

PENCEMARAN OLEH ESTRADIOL-17 β DI SUNGAI BRANTAS DAPAT MENIMBULKAN FEMINISASI ORGANISME PERAIRAN

Istamar Syamsuri

Biologi FMIPA Universitas Negeri Malang

ABSTRAK

Sungai Brantas di Jawa Timur merupakan sungai yang mendapatkan limbah rumah tangga dan pertanian di sepanjang alirannya. Limbah cair tersebut banyak mengandung estradiol-17 β yang berasal dari urine dan feses, baik dari hewan ternak seperti kerbau, sapi, dan kambing, maupun dari manusia. Patut diduga bahwa kandungan estradiol-17 β di sungai Brantas cukup tinggi.

Estradiol-17 β merupakan hormon yang biasa dihasilkan oleh hewan betina dan manusia, yang dapat menimbulkan tanda-tanda kelamin sekunder. Pada hewan jantan, estradiol-17 β dapat menimbulkan feminisasi pada hewan vertebrata jantan, berpengaruh negatif terhadap perkembangan organ reproduksi mamalia, burung, reptil, amfibi, ikan dan diduga dapat menurunkan kemampuan reproduksi pada manusia (Roy, 1995, Stancel, et al., 1995, Horowitzs, et al., 2000, Cody, 2001, dan Tabata, et al, 2001).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui berapa kadar estradiol-17 β di dalam air sungai Brantas. Selanjutnya perlu dibuktikan apakah kadar estradiol-17 β sungai Brantas telah dapat menimbulkan feminisasi atau tidak. Untuk itu digunakan ikan nila *Oreochromis niloticus* sebagai hewan uji. Oleh karena itu penelitian ini dilakukan dalam 3 tahap. Tahap I: mengukur konsentrasi estradiol-17 β di sungai Brantas. Tahap II eksperimen merendam larva ikan nila umur 1 minggu dalam larutan estradiol-17 β (Tabata, et al, 2001, Horowitzs, et al, 2000) diamati pada umur 4 bulan. Tahap III eksperimen tentang ikan nila umur 4 bulan hingga 7 bulan dengan teknik yang sama dengan Tahap II.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi estradiol-17 β di daerah Batu (hulu) adalah $85,833 \pm 35,932$ ng/l, Tulungagung (tengah) $112,500 \pm 55,077$ ng/l, dan Surabaya (hilir) $117,500 \pm 36,393$ ng/l, atau berkisar antara 42 – 220 ng/l. Konsentrasi ini cukup tinggi jika dibandingkan dengan konsentrasi estradiol-17 β di sungai-sungai Eropa yang berkisar antara 0,1 – 88 ng/l.

Hasil eksperimen menunjukkan: 1) Estradiol-17 β konsentrasi sungai Brantas (100 ng/l) dapat mengakibatkan feminisasi ikan nila (*O. niloticus*) pada pengamatan umur 7 bulan; 2) Estradiol-17 β berpengaruh signifikan ($p \leq 0,05$) terhadap pertumbuhan ikan nila (*O. niloticus*) (panjang, lebar berat); ikan jantan lebih peka daripada ikan betina. 3) menurunkan pertumbuhan gonad jantan dan betina (berat gonad, viabilitas sperma dan jumlah telur).

Kata kunci: Estradiol-17 β , senyawa estrogenik, *Oreochromis niloticus*, feminisasi, Sungai Brantas.

PENDAHULUAN

Sungai Brantas di Jawa Timur ternyata telah tercemar oleh senyawa estradiol-17 β , suatu hormon yang biasa diproduksi oleh hewan betina dan manusia. Hormon tersebut memasuki perairan melalui urine dan atau feses yang selanjutnya dapat memasuki lingkungan perairan (Schafersman, 2000). Secara alami, hormon tersebut dapat menimbulkan tanda-tanda kelamin sekunder misalnya pada manusia menyebabkan munculnya kelenjar susu dan payu dara, suara nyaring, kulit halus, dan timbulnya jaringan lemak di bawah kulit. Di lingkungan, senyawa ini dapat mengacaukan sistem endokrin vertebrata (ikan, amfibia, reptilia, burung dan mamalia). Kekacauan sistem endokrin tersebut dapat mengganggu produksi hormon, menurunkan kualitas dan kuantitas sperma, menimbulkan feminisasi hewan jantan, (Cody, 2001, Knobil, 1999), dan pada hewan betina menyebabkan ovarium tumbuh secara abnormal (Guillette, *et al.*, 1998).

Estradiol-17 β bukanlah satu-satunya senyawa yang dapat menimbulkan feminisasi. Senyawa lain ada yang beraksi seperti estradiol. Senyawa tersebut dikenal sebagai senyawa estrogenik. Jadi senyawa estrogenik adalah senyawa yang dapat menimbulkan dampak serupa dengan akibat hormon estrogen alami, karena dapat berikatan dengan reseptor estrogen pada inti sel organisme (Benson, 2002). Senyawa estrogenik banyak dijumpai di lingkungan, sehingga disebut juga sebagai estrogen lingkungan atau *xenoestrogen*.

Senyawa estrogenik dibedakan menjadi senyawa estrogenik buatan dan alami. Senyawa estrogenik buatan berasal dari berbagai sumber pencemar yaitu; 1) dari kegiatan pertanian (misalnya insektisida DDT, deildrin, dan endrin); 2) kegiatan pabrik (misal dioksin, bahan penyusun plastik dan detergen); 3) obat-obatan (misalnya diethyl stilbestrol (DES), ethinyl estradiol). Sedangkan senyawa estrogenik alami adalah senyawa yang dihasilkan organisme, misalnya senyawa dari jamur, tumbuhan, dan hormon estrogen vertebrata. Hormon estrogen vertebrata (misalnya estradiol-17 β) dikeluarkan melalui urine

Di antara senyawa estrogenik alami yang mempunyai potensi biologis yang paling tinggi adalah estradiol-17 β (Tabata, *et al.*, 2001, Horowitzs, *et al.*, 2000, Roy, 1999 dan Clark *et al.*, 1979). Estradiol-17 β dapat dijumpai di dalam urine baik wanita maupun pria, sapi, kuda, yang dapat memasuki lingkungan atau sungai (Roy, 1999). Sungai yang mengandung estradiol-17 β menyebabkan ikan mengalami feminisasi (Stancel, 1998).

