	66,92 ^c	

Keterangan : a, b, c, d, e, f dan g superskrip pada kolom menunjukkan perbedaan yang nyata antar perlakuan (p<0,05)

 : perlakuan yang mengalami hypoxia

Jumlah anakan jantan *Daphnia* sp. tertinggi diperoleh pada kepadatan 400 ekor (A3) dengan konsentrasi logam berat 3,16 mg/l (B3) sebesar 76,67 dan jumlah anakan jantan *Daphnia*

sp. terendah diperoleh pada kepadatan 50 ekor (A0) dengan konsentrasi logam berat 0 mg/l (B0) sebesar 0. Diagram persentase anakan jantan *Daphnia* sp. dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Diagram persentase anakan jantan *Daphnia* sp.

Hasil penghitungan persentase anakan jantan *Daphnia* sp. dengan menggunakan uji Analisis of Variance (ANOVA) menunjukkan bahwa terdapat pengaruh interaksi antara kepadatan *Daphnia* sp. dengan konsentrasi logam berat Pb (CH_3COO). Jumlah anakan jantan *Daphnia* sp. dipengaruhi oleh kepadatan yang berbeda dan konsentrasi logam berat. Semakin tinggi konsentrasi logam berat maka jumlah anakan jantan yang dihasilkan juga akan semakin meningkat.

Hasil uji lanjutan menggunakan uji jarak berganda Duncan menunjukkan taraf perbedaan yang nyata antara setiap perlakuan ($p < 0,05$). Kepadatan *Daphnia* sp. 50 ekor (A0) berbeda nyata dengan 100 ekor (A1), 200 ekor (A2) dan 400 ekor (A3) tetapi 100 ekor (A1) tidak berbeda nyata dengan 200 ekor (A2). Sedangkan masing-masing konsentrasi logam berat Pb (CH_3COO) berbeda nyata yaitu konsentrasi 0 mg/l (B0) berbeda nyata dengan 1,05 mg/l (B1), 2,1 mg/l (B2) dan 3,16 mg/l (B3). Hal ini sependapat dengan penelitian (Panna, 2009) yang menyatakan bahwa peningkatan konsentrasi logam berat Pb yang dipaparkan pada *Daphnia* sp. dewasa kelamin berbanding lurus dengan peningkatan persentase anakan jantan *Daphnia* sp. yang dihasilkan pada kelarutan oksigen tinggi. Pengukuran kualitas air dilakukan untuk memastikan bahwa kondisi kualitas air untuk media perlakuan *Daphnia* sp. berada dalam kondisi optimal untuk mendukung kehidupan *Daphnia* sp. Parameter kualitas air yang diukur selama penelitian ini yaitu pH (derajat keasaman), suhu, NH_3 (*ammoniak*), dan DO (oksigen terlarut). Kualitas air diukur tiga kali yaitu pada jam ke - 6, jam ke - 16, dan jam ke 40. Fluktuasi konsentrasi oksigen terlarut (DO) media perlakuan dapat dilihat pada Tabel 3, dimana terjadi penurunan konsentrasi oksigen terlarut dari konsentrasi oksigen terlarut awal (4,5 mg/l) pada jam ke - 6 hingga jam ke - 40 dan dapat diketahui bahwa kondisi hypoxia ($< 2 \text{ mg/l O}_2$) terjadi pada perlakuan A3B0, A3B1, A3B2 dan A3B3. Sedangkan nilai rata-rata kualitas air yang diukur saat penelitian dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 3. Rata – rata konsentrasi oksigen terlarut (mg/l) pada media perlakuan dengan kepadatan *Daphnia* sp. yang berbeda.

