

Uji Toksisitas Letal Cr⁶⁺ Terhadap Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) (The lethal toxicity test of Cr⁶⁺ on (*Oreochromis niloticus*))

Nanik Mustikaning Tyas^{1*}, Djamar Tumpal Floranthus Lumban Batu², Ridwan Affandi²

(Diterima Januari 2016/Disetujui Agustus 2016)

ABSTRAK

Kromium merupakan sumber pencemar berbahaya karena sifat karsinogenetik yang dimilikinya, tidak dapat dihancurkan oleh organisme hidup dan terakumulasi ke lingkungan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui nilai LC₅₀₋₉₆ jam Cr⁶⁺ terhadap biota uji. Biota uji yang digunakan adalah ikan nila (*Oreochromis niloticus*), dikarenakan biota uji dapat mewakili keadaan lingkungan sebenarnya. Penelitian dibagi menjadi dua tahapan, yaitu uji pendahuluan dan toksisitas letal (LC₅₀₋₉₆ jam), setiap perlakuan diulang tiga kali. Data uji toksisitas letal dianalisis probit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai LC₅₀₋₉₆ jam Cr⁶⁺ terhadap ikan nila adalah 61,2 ppm.

Kata kunci: kromium, LC₅₀₋₉₆ jam, pencemar

ABSTRACT

Chromium is a risk pollutant through their carcinogenic character non degradable by organisms and accumulate into the environment. The aims to find LC_{50-96h} of chromium on test organism. The test organism used are *Oreochromis niloticus*, these organisms may represent the actual condition of the environment. This study was divided into two steps i.e. basic and lethal toxicity (LC_{50-96 h}) tests, being run in triplicates. Lethal toxicity test data were probity analyzed. The result showed that LC_{50-96h} of Cr⁶⁺ on *Oreochromis niloticus* was 61.2 ppm.

Keywords: chromium, LC_{50-96 h}, pollutant

PENDAHULUAN

Kromium merupakan logam yang penggunaannya sangat luas, namun berbahaya bagi lingkungan (Huheey *et al.* 1993), karena bersifat persisten, bioakumulatif, toksik, dan tidak mampu terurai di dalam lingkungan, serta terakumulasi di dalam tubuh manusia melalui rantai makanan. Daya toksisitas logam kromium sangat tergantung pada kestabilan kimianya. Kestabilan kromium berurutan mulai dari tingkat toksisitas terendah, yaitu Cr (0), Cr (III), dan Cr (IV) (Rompas 2010).

Dalam badan perairan Cr dapat masuk melalui dua cara, yaitu secara alamiah dan nonalamiah. Masuknya Cr secara alamiah dapat terjadi disebabkan oleh beberapa faktor fisika, seperti erosi yang terjadi pada batuan mineral dan partikel-partikel Cr yang ada di udara akan dibawa turun oleh air hujan. Masuknya Cr yang terjadi secara nonalamiah lebih merupakan dampak dari aktivitas manusia, seperti limbah atau buangan industri sampai buangan rumah tangga (Palar 2008; Yilmaz *et al.* 2010).

Keberadaan Cr di ekosistem akuatik telah lama diketahui dapat memberikan dampak negatif bagi kehidupan organisme air (Setjaningsih 2010). Salah satu organisme air yang terkena dampak akibat keberadaan Cr adalah ikan nila.

Ikan nila memiliki penyebaran yang luas karena bersifat *euryhaline* (dapat hidup pada kisaran salinitas yang lebar) (Agah *et al.* 2009). Ikan nila mendiami berbagai habitat air tawar, termasuk saluran air yang dangkal, kolam, sungai, dan danau. Selain itu, ikan nila memiliki nilai ekonomi penting dan dapat dipelihara di laboratorium. Oleh sebab itu, ikan nila merupakan organisme yang dapat digunakan untuk uji toksisitas (Muhammad 2002).

Uji toksisitas dengan menggunakan organisme memberikan dampak penting terhadap perkembangan manajemen budi daya perikanan (Le *et al.* 2005). Uji toksisitas dilakukan untuk mengetahui efek letal suatu senyawa toksik. Pengamatan efek letal, yaitu untuk mengetahui kematian biota uji akibat konsentrasi senyawa kimia tertentu yang terkandung dalam suatu limbah, dicatat sebagai *median letal concentration* (LC50) (Al-Attar 2005).