Di Jawa Timur (juga di Indonesia umumnya), air limbah penduduk, pertanian dan peternakan langsung memasuki badan air sungai tanpa diolah terlebih dahulu, air sungai dimanfaatkan untuk mandi, cuci dan kakus (MCK), dan untuk memandikan ternak. Karena itu patut diduga bahwa di dalam air sungai Brantas terkandung estradiol-17 β yang cukup tinggi dan senyawa tersebut telah dapat menimbulkan feminisasi, intersex atau hibridigonad pada ikan-ikan yang hidup di sungai.

Besarnya konsentrasi estradiol-17 β di dalam air sungai Brantas belum pernah dilaporkan. Konsentrasi estradiol-17 β tersebut dapat dijadikan acuan untuk menentukan bagaimana pengaruhnya terhadap organisme perairan. Oleh karena itu konsentrasi estradiol-17 β di sungai Brantas perlu diukur. Hasil pengukuran dapat digunakan untuk membuktikan apakah estradiol-17 β dalam konsentrasi lingkungan sungai sudah dapat menyebabkan feminisasi dan menimbulkan dampak terhadap organisme atau belum. Untuk itu digunakan ikan nila (*O. niloticus*) sebagai hewan uji karena ikan nila (*O. niloticus*) banyak dikonsumsi. Dikhawatirkan, ikan nila yang dikonsumsi yang terpapar estradiol-17 β dapat membahayakan orang yang mengkonsumsi.

BAHAN DAN CARA KERJA

Penelitian dibedakan menjadi 3 tahap yaitu 1) Tahap I: menghitung konsentrasi estradiol-17 β yang ada di sungai Brantas, 2) Tahap II: dilakukan eksperimen untuk mengetahui bagaimana pengaruh estradiol-17 β yang konsentrasinya seperti terdapat di Sungai Brantas terhadap feminisasi ikan nila (*O. niloticus*) fase larva dan 3) Tahap III: dilakukan eksperimen untuk mengetahui

bagaimana pengaruh estradiol-17 β tersebut terhadap ikan nila (*O. niloticus*) umur 4–7 bulan. Rancangan penelitian tahap II adalah rancangan acak lengkap dan tahap III rancangan acak lengkap pola faktorial 4 X 2, dimana faktor pertama adalah 4 macam konsentrasi estradiol-17 β dan faktor kedua adalah jenis kelamin jantan dan betina.

Dalam eksperimen ikan nila (*O. niloticus*) dimasukkan ke dalam larutan estradiol-17 β dengan konsentrasi A (0 ng/l air kolam), B (100 ng/l air kolam, konsentrasi estradiol-17 β dalam sungai Brantas), C (550 ng/l air kolam) dan D (1000 ng/l air kolam). Perendaman dilakukan dengan teknik *static-renewal* (Tabata et al, 2001) selama 2 minggu tidak berurutan (Horowitzs, et al, 2000). Variabel terikatnya berupa: pertumbuhan (berat tubuh, panjang, lebar), feminisasi, pertumbuhan gonad, spermatozoa dan ovum ikan.

Untuk menentukan konsentrasi estradiol-17 β dihitung dengan teknik *radioimmuno assay* (RIA) menggunakan KIT DPC USA, dengan calibration units 0–3600. Untuk mengetahui pengaruh berbagai konsentrasi estradiol-17 β terhadap panjang, lebar dan berat tubuh ikan, data dianalisis dengan anava, anakova ganda, multivariat ganda, menggunakan komputer program pengolah data Statistical Product and Service Solution (SPSS) versi 10.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Tahap I: Pengukuran Estradiol-17 β di Dalam Air Sungai Brantas

Hasil pengukuran konsentrasi estradiol-17 β di dalam air sungai Brantas disajikan dalam bentuk tabel berikut:

Tabel 1 : Rerata dan Standart Deviasi Konsentrasi Estradiol-17 β (ng/l) dari Sungai Brantas Pada Akhir Musim Kemarau (September) Tahun 2002

No	Tempat Pengambilan	Konsentrasi Estradiol-17 β ($\bar{x} \pm SD$)
1	Batu/Malang	85,833 ^a $\pm$ 35,923
2	Tulungagung	112,500 ^a $\pm$ 55,077
3	Wonokromo/Surabaya	117,500 ^a $\pm$ 36,393

Keterangan : Tanda huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$)

Dari Tabel 1 nampak bahwa konsentrasi estradiol-17 β di sungai Brantas cukup tinggi. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa konsentrasi estradiol-17 β dari ketiga tempat pengamatan tidak berbeda signifikan ($p>0,05$). Walaupun tidak berbeda signifikan, namun dapat dilihat bahwa semakin ke hilir, kandungan estradiol-17 β mempunyai kecenderungan semakin meningkat dan konsentrasi tertinggi terdapat di aliran sungai di Wonokromo, Surabaya.

B. Tahap II: Pengaruh estradiol-17 β terhadap Pertumbuhan Ikan Nila (*O. niloticus*) Umur 1 Minggu

Hasil pengukuran panjang, lebar dan berat tubuh ikan nila (*O. niloticus*) pada umur 4 bulan setelah mendapatkan perlakuan perendaman dengan estradiol-17 β pada umur 1 minggu disajikan dalam bentuk Tabel 2 berikut.

Tabel 2: Hasil Pengukuran Panjang, Lebar, dan Berat Tubuh Ikan Nila (*O. niloticus*) pada Umur 4 Bulan Setelah Memperoleh 4 Macam Perlakuan dengan Estradiol-17 β pada Waktu Berumur 1 Minggu

Perlakuan	Panjang (cm) $(\bar{x} \pm SD)$	Lebar (cm) $(\bar{x} \pm SD)$	Berat (gr) $(\bar{x} \pm SD)$
0 ng/l	11,130 ^a $\pm$ 1,296	3,553 ^a $\pm$ 0,476	24,300 ^a $\pm$ 5,647
100 ng/l	10,893 ^a $\pm$ 1,503	3,620 ^a $\pm$ 0,546	27,988 ^a $\pm$ 9,948
550 ng/l	11,960 ^b $\pm$ 1,458	3,780 ^a $\pm$ 0,465	35,136 ^b $\pm$ 9,943
1000 ng/l	12,983 ^c $\pm$ 1,643	4,117 ^b $\pm$ 0,596	35,372 ^b $\pm$ 10,206

Keterangan: Tanda huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p \leq 0,05$).

Dari Tabel 2 di atas:

1. Estradiol-17 β konsentrasi Sungai Brantas (100 ng/l) tidak berpengaruh secara signifikan ($p \geq 0,05$) terhadap pertambahan panjang, lebar dan berat ikan.
2. Perlakuan dengan estradiol-17 β konsentrasi 550 ng/l meningkatkan pertambahan panjang dan berat, sedangkan konsentrasi 1000 ng/l meningkatkan pertumbuhan ikan nila (*O. niloticus*) umur 1 minggu dalam pengamatan umur 4 bulan.