Perlakuan	Jam ke 6	Jam ke 16	Jam ke 40
A0b0	4	2,7	2,4
A0b1	4	2,8	2,3
A0b2	4,2	2,9	2,8
A0b3	3,3	2,5	2,4
A1b0	3,1	3,1	2,8
A1b1	3,9	2,8	2,7
A1b2	3,1	2,7	2,7
A1b3	3	2,9	2,7
A2b0	3,1	2,7	2,7
A2b1	2,9	2,8	2,7
A2b2	3,7	2,4	2,2
A2b3	3,4	2,5	2,5
A3b0	1,9	1,6	1,5
A3b1	2,5	1,9	1,9
A3b2	1,9	1,7	1,5
A3b3	1,6	1,5	1,3

Tabel 4. Nilai rata-rata kualitas air pada media perlakuan selama penelitian

Parameter	Nilai	Nilai (Panna, 2009)
pH	7,8 – 9	8,2 - 8,5
Suhu (°C)	23 - 24°C	26 °C
NH ₃ (mg/l)	0,003 -0,75 mg/l	0,03 mg/l
DO (mg/l)	1,1 – 4,2 mg/l	8,0 - 8,5 mg/l

Menurut Ebert (2005) pada kondisi lingkungan yang buruk (kelarutan oksigen yang rendah) *Daphnia* sp. menghasilkan lebih banyak *hemoglobin* (Hb) untuk meningkatkan pengambilan oksigen dari air. Konsentrasi hemoglobin dapat meningkat 20 kali lipat sebagai respon terhadap perubahan kondisi lingkungan berupa perubahan konsentrasi oksigen. Peningkatan konsentrasi hemoglobin dapat mempengaruhi warna tubuh *Daphnia* sp. menjadi berwarna kemerahan. Oksigen merupakan salah satu unsur makronutrient yang sangat penting bagi kelangsungan hidup dan proses fisiologis maupun metabolisme di dalam tubuh organisme hidup (Mukti dkk., 2003). Secara umum, konsentrasi oksigen terlarut dalam air terus-menerus berubah setiap hari akibat adanya konsumsi atau produksi oksigen oleh organisme akuatik, difusi, dan pengaruh musim. Penurunan konsentrasi oksigen terlarut dapat disebabkan oleh beberapa faktor yaitu adanya respirasi organisme akuatik dan dekomposisi bahan organik (*Ministry of Environment of Government of British Columbia, 2009*).

Hasil penelitian ini menunjukkan skoring perubahan warna tertinggi terdapat pada perlakuan A3B3 disebabkan kepadatan *Daphnia* sp. yang tinggi (400 ekor) mengakibatkan konsentrasi oksigen terlarut berkurang sehingga terjadi kondisi *hypoxia* (konsentrasi oksigen terlarut 1,5 mg/l). Sedangkan skoring perubahan warna terendah terdapat pada perlakuan A0B1 disebabkan pada perlakuan ini dengan kepadatan *Daphnia* sp. rendah (50 ekor) tidak mengakibatkan terjadi *hypoxia* (konsentrasi oksigen terlarut 2,8 mg/l). HIF terdiri dari dua sub

unit yaitu sub unit α dan β . Sub unit α terdegradasi pada kondisi normoxia tetapi tetap stabil dan terakumulasi pada sel dalam kondisi *hypoxia* (Semenza, 2001 dalam Rider and LeBlanc, 2006). Adanya peningkatan kepadatan akan menyebabkan terjadinya peningkatan konsumsi oksigen yang selanjutnya dapat menyebabkan kondisi *hypoxia*. Hal ini bisa disebabkan karena kondisi *hypoxia* lebih memacu peningkatan produksi hemoglobin untuk memberikan respon melalui perubahan warna *Daphnia* sp. (Khan and Khan, 2008).