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni–Juli 2015. Penelitian dilakukan di Laboratorium Fisiologi Hewan Air, Laboratorium Produktivitas dan Ling-

¹ Sekolah Pascasarjana, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680.

² Departemen Manajemen Sumber Daya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680.

* Penulis Korespondensi:
E-mail: nanik14_tyas@yahoo.com

kungan Perairan, Departemen Manajemen Sumber Daya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.

Metode dan Rancangan Percobaan

Metode yang digunakan adalah metode eksperimental. Penelitian dibagi menjadi dua tahapan, yaitu uji pendahuluan dan uji toksisitas letal. Penelitian ini menggunakan ikan nila dengan panjang 10–13 cm. Penggunaan $K_2Cr_2O_7$ dilakukan dengan cara mengencerkan $K_2Cr_2O_7$ dengan konsentrasi yang telah ditentukan dengan air sebanyak satu liter, setelah larut campuran $K_2Cr_2O_7$ dimasukkan ke dalam media uji yang akan digunakan dan diaduk hingga merata ke dalam 40 l air, setiap perlakuan diulang tiga kali.

Parameter Penelitian

Pada uji toksisitas letal, parameter utama yang diamati adalah persentase kematian ikan selama 96 jam. Parameter pendukung yang diamati, yaitu suhu, pH, dan oksigen terlarut.

Prosedur Penelitian

Persiapan Media

Pelaksanaan penelitian yang dilaksanakan di laboratorium dimulai dengan menyiapkan akuarium masing-masing berkapasitas 72 l sebanyak 18 buah, kemudian dicuci menggunakan air bersih dan dijemur di bawah sinar matahari, kemudian diisi dengan air sebanyak 40 l sebagai campuran air pengencer dengan konsentrasi $K_2Cr_2O_7$ yang berbeda tiap perlakuan kemudian akuarium dipasang aerator. Ikan nila diaklimatisasi terlebih dahulu selama tujuh hari, sehari sebelum digunakan dan selama penelitian hewan uji dipuaskan. Ukuran hewan uji yang digunakan adalah 10–13 cm dan untuk keseragaman ukuran, hewan uji yang besar tidak boleh lebih dari 1½ kali hewan uji yang kecil (APHA 2010).

Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan ini bertujuan untuk memperkirakan kisaran konsentrasi ambang batas bawah dan atas Cr yang akan digunakan pada uji definitif. Tahap uji ini menggunakan enam perlakuan selama dua hari (48 jam). Uji pendahuluan dilakukan dengan cara menyediakan 18 akuarium, masing-masing diisi 40 l media uji (campuran konsentrasi $K_2Cr_2O_7$ dengan air). Padat penebaran pada masing-masing akuarium adalah 10 ekor hewan uji. Pengamatan mortalitas hewan uji dilakukan pada periode waktu pendedahan 24 dan 48 jam.

Setelah konsentrasi didapatkan, kemudian konsentrasi yang akan digunakan pada uji definitif dicari dengan menggunakan rumus logaritma. Penentuan konsentrasi tersebut adalah dengan menggunakan cara *Quantal Responses* menurut cara Finney (1971) :

$$\text{Log} \left(\frac{N}{n} \right) = k \times \text{log} \left(\frac{a}{b} \right) \quad \frac{a}{b} = \frac{b}{c} = \frac{c}{d} = \frac{d}{x} \dots \dots \dots \frac{N}{x}$$

Keterangan :

- N = Konsentrasi ambang atas
- n = Konsentrasi ambang bawah
- a = Konsentrasi terkecil dalam deret konsentrasi yang digunakan
- b = Konsentrasi ke-b dalam deret konsentrasi yang digunakan
- c = Konsentrasi ke-c dalam deret konsentrasi yang digunakan
- d = Konsentrasi ke-d dalam deret konsentrasi yang digunakan
- x = Konsentrasi ke-x dalam deret konsentrasi yang digunakan
- k = Jumlah interval konsentrasi yang diuji

Uji Toksisitas Letal

Tahap ini dipergunakan untuk menentukan toksisitas Cr. Langkah yang dilakukan adalah sediakan sebanyak 18 akuarium dan 180 ekor hewan uji, dibagi menjadi 6 perlakuan, setiap perlakuan diulang 3 kali, masing-masing perlakuan terdiri dari 10 ekor. Kemudian masing-masing akuarium diberi label. Pengamatan mortalitas hewan uji dilakukan pada periode waktu pemaparan 24, 48, 72, dan 96 jam. Hewan uji yang telah mati pada saat pengamatan, dikeluarkan dari setiap akuarium, dan dicatat. Penentuan nilai LC_{50} dengan menggunakan analisis probit (Conell & Miller 1995).