C. Feminisasi Ikan Nila

Tabel 3. Persentase Feminisasi (PF) dan Indeks Feminisasi (IF) Ikan Nila (*O. niloticus*) Umur 4 Bulan Akibat Pengaruh Estradiol-17 β pada Umur 1 Minggu

Perlakuan	Jumlah Jantan (ΣJ)	Jumlah Betina (ΣB)	PF	Perbandingan $\Sigma B / \Sigma J$	IF
0 ng/l	16	14	0%	0,875	1
100 ng/l	16	14	0%	0,875	1
550 ng/l	11	19	31,25%	1,727	1,973
1000 ng/l	9	21	43,75%	2,333	2,666

Dari Tabel 3 di atas:

1. Estradiol-17 β konsentrasi sungai Brantas (100 ng/l) belum menyebabkan feminisasi ikan nila (*O. niloticus*) akibat perendaman selama 2 minggu pada fase larva.
2. Pemberian estradiol-17 β konsentrasi 550 ng/l dan 1000 ng/l telah dapat mengakibatkan feminisasi ikan nila (*O. niloticus*)

3. Semakin tinggi konsentrasi estradiol-17 β , semakin besar persentase dan indeks feminisasinya.

D. Tahap III: Pengaruh estradiol-17 β terhadap Pertumbuhan Ikan Nila (*O. niloticus*) Umur 4 Bulan Diamati pada Umur 7 Bulan

Hasil analisis dengan multivariat ganda menunjukkan bahwa terdapat pengaruh interaksi antara jenis kelamin dan pemberian estradiol-17 β terhadap pertumbuhan ikan nila (*O. niloticus*) ($p \leq 0,05$). Untuk menguji perbedaan pertumbuhan antara ikan nila jantan dan betina, disajikan tabel berikut:

Tabel 4: Perbedaan Pertumbuhan Antara Ikan Nila (*O. niloticus*) Jantan dan Betina Umur 7 Bulan Akibat Estradiol-17 β pada Umur 4 Bulan

Variabel Terikat	Jenis Kelamin	Rerata Pertumbuhan Ikan Nila ($\bar{x} \pm SD$)
Panjang (cm)	Betina	14,638 ^a $\pm$ 1,377
	Jantan	17,000 ^b $\pm$ 1,179
Lebar (cm)	Betina	4,669 ^a $\pm$ 0,506
	Jantan	5,281 ^b $\pm$ 0,592
Berat (g)	Betina	58,776 ^a $\pm$ 8,332
	Jantan	77,959 ^b $\pm$ 16,251

Keterangan: Tanda huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p \leq 0,05$).

Dari Tabel 4 ternyata terdapat perbedaan pertumbuhan (panjang, lebar, berat tubuh) antara ikan nila (*O. niloticus*) jantan dan betina akibat perlakuan dengan estradiol-17 β ; ikan nila jantan lebih peka daripada betina.

Hasil analisis varian satu jalan tentang pengaruh estradiol-17 β terhadap pertumbuhan tubuh, gonad dan sel gamet (jantan dan betina) menunjukkan bahwa:

- Estradiol-17 β dapat meningkatkan secara signifikan ($p \leq 0,05$) pertumbuhan (panjang, lebar dan berat) tubuh ikan nila (*O. niloticus*) baik jantan maupun betina.
- Estradiol-17 β dapat menurunkan secara signifikan ($p \leq 0,05$) berat gonad jantan dan viabilitas spermatozoa, tetapi tidak menurunkan secara signifikan ($p \geq 0,05$) gerak massa, gerak individu dan lama hidup spermatozoa.
- Estradiol-17 β dapat menurunkan secara signifikan ($p \leq 0,05$) jumlah telur tetapi tidak menurunkan secara signifikan ($p \geq 0,05$) berat gonad betina, penampang telur dan berat telur.

E. Feminisasi Ikan Nila (*O. niloticus*) Akibat Perlakuan pada Umur 4 Bulan.

Tabel 5 : Persentase Feminisasi (PF) dan Indeks Feminisasi (IF) Ikan Nila (*O. niloticus*) Umur 7 Bulan Akibat Pengaruh Estradiol-17 β ketika Berumur 4 Bulan

Perla- kuan	Jml Jantan	Jml Femi nisasi	PF Jantan	Jumla h Betina	Perba ndinga n B/J	IF
0 ng/l	12	0	0%	12	1	1
100 ng/l	10	2	16,66%	14	1.4	1.4
550 ng/l	9	3	25%	15	1,66	1,66
1000 ng/l	9	3	25%	15	1,66	1,66

Estradiol-17 β konsentrasi sungai Brantas (100 ng/l) dapat menimbulkan feminisasi pada ikan nila (*O. niloticus*) jantan umur 4 bulan dalam pengamatan umur 7 bulan. Bagaimana feminisasi ikan nila umur 0-7 bulan? Dengan membuat rata-rata, maka diperoleh hasil sebagaimana tercantum dalam Tabel 6 berikut:

Tabel 6 : Persentase Feminisasi (PF) dan Indeks Feminisasi (IF) Ikan Nila (*O. niloticus*) Umur 0-4 Bulan, 4-7 Bulan dan 0-7 Bulan Akibat Pengaruh Estradiol-17 β

Perla- kuan	Larva Umur 1 Mgg-4 Bln		Umur 4 Bln-7 Bln		Umur 1 Mgg-7 Bln	
	PF	IF	PF	IF	PF	IF
0 ng/l	0%	1,000	0%	1,000	0%	1,000
100 ng/l	0%	1,000	16,66%	1,400	8,33%	1,200
550 ng/l	31,25%	1,973	25%	1,666	28,13%	1,819
1000 ng/l	43,75%	2,666	25%	1,666	34,38%	2,166

Berdasar hasil penghitungan, konsentrasi estradiol-17 β sungai Brantas dapat menimbulkan feminisasi pada ikan nila (*O. niloticus*) jantan umur 1 minggu sampai 7 bulan, dengan perlakuan perendaman selama 2 minggu pada waktu umur 1 minggu dan 2 minggu pada waktu umur 4 bulan, dalam pengamatan umur 7 bulan. Bersarnya feminisasi ditunjukkan oleh PF dan IF

PEMBAHASAN

A. Konsentrasi Estradiol-17 β di Aliran Sungai Brantas

Hasil penghitungan menunjukkan bahwa konsentrasi estradiol-17 β di Batu 85,833 ng/l, di Tulungagung (tengah) 112,500 ng/l dan di Wonokromo, Surabaya (hilir) 117,500 ng/l. Rerata konsentrasi estradiol-17 β dari hulu ke hilir 105,277 ng/l. Ini menunjukkan bahwa konsentrasi estradiol-17 β di sungai Brantas cukup tinggi. Di negara-negara Eropa yang sungainya mendapat limbah rumah tangga, konsentrasi estradiol-17 β berkisar antara 0,05-15,5 ng/l, sedang di negara-negara maju umumnya berkisar antara 0,1 – 88 ng/l (Anonimus, Laporan Environmental Project No 729, 2002).