Pada penelitian ini, kondisi *hypoxia* terjadi pada perlakuan A3B0, A3B1, A3B2 dan A3B3 dengan oksigen terlarut (1,6, 1,9, 1,7, dan 1,5) sesuai data yang ada pada Tabel 1. *Hypoxia* mengaktifkan hemoglobin sub unit *hb2* yang terdapat di antara beberapa HRE dan HIF (gen transkripsi) sebagai respon terhadap rendahnya kandungan oksigen terlarut. *hb2* merupakan subunit yang berperan dalam peningkatan hemoglobin mRNA sebagai respon terhadap perubahan lingkungan (Rider *et al.*, 2004). Menurut Ebert (2005), *Daphnia* sp. akan membentuk hemoglobin lebih banyak untuk membantu pendistribusian oksigen dalam tubuhnya sebagai adaptasi terhadap kondisi perairan dengan kandungan oksigen terlarut yang rendah (*hypoxia*).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada perlakuan A0B0 (kontrol) tidak menghasilkan anakan jantan *Daphnia* sp. (100% anakan betina). Sedangkan pada perlakuan A3B3 menghasilkan anakan *Daphnia* sp. paling tinggi yaitu sebanyak 76,67 (23,33% anakan betina) sesuai pada tabel 2. Pada perlakuan tersebut *Daphnia* sp. berada pada kondisi stres akibat kondisi populasi yang terlalu padat dan adanya pemaparan Pb (CH_3COO). Peningkatan konsentrasi logam berat Pb (CH_3COO) yang dipaparkan pada anakan *Daphnia* sp. berbanding lurus dengan peningkatan persentase anakan jantan *Daphnia* sp. yang dihasilkan. Hal ini disebabkan karena konsentrasi Pb (CH_3COO) pada media pemeliharaan *Daphnia* sp. mengakibatkan kondisi stres pada *Daphnia* sp. sehingga memacu *methyl farnesoate* untuk menghasilkan anakan jantan. Semakin tinggi konsentrasi logam berat Pb (CH_3COO) maka semakin banyak *Daphnia* sp. yang terinduksi untuk memproduksi *methyl farnesoate*, sehingga semakin besar pula anakan jantan *Daphnia* sp. yang dihasilkan. Penelitian sebelumnya menjelaskan bahwa peningkatan konsentrasi logam berat Pb sebesar 3,63 mg/l yang dipaparkan pada *Daphnia* sp. dewasa kelamin berbanding lurus dengan peningkatan persentase anakan jantan *Daphnia* sp. yang dihasilkan pada kelarutan oksigen tinggi (Panna, 2009).

Penelitian ini dilakukan pada kondisi optimum untuk mendukung kehidupan *Daphnia* sp. Menurut Pennak (1989), *Daphnia* sp. dapat tumbuh pada lingkungan dengan kisaran pH antara 6,5 – 8,5, suhu 18 – 24 °C. *Daphnia* sp. memiliki toleransi yang sangat baik terhadap kondisi oksigen terlarut rendah, sehingga mampu bertahan hidup pada pada kondisi *hypoxia* yaitu konsentrasi oksigen terlarut dibawah 2 mg/l (Long *et al.*, 2008). Konsentrasi oksigen terlarut optimum yaitu di atas 3,5 mg/l (Mokoginta, 2003). Data kualitas air yang dicatat selama penelitian, menunjukkan bahwa kondisi parameter kualitas air media pemeliharaan seperti pH, amoniak dan kandungan oksigen terlarut (DO) berada dalam kondisi optimal untuk mendukung kehidupan *Daphnia* sp. Dengan demikian, kondisi stres hanya terjadi akibat pemaparan logam berat Pb (CH_3COO).

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan bahwa toksisitas timbal asetat Pb (CH_3COO) pada kepadatan *Daphnia* sp. memberikan pengaruh terhadap skor perubahan warna serta persentase anakan jantan *Daphnia* sp. yaitu pada kepadatan *Daphnia* sp. 400 ekor dengan konsentrasi logam berat 3,16 mg/l. Saran untuk penelitian selanjutnya yaitu perlu adanya penelitian survei mengenai skor warna dan anakan jantan pada populasi *Daphnia* sp. dalam suatu

perairan, sehingga nilai skor warna *Daphnia* sp. yang terjadi pada kondisi *hypoxia* dapat dijadikan dasar untuk deteksi kualitas air pada suatu perairan yang tercemar.

DAFTAR PUSTAKA.