Analisis probit digunakan pada uji toksisitas suatu bahan kimia, sementara besarnya konversi dalam bentuk logaritma dianggap sebagai bentuk transformasi yang kuat di mana nilai sebarannya relatif valid. Analisis probit umumnya digunakan pada toksikologi untuk menentukan toksisitas relatif dari bahan kimia untuk organisme hidup. Hal ini dilakukan dengan menguji respons organisme di bawah berbagai konsentrasi masing-masing bahan kimia tersebut dan kemudian membandingkan konsentrasi hingga didapatkan hasilnya (Vincent 2008). Pada analisis ini akan diperoleh tabel nilai probit, yaitu d (konsentrasi perlakuan), n (jumlah hewan uji), r (jumlah mortalitas), dan p (persentase mortalitas).

Hubungan nilai logaritma dari konsentrasi bahan uji dengan nilai probit dari persentase mortalitas hewan uji merupakan fungsi linier dari $y = a + bx$ (Rand & Petrocelli 1985; Hendri *et al.* 2010). Secara matematis, perhitungan untuk menentukan nilai LC_{50} -96 jam adalah sebagai berikut:

$$b = \frac{\sum XY - \frac{1}{n} \sum X \sum Y}{\sum X^2 - \frac{1}{n} (\sum X)^2}$$

$$a = \frac{1}{n} (\sum Y - b \sum X)$$

Persamaan regeresinya: $y = a + bx$

$$m = \frac{5 - a}{b} \quad LC_{50} = \text{antilog } m$$

Keterangan:

Y= Nilai probit (tabel finney's) berdasarkan nilai p

X= Log dari nilai d

y = Probit kematian hewan uji

x = Logaritma konsentrasi uji

a = Konsentrasi regresi

b = Slope/kemiringan regresi

m= Logaritma konsentrasi (x)

n = Jumlah perlakuan

Pengambilan dan Pengukuran Parameter Fisik dan Kimia Air

Pengukuran dilakukan pada awal dan akhir penelitian. Parameter kualitas air yang diukur untuk suhu menggunakan metode pemuain, pH dengan metode kolorimetri, dan oksigen terlarut dengan metode DO meter.

Analisis Data

Hasil data uji toksisitas letal dianalisis dengan menggunakan analisis probit untuk menentukan nilai LC_{50} pada periode pemaparan 96 jam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kondisi Kualitas Air Media Uji

Berdasarkan Tabel 1 diketahui bahwa secara umum kualitas air selama penelitian pada masing-masing perlakuan masih dalam batas toleransi atau memenuhi syarat bagi kehidupan ikan. Kandungan oksigen terlarut selama penelitian berkisar 5–6,3 ppm. Menurut Amri dan Khairuman (2003) kandungan oksigen yang baik bagi pertumbuhan ikan nila minimal 4 ppm. Kandungan oksigen yang rendah dapat menyebabkan ikan bernafas dengan cepat, sehingga mengakibatkan gerakan membuka dan menutupnya insang lebih cepat. Hal tersebut dapat menyebabkan masuknya ion logam melalui insang (Kordi 2004).

Suhu selama penelitian masih dalam kisaran normal bagi ikan nila untuk tumbuh, yaitu 25,8–27,3 °C. Ikan nila mempunyai kemampuan tumbuh secara normal pada kisaran suhu 14–38 °C, sedangkan suhu optimum bagi pertumbuhan dan perkembangan ikan nila, yaitu 25–30 °C. Pada suhu 14 °C atau pada suhu tinggi 38 °C pertumbuhan ikan nila akan terganggu. Pada suhu 6 °C atau 42 °C ikan nila akan mengalami kematian (Amri & Khairuman 2003). Suhu dapat memengaruhi keberadaan dan sifat logam berat. Peningkatan suhu perairan cenderung meningkatkan akumulasi dan toksisitas logam berat. Hal ini terjadi karena suhu tinggi akan meningkatkan laju

Tabel 1 Kisaran hasil pengukuran parameter fisik dan kimia pada media uji

Parameter	Nilai kisaran	Baku mutu
Suhu (°C)	25,8–27,3	25–32 (Gusrina 2008)
pH	5,5–6	6–9 (Alamanda <i>et al.</i> 2007)
DO (ppm)	5–6,3	>5 (Effendi 2003)

metabolisme dari organisme perairan (Sorensen 1991).