Tingginya konsentrasi estradiol-17 β di sungai Brantas karena di daerah hulu sungai merupakan daerah pertanian dan peternakan yang limbahnya memasuki perairan sungai Brantas, penduduk di sekitar sungai menjadikannya sebagai tempat untuk mandi, cuci, kakus (MCK). Sapi dewasa mengekskresi estradiol 30 mg/hari, ayam 1,6 mg/hari, belum lagi bebek, kambing, dan kerbau. Pria dapat mengekskresi estradiol-17 β 1,6 mg/hari, wanita menstruasi 3,5 mg/hari dan wanita hamil 259 mg/hari (Johnson, and Ulahannan, 2004).

Di dalam aliran sungai Eropa, estradiol-17 β mengalami degradasi antara 32-68% pada suhu 20⁰ C (Desbrow, *et al.*, 1998). Ada kemungkinan laju degradasi estradiol-17 β di sungai Brantas lebih tinggi karena suhu di sini rata-rata lebih tinggi. Akan tetapi laju penambahan lebih besar daripada laju degradasi sehingga konsentrasi estradiol-17 β hingga ke hilir semakin tinggi. Tingginya konsentrasi estradiol-17 β cukup mengkhawatirkan karena air sungai Brantas digunakan untuk berbagai keperluan misalnya sebagai bahan baku air minum oleh PDAM, media pemeliharaan ikan, udang, dan dibuang ke laut sehingga mencemari ekosistem laut.

B. Pengaruh estradiol-17 β terhadap Pertumbuhan Ikan Nila (*O. niloticus*) Umur 1 minggu-4 Bulan dan 4 -7 bulan.

Berdasar analisis dengan Anava Satu Jalan diperoleh hasil bahwa estradiol-17 β berpengaruh signifikan ($p \leq 0,05$) pada pertumbuhan tubuh (panjang, lebar dan berat) ikan nila (*O. niloticus*). Hal ini sesuai dengan beberapa uraian berikut:

1. Di AS, estradiol-17 β atau senyawa sintetik estrogenik yang lain digunakan untuk penggemukan tubuh sapi ternak.
2. Penelitian oleh Tzchori, *et al.*, (2001) terhadap belut (*Anguilla anguilla*) memperlihatkan bahwa estradiol-17 β dapat meningkatkan pertambahan berat belut.
3. Estrogen dapat mengakibatkan pertambahan berat tubuh, dan meningkatkan pertumbuhan tulang terutama pada hewan muda (Hardjopranjoto, 1998).

Karena pengaruh estradiol-17 β , tubuh ikan mengalami perubahan fisiologis, metabolisme meningkat (Hardjopranjoto, 1998), kemudian terjadi penulangan dan penggemukan sehingga pertumbuhan ikan meningkat.

Hasil analisis menunjukkan bahwa pemberian estradiol-17 β terhadap ikan nila umur 4 bulan selama 2 minggu tidak berturut-turut dapat meningkatkan pertambahan panjang, lebar dan berat tubuh ikan nila pada pengamatan umur 7 bulan. Secara alami, ikan jantan memang lebih besar daripada ikan betina. Namun hasil analisis varian ganda menunjukkan bahwa perbedaan pertumbuhan ikan jantan dan betina tidak semata-mata karena pengaruh genetik, melainkan juga karena perlakuan dengan estradiol-17 β . Perendaman dengan estradiol-17 β lebih berpengaruh pada ikan jantan daripada ikan betina, dengan kata lain ikan nila jantan lebih peka. Hal ini karena pemberian estradiol-17 β pada ikan jantan dapat memicu terjadinya reaksi sel lebih tinggi daripada reaksi sel ikan betina. Keberadaan senyawa estradiol-17 β di dalam sel ikan jantan memicu sel-sel untuk menghasilkan hormon lain sehingga sistem hormonal ikan jantan teracaukan. Di dalam sel-sel ikan betina, keberadaan estradiol-17 β merupakan kondisi yang biasa terjadi sehingga tidak terlalu mengacaukan sistem hormonal ikan betina.

C. Pengaruh Estradiol-17 β terhadap Pertumbuhan Gonad Ikan Nila (*O. niloticus*) Jantan dan Spermatozoa

Hasil analisis menunjukkan bahwa estradiol-17 β berpengaruh signifikan ($p \leq 0,05$) terhadap berat gonad jantan, dan viabilitas (persentase hidup) spermatozoa. Pola urutan perlakuan dari rerata terendah ke tertinggi adalah 1000 ng/l, 550 ng/l, 100 ng/l, 0 ng/l. Jadi, semakin tinggi konsentrasi estradiol-17 β semakin berkurang berat gonad jantan, dan viabilitas spermatozoa.

Hal ini sesuai dengan hasil eksperimen Sorensen, *et al.*, (2001) di Minnesota, Amerika Serikat. Hasil eksperimen mereka terhadap ikan Goldfish menunjukkan bahwa pemberian estradiol-17 β 50 ng/l menurunkan persentase hidup spermatozoa sebesar 84% dan pemberian 100 ng/l menurunkan persentase hidup spermatozoa sebesar 95%. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan 100 ng/l menurunkan persentase hidup spermatozoa sebesar 30,12%, perlakuan 550 ng/l menurunkan 48,58% dan perlakuan 1000 ng/l menurunkan 51,12%. Jadi persentase hidup spermatozoa hasil penelitian ini rendah, mungkin karena perbedaan: a. spesies yang diteliti; b. lingkungan. c. teknik perlakuan; d. lama pemberian perlakuan.

Hasil penelitian ini yang menunjukkan bahwa pertumbuhan gonad semakin mengecil dan viabilitas spermatozoa semakin rendah sesuai dengan yang dikemukakan oleh Cody, (2001), Tabata, *et al.*, (2001), Horowitzs, *et al.*, (2000), Roy, (1999), dan Stancel, (1998), bahwa respon umum yang muncul karena pengaruh estradiol-17 β adalah terjadinya pertumbuhan gonad abnormal, dan gamet abnormal.