- Clare J. 2002. *Daphnia* sp. An Aquarist's Guide. www.Caudata.org. 26/03/2016. 13 p.
- Deken. A. 2005. Seeing Red : *Daphnia* sp. and Hemoglobin : A Middle School Curriculum Unit Modeling Ecological Interaction and The Significance of Adaptations. Summer Research Fellowship for Science Teachers. Howard Hughes Medical Institute. *Washington University Science Outreach*. 35 p.
- Ebert, D. 2005. *Ecology, Epidemiology, and Evolution of Parasitism in Daphnia sp.*. University of Basel. Switzerland. 9 p.
- Herman, D. Z. 2006. *Tinjauan terhadap tailing mengandung unsur pencemar Arsen (As), Merkuri (Hg), Timbal (Pb), dan Kadmium (Cd) dari sisa pengolahan bijih logam*. Pusat Sumber Daya Geologi. Bandung. Indonesia.
- Khan, M. A. Q. and M. A. Khan. 2008. Effect of Temperature on Waterflea *Daphnia* sp. *magna* (Crustacea : Cladocera). University of Illinois at Chicago. Chicago. 11 p
- Kusriningrum, R. S. 2008. *Perancangan Percobaan*. Airlangga University Press. Surabaya. Hal 5-69.
- LeBlanc, G. A. 2003. Insecticidal Juvenile Hormone Analogs Stimulate The Production of Male Offspring in Crustacean *Daphnia* sp. *magna*. National Institute of Environmental Health Sciences. USA. 10 p.
- Long, W. C., B. J. Brylawski, and R. D. Seitz. 2008. Behavioral effects of low dissolved oxygen on the bivalve *Macoma balthica*. School of Marine Science. Virginia Institute of Marine Science. The College of William and Mary. Virginia. 1p.
- Ministry of Environment of Government of British Columbia. 2009. *Water Quality. Ambient Water Quality Criteria for Dissolved Oxygen* <http://www.env.gov.bc.ca/wat/wq/BCguidelines/do/do-02.htm>. diakses 20/10/15. 10p.
- Mokoginta, I. 2003. *Modul Budidaya Daphnia sp.*. Direktorat Pendidikan Menengah Kejuruan. Direktorat Jenderal Pendidikan Dasar dan Menengah. Departemen Pendidikan Nasional. Jakarta. 44 hal.
- Mukti, A. T., M. Arief, dan W. H. Satyantini. 2003. *Diktat Kuliah Dasar – dasar Akuakultur*. Program Studi S-1 Budidaya Perairan. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya. Hal 47 – 52.
- Panna, A. 2009. Pengaruh Pemaparan Logam Berat Pb (Timbal) Terhadap Perubahan Warna dan Peningkatan Jumlah Anakan Jantan *Daphnia* sp. spp. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Airlangga. Surabaya. Hal 34-36.
- Pennak, R. W. 1953. *Freshwater Invertebrates of United States*. The Ronald Press. New York. 13p.
- Pennak, R. W. 1989. *Freshwater Invertebrates of United States : Protozoa to Mollusca*. Third Edition Wiley & Sons Inc. Singapore. 15 p.
- Rider, C. V., T. A. Gorr., A. W. Olmstead., B. A. Wasilak., G. A. LeBlanc. 2004. Stress Signaling: Coregulation of Hemoglobin and Male Sex Determination Through a Terpenoid Signaling Pathway In a Crustacean. *The Journal of Experimental Biology*. The Company of Biologists. USA. 9 pp.

- Rider, C. V. and G. LeBlanc. 2006. Atrazine Stimulates Hemoglobin Accumulation in *Daphnia* sp.*magna* : is it Hormonal or Hypoxic. Departement of Environmental and Molecular Toxicology. North Carolina State University, Raleigh. North Carolina. 24 p.
- Salmin. 2005. Oksigen Terlarut (DO) dan Kebutuhan Oksigen Biologi (BOD) Sebagai Salah Satu Indikator Untuk Menentukan Kualitas Perairan. <http://www.Oceanografi.lipi.go.id>. diakses tanggal 12/04/16.
- Schramm. 1997. The Oxygen Factor. <http://www.hedley.ca/oxygen2.htm>. diakses tanggal 13/05/16. 5 p.