Namun, untuk pH cenderung lebih asam dari baku mutu yang telah ditentukan untuk kelangsungan hidup ikan, yaitu berkisar antara 6–9. pH yang asam dapat memudahkan reaksi kimia pada logam berat untuk terurai menjadi ion-ion yang selanjutnya akan lebih mudah terserap oleh tubuh (Fardiaz 1992). Menurut Santoso (1996), pH optimum bagi pertumbuhan nila, yaitu antara 7–8.

Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan adalah tahapan yang bertujuan untuk mencari kisaran konsentrasi toksikan kromium secara kasar yang dapat menyebabkan kematian 50% terhadap biota uji dari jumlah populasi biota uji selama 48 jam. Pada tahap ini telah dilakukan dua kali uji pendahuluan, pada uji pendahuluan pertama belum ditemukan kisaran yang menyebabkan 50% populasi dari hewan uji mati. Pada uji pendahuluan pertama, konsentrasi tertinggi, yaitu sebesar 36 ppm belum menyebabkan kematian hewan uji sebesar 50%, sehingga uji pendahuluan yang kedua akan diuji dengan kisaran konsentrasi kromium di atas 36 ppm.

Pada uji pendahuluan kedua didapatkan konsentrasi sebesar 0 ppm sebagai kontrol, 45, 55, 65, 75, dan 85 ppm. Berdasarkan hal tersebut diketahui bahwa pada konsentrasi terendah sebesar 45 ppm dengan kematian hewan uji sebanyak enam ekor, sedangkan pada konsentrasi tertinggi sebesar 85 ppm dengan kematian hewan uji sebanyak 20 ekor. Berdasarkan Tabel 2 maka dapat disimpulkan bahwa nilai konsentrasi Cr^{6+} dengan nilai ambang bawah, yaitu 45 ppm dan nilai ambang atas, yaitu 85 ppm untuk menjadi nilai ambang pada saat uji toksisitas LC_{50-96} jam.

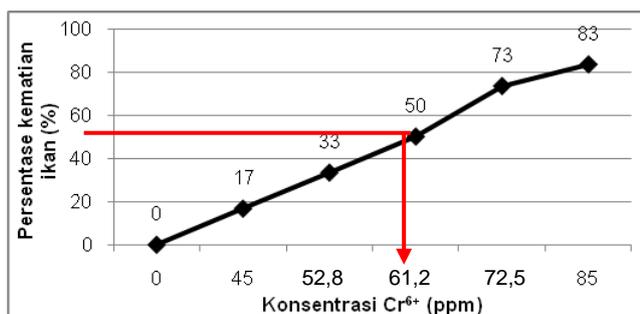
Uji Toksisitas Letal (LC_{50-96} jam)

Uji toksisitas bertujuan untuk mengetahui nilai LC_{50-96} jam. Konsentrasi yang digunakan pada uji toksisitas letal merupakan hasil dari perhitungan logaritma pada uji pendahuluan. Di mana nilai n, yaitu konsentrasi ambang bawah sebesar 45 ppm, N, yaitu konsentrasi ambang atas sebesar 85 ppm. Nilai a, b, c diperoleh 52,8; 61,8; dan 72,5. Sehingga diperoleh konsentrasi untuk uji toksisitas letal 0 (kontrol), 45; 52,8; 61,8; 72,5; dan 85 ppm. Secara umum untuk mengetahui hasil uji toksisitas LC_{50-96} jam, dapat dilihat pada Gambar 1.