D. Pengaruh Estradiol-17 β terhadap Pertumbuhan Gonad Ikan Nila (*O. niloticus*) Betina dan Ovum

Estradiol-17 β berpengaruh signifikan ($p \leq 0,05$) menurunkan jumlah telur dan tidak berpengaruh signifikan ($p > 0,05$) menurunkan berat gonad, jumlah telur, penampilan telur, dan berat telur. Di sini juga nampak bahwa pengaruh estradiol-17 β terhadap ikan jantan dan betina berbeda.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat ikan betina yang belum dewasa setelah umur 7 bulan, yakni pada perlakuan 0 ng/l sebesar 0%, 100 ng/l sebesar 16,6%, 550 ng/l sebesar 25% dan 1000 ng/l sebesar 25%. Ini sesuai dengan laporan Environmental Project No. 729, (2002) yang menyebutkan bahwa terdapat 75% ikan *Oncorhynchus mykiss* yang mengalami keterlambatan menjadi dewasa karena pengaruh estradiol-17 β , dan jumlah telurnya berkurang (Anonimus, 2002). Demikian pula yang dikemukakan oleh Raloff, 1994a).

E. Pengaruh estradiol-17 β terhadap Feminisasi Ikan Nila (*O. niloticus*) Umur 1 Minggu-7 Bulan

Dengan lama perendaman 4 minggu (2 minggu pada waktu ikan berbentuk larva berumur 1 minggu dan 2 minggu pada waktu nikan berumur 4 bulan) diperoleh persentase feminisasi (PF) dan indeks feminisasi (IF) yang semakin meningkat sesuai dengan semakin meningkatnya konsentrasi estradiol-17 β (Lihat Tabel 6). Namun harga PF tidak sebesar yang dilakukan oleh Tabata *et al* (2001) yang mengemukakan bahwa semua ikan medaka jantan berubah menjadi betina (100%) pada konsentrasi estradiol-17 β 1000 ng/l. Perbedaan ini karena:

1. Tabata *et al* merendam ikan medaka selama 200-230 hari sedangkan dalam penelitian ini hanya dilakukan perendaman selama 28 hari (2 minggu pada umur 1 minggu dan 2 minggu pada umur 4 bulan).
2. Spesies ikan yang digunakan berbeda. Tabata *et al* (2001) menggunakan medaka (*Oryzias latipes*), sedang penelitian ini menggunakan ikan nila (*O. niloticus*).

Meskipun hasil eksperimen dengan perendaman selama 28 hari telah menimbulkan persentase feminisasi yang kecil, namun dengan perendaman yang terus menerus akan dapat meningkatkan persentase feminisasi tersebut. Lagi pula, penelitian ini hanya terbatas pada pengamatan feminisasi secara anatomi, tidak dilanjutkan dengan feminisasi secara fisiologis, yakni kemampuan ikan jantan dalam menghasilkan vitelogenin (protein yang khusus diproduksi oleh ikan betina secara normal) sebagaimana dilakukan oleh Tabata, *et al* (2001).

F. Apakah di dalam sungai Brantas Terjadi Feminisasi?

Patut diduga bahwa di dalam lingkungan air sungai Brantas telah terjadi feminisasi. Selain feminisasi, dampak yang lain mungkin telah terjadi, seperti yang diuraikan Windham, (2000) tentang hasil penelitian pengaruh senyawa estrogenik terhadap organisme di seluruh dunia::

- 1) Terjadi penipisan kulit telur, perubahan bentuk dan tingkat kematian yang tinggi pada burung dan elang.
- 2) Fungsi tiroid menjadi abnormal pada burung dan ikan;
- 3) Kadar hormon menjadi tidak normal pada burung, buaya dan mamalia
- 4) Penurunan fertilitas pada ikan, burung, kerang
- 5) Emaskulasi dan feminisasi pada ikan jantan, burung, kura-kura, buaya, beruang kutub, paus dan panther.
- 6) Penurunan kekebalan pada burung dan mamalia.
- 7) Kesulitan melahirkan dan tingkat kematian kelahiran mamalia tinggi.
- 8) Perubahan tingkah laku pada burung.
- 9) Ketidak normalan organ seks dan terjadi interseks pada ikan, burung, kura-kura, buaya.
- 10) Kadar testosteron rendah dan terjadi *undesended* testes pada buaya dan panther.
- 11) *Endometriosis* pada kera.
- 12) Produksi vitelogenin pada ikan jantan.
- 13). Kanker testikular dan kelainan organ reproduksi pada anjing (yang digunakan dalam perang Vietnam).

Jadi dampak yang timbul berbeda-beda, tergantung pada kondisi lingkungan dan spesies organismenya.

G. Mungkinkah Senyawa Estrogenik Berdampak Negatif pada Penduduk?

Adanya bahan pencemar di lingkungan, secara langsung atau tidak langsung akhirnya akan berdampak pada manusia. Perjalanan bahan pencemar di lingkungan mengikuti jaring-jaring makanan melalui proses makan dimakan sepanjang rantai

makanan. Kasus Minamata di Jepang merupakan salah satu contohnya yang sangat terkenal.

Kehadiran pencemar senyawa estrogenik di dunia dicurigai sebagai bahan yang menurunkan angka kelahiran (Cody, 2001). Di Jepang, angka kelahiran menurun dibandingkan sensus tahun 1920, sejalan dengan peningkatan pasangan infertil dan laporan WHO yang menyatakan 33 dari 34 pria sehat berumur 20-26 tahun jumlah spermatozoanya di bawah normal. 70% pria sehat di Bombay, India, mempunyai jumlah spermatozoa di bawah normal (Cody, 2001). Semuanya diduga karena tercemar senyawa estrogenik.

Maka tidak berlebihan jika muncul kekhawatiran akan munculnya dampak negatif pada kesehatan masyarakat karena memakan ikan yang tercemar, sayuran dari lingkungan perairan tercemar, sumur-sumur penduduk tepi sungai yang tercemar dan bahan baku air yang berasal dari sungai yang tercemar oleh senyawa estrogenik. Dampak tersebut ada yang segera nampak, ada pula yang muncul secara perlahan dalam waktu lama, memunculkan sindroma estrogenik, yaitu penyakit atau kelainan akibat terpapar oleh senyawa estrogenik. Sindroma estrogenik tersebut misalnya jumlah spermatozoa menurun, testis mengecil, dan terjadi feminisasi pada pria (Sax, 2003). Pada wanita, gejalanya dapat berupa munculnya menstruasi dini, dan kanker payu dara (Sax, 2003).

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Hasil-hasil penelitian dapat disimpulkan:

1. Konsentrasi estradiol-17 β di aliran sungai Brantas rata-rata 105,277 ng/l, lebih tinggi dari konsentrasi di negara maju yang berkisar antara 0,1 – 88 ng/l. Di daerah Batu (hulu) 85,833 ng/l, Tulungagung (tengah) 112,500 ng/l, dan di Wonokromo, Surabaya (hilir) 117,500 ng/l. Tidak terdapat perbedaan signifikan ($p>0,05$) antara konsentrasi estradiol-17 β di Batu (hulu), Tulungagung (tengah) dan Wonokromo, Surabaya (hilir).

2. Estradiol-17 β dapat meningkatkan pertumbuhan tubuh ikan nila (*O. niloticus*) jantan dan betina pada pengamatan umur 4 sampai 7 bulan yang meliputi panjang, lebar dan berat tubuh.
3. Terdapat perbedaan pengaruh estradiol-17 β terhadap peningkatan pertumbuhan tubuh ikan nila (*O. niloticus*) jantan dan betina pada pengamatan umur 7 bulan, yang meliputi panjang, lebar dan berat tubuh.
4. Estradiol-17 β dapat menurunkan secara signifikan ($p \leq 0,05$) pertumbuhan gonad dan kualitas sperma ikan nila (*O. niloticus*) jantan, yang meliputi: (a) berat gonad jantan, dan (b) viabilitas spermatozoa, tetapi menurunkan secara tidak signifikan ($p > 0,05$) (a) gerak massa spermatozoa, (b) gerak individu spermatozoa dan (c) lama hidup spermatozoa.
5. Estradiol-17 β menurunkan secara signifikan ($p \leq 0,05$) jumlah telur, tetapi menurunkan secara tidak signifikan ($p > 0,05$) pertumbuhan gonad dan kualitas telur ikan nila (*O. niloticus*) betina, yang meliputi: (a) berat gonad, (b) penampang telur, dan (d) berat telur.
6. Estradiol-17 β konsentrasi air sungai Brantas (100 ng/l) belum dapat menimbulkan feminisasi larva ikan nila (*O. niloticus*) umur 7 hari sampai 4 bulan, tetapi telah dapat mengakibatkan terjadinya feminisasi pada ikan nila (*O. niloticus*) jantan pada umur 4 sampai 7 bulan.

B. Saran-saran

1. Perlu diadakan penelitian lanjutan tentang dampak senyawa estrogenik terhadap hewan perairan sungai Brantas, misalnya penelitian tentang: (a) kandungan estradiol-17 β di dalam tubuh, (b) kelainan organ reproduksi dan kualitas gamet, dan (c) feminisasi.
2. Karena senyawa estrogenik berbahaya bagi lingkungan, maka perlu diadakan penelitian tentang kandungan senyawa estrogenik di lingkungan perairan, sumur, air minum (PDAM) yang ada di Indonesia, sehingga dapat diantisipasi dampaknya bagi lingkungan

3. Perlu dilakukan penelitian menyeluruh tentang keberadaan senyawa estrogenik di Indonesia, yang menyangkut sumber, dampak dan hubungannya dengan kesehatan masyarakat dan lingkungan.
4. Dapat diupayakan untuk memproduksi ikan superjantan dari “betina” hasil feminisasi. Caranya, ikan nila jantan (dengan kromosom XY) diberi estradiol- 17β (atau senyawa estrogenik lainnya) melalui teknik tertentu (suntikan, pakan, atau lainnya) sehingga berubah menjadi “betina”. Ikan “betina” tersebut dikawinkan dengan ikan nila (*O. niloticus*) jantan lain (XY dengan XY) untuk memperoleh individu dengan kromosom kelamin YY (superjantan). Ikan YY (superjantan) ini dapat dijadikan pejantan, dan jika dikawinkan dengan betina normal (XX) akan senantiasa menghasilkan keturunan jantan semua (100% XY). Memelihara ikan nila (*O. niloticus*) jantan lebih menguntungkan daripada ikan nila betina karena:
5. Untuk mencegah terjadinya kepunahan spesies di lingkungan dan dampak negatif pada penduduk, maka diperlukan upaya:
 - a. Mengusahakan agar limbah rumah tangga, pertanian, peternakan dan limbah pabrik tidak dibuang ke dalam sungai secara langsung, melainkan melalui proses pengolahan limbah terlebih dahulu.
 - b. Mengusahakan agar penduduk tidak menggunakan air sungai sebagai tempat mandi, cuci, kakus (MCK). Caranya, di tepi sungai didirikan tempat MCK umum yang limbahnya tidak langsung masuk ke sungai.
 - c. Air sungai yang diolah oleh PDAM menjadi air minum hendaknya benar-benar bebas dari senyawa estrogenik, misalnya diberi arang batok kelapa yang dapat membebaskan air dari pencemar senyawa estrogenik.
 - d. Dikembangkan upaya untuk melindungi masyarakat terhadap senyawa estrogenik dan senyawa berbahaya lainnya karena dampaknya ada yang tidak segera terdeteksi, namun dalam jangka panjang membahayakan kesehatan penduduk. Misalnya dengan menetapkan baku mutu air yang berhubungan dengan senyawa estrogenik. Hingga sekarang, baku mutu air yang berkaitan dengan senyawa estrogenik belum ditetapkan

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus, 1994a. **17β-Estradiol RIA (CT). Instruction for Use.** Hamburg: IBL – Immunological Laboratories. [//www.ibl-hamburg.com](http://www.ibl-hamburg.com), Download: 3 Maret 2001
- Anonimus, 1994b. **Sex Hormones and Gender.** Science Service, Inc. Full Text Copyright., Download: 19 September 2001
- Anonimus, 1998. **Estrogen and Estrogen receptor.** Science Week Focus Report. [//scienceweek.com](http://scienceweek.com), Download: 19 September 2000
- Anonimus, 1999a. **ACTH IRMA (CT). Instruction for Use.** Hamburg: IBL – Immunological Laboratories. [://www.ibl-hamburg.com](http://www.ibl-hamburg.com), Download: 4 Maret 2001
- Anonimus, 1999c. **Rising Hormone.** Journal of Experimental Medicine (JEM) I. Future Article, page 5N - 7N., Download: 19 September 2000
- Anonimus, 2001a. **Estrogen Target Tissues.** Science behind the News. newscenter.cance.gov/sciencebehind/estrogen/estrogen. Download 6 Juni 2002
- Anonimus, 2001b. **RiaSmart, EiaSmart: Software for ImmunoAssay Data Reduction.** Packard BioScience, Download: 2 Juni 2001
- Anonimus, 2001c. **Japan Environmental Hormons Strike Offshore.** Asahi Shimbun, July, 2001. [aazotorp@aol.com](mailto:aozotorp@aol.com), Download: 2 Juni 2001
- Anonimus, 2002a. **Environmental Project no. 729, 2002. Feminisation of fish. The effect of estrogenic compounds and their fate in sewage treatment plants and nature.** Download 10 Agustus 2004.
- Anonimus, 2002b. **The Journal of Experimental Medicine (JEM).** Faster access in Europe, Asia, Australia, and South America via <http://intl.jem.org> Download 13 September 2004.
- Allsopp, M., D. Santillo, and P. Johnston, 1997. **Poisoning The Future. Impacts of Endocrine-Disrupting Chemicals on Wildlife and Human Health.** Greenpeace Research Laboratories, Dept. Biological Sciences, University of Exeter, Prince of Wales Road, Exeter EX4 4PS
- Benson, W. H., 2002. **Environmental Xenoestrogens and Reproductive Toxicity in Fish.** Mississippi: The University of Mississippi, Download: 20 September 2001
- Cahyono, B., 2000. **Budi Daya Ikan Air Tawar.** Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Clark JH, Z, Paszko, and E.J. Jr., Peck. 1979. **Nuclear binding and retention of the receptor estrogen complex: relation to the agonistic and antagonistic**