Gambar 1 menunjukkan rata-rata persentase kematian ikan nila pada setiap perlakuan, mengalami

Tabel 2 Jumlah mortalitas ikan nila pada uji pendahuluan

Konsentrasi (ppm)	Mortalitas ikan		Jumlah
	24 jam	48 jam	
0	0	0	0
45	1	5	6
55	2	7	9
65	2	11	13
75	0	15	15
85	4	16	20



Gambar 1 Peningkatan konsentrasi Cr⁶⁺ berbanding lurus dengan persentase mortalitas ikan nila dalam waktu pemaparan 96 jam. Nilai LC₅₀-96jam pada Cr⁶⁺ terhadap ikan nila sebesar 61,2 ppm.

peningkatan mulai dari perlakuan kontrol sampai konsentrasi tertinggi, yaitu 85 ppm. Pada perlakuan kontrol, tidak mengalami kematian karena hewan uji tidak terpapar Cr⁶⁺. Kematian ikan nila pada uji toksisitas letal disebabkan oleh masuknya kromium ke dalam jaringan tubuh makhluk hidup melalui beberapa jalan, yaitu pencernaan, penetrasi melalui kulit, dan saluran pernapasan (pengambilan dari air melalui membran insang) (Darmono 2010). Hal ini yang menyebabkan terjadinya penghambatan enzim karbonik anhidrase dan transport ATP-ase terutama pada mitokondria akson parasinaptik dan sedikit pada endoplasmik retikulum. Menurut Tarumingkeng (1992) penghambatan ATP-ase berkaitan dengan Ca⁺⁺ yang menyebabkan peningkatan pelepasan neurotransmitter.

Tingkah laku ikan nila yang akan mati akibat terpapar Cr⁶⁺ selama percobaan ditandai dengan *operculum* terbuka lebar, sering berada di permukaan air, berenang tidak teratur dan selanjutnya mati. Selain itu, permukaan kulit dari ikan nila nampak kemerahan (iritasi) sebagai akibat terpaparnya oleh logam Cr⁶⁺, berbeda halnya pada ikan kontrol yang tidak ditemukan iritasi pada kulit ikan nila. Menurut Shah (2010) ikan yang terpapar toksik dapat diketahui dari tingkah laku ikan tersebut, yaitu dengan gerakan hiperaktif, menggelepar, dan lumpuh. Hal ini diduga sebagai suatu cara untuk memperkecil proses biokimia dalam tubuh yang teracuni, sehingga efek letal yang terjadi lebih lambat.

Berdasarkan hasil dari analisis probit didapatkan nilai LC₅₀-96 jam pada ikan nila adalah 61,2 ppm, artinya pada konsentrasi 61,2 ppm Cr⁶⁺ didapatkan kematian 50% hewan uji dalam waktu pemaparan 96 jam. ISO (1982) menyatakan apabila nilai LC₅₀-96 jam berkisar 10–100 ppm maka bahan racun tersebut digolongkan dalam daya racun yang sedang, sehingga dalam penelitian ini Cr⁶⁺ digolongkan ke dalam kategori racun yang sedang (*medium toxic*).

KESIMPULAN

Nilai toksisitas letal (LC₅₀-96 jam) Cr⁶⁺ pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*), yaitu sebesar 61,2 ppm yang dapat dikategorikan kedalam golongan dengan

daya racun yang sedang (*medium toxic*). Ikan nila yang telah terpapar logam kromium akan membahayakan kesehatan bagi manusia yang mengonsumsinya.