- properties of estriol.** Endocrinology 100:91-96. Environmental Health Perspectives (EHP) on Line
- Cody, N., Tanpa Tahun. **Motion Magazine. DES given to Young too Tall Girls in Appalling Medical Experiment.** Download 10 Agustus 2004
- Cody, Pat. 2001. **Environmental Estrogen-Global Problem.** Berkeley, California. Healthcare/In Motion Magazine.
- Colborn, T., 1998. **Environmental Estrogens: Health Implications for Human and Wildlife.** Environmental Health Perspectives 103, Supplement 7, October 1998. //ehpnet1.niehs.nih.gov/docs/1995/ Suppl-7/colborn.html, Download: 2 Juni 2002
- Cone, Marla, 1998. **River Pollution Study Finds Hormonal Defect in Fish.** Los Angeles Times travis.smith @latimes.com. Download 15 Juli 2004.
- Crews, D., J.M. Bergeron, and. J.A., Mc, Lachlan, 1998. **The Role of Estrogens in Turtle Sex Determination and The Effect of PCBs.** Environmental Perspectives 103, Supplement 7, October 1998. //ehpnet1.niehs.nih.gov/docs/1995/Suppl-7/crews.html, Download: 2 Juni 2002
- Davis, M., 2000. **Endocrine Disruptors in Wastewater.** Endocrine Disruptor and Pharmacutical Active Compound in Drinking Water Workshop, Download: April 19-21, 2000.
- Desai, U.R., 2000. **Estrogens.** VCU School of Pharmacy. Download Juni 2003.
- Desbrow, C., E.J. Routledge, G.C. Brighty, J.P. Sumpter, and M. Waldock, 1998. **Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. I: Chemical Fractionation and *in vitro* Biological Screening.** Environ. Sci. Technol. **32**, 1549-1558.
- Dott, A., 2000, **Fantasy Estrogen.** www.midelife-passa-ges.com/ page4.html Download: 30 Juni 2003
- Effendie, M.I., 1997. **Biologi Perikanan, Awal Daur Hidup dan Perkembangan Larva.** Yogyakarta: Pustaka Nusantara.
- Eroschenko, V.P., and R.D. Palmiter, 1980 **Estrogenicity of Kepone in Birds and Mammals,** *Estrogens in the Environment*, (Elsevier; North Holland), pg 305-325.
- Fausch, 1990. **Fish Communities as Indicators of Environmental Degradation.** AFS Symposium 8: 123-144. Download 30 Juni 2003.
- Field, C.B. 1999 **Hormonally Active Agents In The Environment.** National Academy of Sciences. National Academy Press Washington, D.C.
- Fry, D. M., J. R. Millam, A. L. Erichsen, M. A. Viant, A. E. Quaglino, 1998. **Reproductive Effects in Birds Exposed to Pesticides and Industrial**

- Chemicals.** Environmental Health Perspectives 103, Supplement 7, October 1998. [//ehpnet1.niehs.nih.gov/docs/1995/Suppl-7/fry.html](http://ehpnet1.niehs.nih.gov/docs/1995/Suppl-7/fry.html). Download: April, 2001
- Goodbred, S., L. Robert, J. Gilliom, T.S. Gross, N.P. Denslow, W.L. Bryant, and T.R. Schoeb, 1999. **Reconnaissance of 17b-estradiol, 11-Ketotestosterone, Vitellogenin, and Gonad Histopathology in Common Carp of United States Stream: Potential for Contaminant Induced Endocrine Disruption.** U.S. Geological Survey. Open File Report 96-627. <http://ca.water.usgs.gov/pnsp/rep/carp2/disc.html>. Download: 15 April 2001
- Grese, T.A., and Lilly Eli 1997. **Structural Differences of Antiestrogens**, Science-Week 26 Dec 97. www.midlife-passa-ges.com/page4.html Download, 30 Juni 2003.
- Guillette Jr., L.J., T.S. Gross, G.R. Masson, J.M. Matter, H. F. Percival, and A.R. Woodward, 1998. **Developmental Abnormalities of the Gonad and Abnormal Sex Hormone Concentration in Juvenile Alligators from Contaminated and Control Lakes in Florida.** Environmental Health perspectives Volume 102, No. 8, August 1998. Download: 26 Juni 2001
- Gustafsson, J.A. 1999. **Estrogen Receptor β, a New Dimension in Estrogen Mechanism of Action.** Journal of Endocrinology, 163, 379-383. www.endocrinology.org
- Hardjopranjoto, S. 1998. **Endokrinologi Umum.** Tidak diterbitkan. Untuk kalangan sendiri. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Herman-Giddens, ME, EJ Slora, RC Wasserman, CJ Bourdony, MV Bhapkar, GG Koch and CM Hasemeir. 1997. **Secondary sexual characteristics and menses in young girls seen in office practice: a study from the pediatric research in office settings network.** Pediatrics 99(4):505-512.
- Hess, R.A., 1997. **A Role for Estrogens in The Male Reproductive System.** Nature 320, Dec. 4: 509. www.midlife-passa-ges.com/page4.html Download; 30 Juni 2003
- Horowitz, D.B., G. Gardner, R.G. Gobell, L. Mills, R. Haebler, and G. Zarogian, 2000. **The Pathobiology of 17b-Estradiol in The Summer Flounder, *Paralichthys dentatus*.** U.S. Environmental Protection Agency, NHEERL - Atlantic Ecology, Narragansett, RI02882. Annual Fish Health Workshop, April 2000. Webmaster@nacsetac.org . Download 14 April 2002
- Hughes, C., and S. Lieberman, 1999. **Where Are Environmental Estrogens Found?** Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 81(6):2405. Copyright 1996-1999 Center for Bioenvironmental Research at Tulane and Xavier Universities