DAFTAR PUSTAKA

- Agah H, Leermakers M, Elskens M, Fatemi SMR, Baeyens W. 2009. Accumulation Of Trace Metals In The Muscles And Liver Tissues Of Five Fish Species From The Persian Gulf. *Environmental Monitoring and Assessment*. 157: 499–514. <http://doi.org/cvwfqt>
- Alamanda IE, Handajani NS, Budiharjo A. 2007. Penggunaan Metode hematologi dan Pengamatan Endoparasit Darah untuk Penetapan Kesehatan Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) di Kolam Budi Daya Desa Mangkubumen Boyolali. *Biodiversitas*. 8(1): 34–38. <http://doi.org/bnqd>
- Al-Attar AM. 2005. Changes in Haematological Parameters of the Fish, *Oreochromis niloticus* Treated with Sublethal Concentration of Cadmium. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 8(3): 421–424. <http://doi.org/dtngmt>
- Amri K, Khairuman 2003. *Budi Daya Ikan Nila Secara Intensif*. Depok (ID): Agromedia Pustaka.
- [APHA] American Public Health Assosiation. 2010. *Standard Methods for The Examination of Water and Waste Water 22th Edition*. APHA.AWWA.WPOF, Washington DC.
- Conell DW, Miller JG. 1995. *Kimia dan Ekotoksikologi Pencemaran*. Penerjemah Yanti Koestoer. Jakarta (ID): UI Press.
- Darmono. 2010. *Lingkungan Hidup dan Pencemaran: Hubungannya dengan Toksikologi Senyawa Logam*. Jakarta (ID): UI Press.
- Effendi H. 2003. *Telaah Kualitas Air Bagi Pengelolaan Sumber Daya dan Lingkungan Perairan*. Yogyakarta (ID): Kanisius.
- Fardiaz S. 1992. *Polusi Air dan Udara*. Yogyakarta (ID): Kanisius.
- Finney DJ. 1971. *Probit analysis*. Cambridge (GB): Cambridge Univ. Press.
- Gusrina. 2008. *Budi Daya Ikan untuk SMK*. Jakarta (ID): Pusat Perbukuan, Departemen Pendidikan Nasional.
- Hendri M, Gusti D, Jetun T. 2010. Konsentrasi Letal (LC₅₀-48 jam) Logam Tembaga (Cu) dan Logam Kadmium (Cd) Terhadap Tingkat Mortalitas Juwana Kuda Laut (*Hippocampus* spp). *Jurnal Penelitian Sains*. 13(1): 26–30.
- Huheey JE, Keiter EA, Keiter RL. 1993. *Inorganic Chemistry: Principles of Structure and Reactivity*.

- Fourth Edition. New York (US): Harper Collins Publisher.
- ISO. 1982. *Water Quality-Determination of The Inhibition of Mobility of Daphnia magna Strauss (Cladocera crustacea)*. Switzerland (CH): Organization for Standardization 1nd. Geneva.
- Kordi K. 2004. *Penanggulangan hama dan penyakit ikan*. Jakarta (ID): Rineka Cipta Bina Adiaksara.
- Le QD, Nguyen MC, Nguyen TH, Nguyen DC. 2005. Acute Toxicity Test to Determine the Effects of Copper, Zinc and Cyanide on Cobia (*Rachycentron canadum*) Resources in North Vietnam. *Australian Journal of Ecotoxicology*. 11: 163–166.
- Muhammad F. 2002. Penentuan Toksisitas Air Limbah dengan Indikator Ikan Tombro (*Cyprinus carpio*). *Majalah Ilmiah Biologi BIOMA*. 4(2): 54–58.
- Palar H. 2008. *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat*. Jakarta (ID): Rineka Cipta.
- Rand GM, Petrocelli SR. 1985. *Fundamentals of aquatic toxicology: methods and application*. Washington DC (US): Hemisphere Publishing Cooperation.
- Rompas RM. 2010. *Toksikologi Kelautan*. Jakarta (ID): Sekretariat Dewan Kelautan Indonesia.
- Santoso B. 1996. *Budi Daya Ikan Nila*. Yogyakarta (ID): Kasinius.
- Setijaningsih L. 2010. Pencemaran Logam Berat di Perairan Waduk Cirata Jawa Barat. *Prosiding Seminar Nasional Limnologi V*: 681–690.
- Setyo BP. 2006. Efek Konsentrasi Kromium (Cr^{3+}) dan Salinitas Berbeda Terhadap Efisiensi Pemanfaatan Pakan Untuk Pertumbuhan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). [Tesis]. Semarang (ID): Universitas Diponegoro.
- Shah L. S. 2010. Hematological changes in *Tinca tinca* after exposure to lethal and Sublethal doses of Mercury, Cadmium and Lead. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 9(3): 434–443.
- Sorensen EM. 1991. *Metal poisoning in fish*. New York (US): CRC Press.
- Tarumingkeng RC. 1992. *Insektisida: sifat, mekanisme kerja dan dampak penggunaannya*. Jakarta (ID): Universitas Kristen Krida Wacana.
- Vincent K. 2008. Probit Analysis. <http://userwww.sfsu.edu/probit/ProbitAnalysis.pdf>
- Yilmaz S, Turan C, Toker T. 2010. Uptake and distribution of hexavalent chromium in tissues (gill, skin and muscle) of a freshwater fish *Oreochromis aureus*. *Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology*. 2(3): 28–33.