<http://www.tmc.tulane.edu/ecme/eehome/basics/estrogen/default.html>

- Hutchinson, T., and A. Zeneca, 2000. **Endocrine Disruptors and Pharmaceutical Active Compounds in Drinking Water Workshop**. Center of Health Effects of Environmental Contamination. April 19-21, 2000.
- Johnson, A.C., dan W.Ulahannan, 2004. **An Estimate of Sewage Treatment Effectiveness in Removing 17 β -estradiol**. Institute of Hydrology, Wallingford, Oxfordshire OX10 8BB, UK 2Endocrinology Department, John Radcliffe Hospital, Oxford, UK
- Kagawa, H. 1994. **Oogenesis**. In: **Biochemistry and Molecular Biology of Fishes, Vol. 3**. Analitical Techniques, Hochachka. Amesterdam: P.W and T.P. Mommensen (Edited).
- King, M.W. 2001. **Steroid Hormones and Receptors**. Medical Biochemistry / Terre Haute Center for Medical Education/memwk @thcme.indstate.edu
- Knobil, E. 1999. **Hormonally Active Agents in the Environment**. Washington D.C., Board on Environmental Studies and Toxicology, Nastional Academy Press.
- Kuiper, G., G.J.M, Carlquist, and J.A. Gustafson, 1998. **Estrogen: Both A Male And Female Hormone**. Science&Medicine 5, Jul/Aug, 36-45. www.midlife-passa-ges.com/page4.html. Download 30 Juni 2003.
- Lyons, R. 1994. **Estrogens and Estrogenic Exposure**. Chula Vista Nature Center, 100 Gunpowder Point Drive, Chula Vista, CA.. Download: 25 September 2001
- McLachlan, J.A., and S.F. Arnold, 1996. **Environmental Estrogens**. Section 7 Ecoestrogens in Sickness and in Health. American Scientist 84. The Magazine of Sigma Xi, The Scientific Research Society
- Makela, S., R.Santti, L. Salo, and J.A. McLachlan, 1998. **Phytoestrogens Are Partial Estrogen Agonists in the Adult Male Mouse**. Environmental Health Perspectives 103, Supplement 7, October 1998. [//ehpnet1.niehs.nih.gov/docs/1995/Suppl-7/ makela.html](http://ehpnet1.niehs.nih.gov/docs/1995/Suppl-7/makela.html) Download: 25 September 2001
- Matthiessen, P. 2000. **The Effect of Endocrine Disruptors on Fish in the United Kingdom**. Download 4 Oktober 2001.
- Melnick, R.L. 1999. **Introduction-Workshop on Characterizing the Effects of Endocrine Disruptors on Human Health at Environmental Exposure Levels**. Environmental Health Perspectives Volume 107, Supplement 4, August 1999.
- <http://ehpnet1.niehs.nih.gov/docs/1999/suppl-4/603-604melnick/melnickintro.html> Download: 4 Oktober 2001.

- Newbold, R. 1995. **Cellular and Molecular Effects of Developmental Exposure to Diethylstilbestrol: Implications for Other Environmental Estrogens.** Environmental Toxicology Program, National Institute of Environmental Health Sciences, Research Triangle Park, North. Carolina.
<http://ehpnet1.niehs.nih.gov/docs/1995/Suppl-7/new-bold.html>.
Environmental Health Perspectives 103, Supplement 7, October 1995.
Download: 10 Agustus 2004.
- Nichols, D.J, 1998. **Use of Grass Filter Strips to Reduce estradiol 17-B in Runoff from Fescue-Applied Poultry Litter.** J. Soil and Water Conservation 53(1):74-77. Download: 12 Agustus 2000
- Nokelainen, P. 2000. **Biosynthesis of Estradiol.** Electronic publications from University of Oulu. UNIVERSITY OF OULU, OULU FINLAND ISBN 951-42-5751-0. Download 30 Junin 2003.
- Norris, D.O, 1980. **Vertebrate Endocrinology.** Philadelphia: Lea & Febiger.
- Norris JD, L.A. Paige, and D.J.Christensen, 1999. **Peptide Antagonists of the Human Estrogen Receptor.** Science 285:744-746, 1999
- Palmer, B.D., S.K. Palmer, and K.W. Selcer, 1999. **Effects of Reproductive Endocrine Disruptors on Amphibians.** University of Kentucky, Lexington and Duquesne University, Pittsburgh, PA, USA. Download 28 Juli 2004.
- Paech, K., P. Webb, G.G.J.M. Kuiper, N.F. Gustafson, P.J Kushner. and T.S.Scanlan, 1997. **Deferential Transactivation Properties of The Estrogen Receptor Isotypes (α , β): Estrogen Like Effects with Antiestrogens and Antiestrogen Effects with Estrogen.** Science 277, 1508-1510.
- Pathre, S.V., C.J. Mirocha, 1980. **"Mycotoxins as Estrogens", in Estrogens in the Environment,** Elsevier; North Holland, pg 265-278. http://www.ncbi.nlm.nih.gov:80/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=11460679&dopt=Abstract. Download, 30 Juni 2003.
- Rachmatun, S. 2001. **Nila.** Jakarta: PT. Penebar Swadaya.
- Raloff, J. 1994a. **That Feminine Tough.** Science News, 144, July: 10. Download: Juni 2002
- Raloff, J. 1994b. **The Gender Benders. Are Environmental "Hormones" Emasculating Wildlife?** Science Service, Copyright 1997. Download: Juni 2002
- Raloff, J. 1997. **Estrogen's Emerging Manly Alter Ego.** Science Service. Download: Juni 2002

- Raloff, J. 1998. **Why Did Males Turn Female?** Science Service. Download: Juni 2002
- Raloff, J. 1999. **Pollutan Waits to Smite Salmon at Sea.** The Weekly Newsmagazine of Science, Volume 155, No. 19, May 8, 1999. Dowload: Juni 2002
- Roy, I. 1999. **Identification of Chemicals Feminizing Fish in Lake Mead National Recreation Area.** <http://www2.nature.nps.gov/pubs/yir/yir98/chapter04/chapter04pg5.html> Download: Juni 2001
- Saal, F.S. vom. 2000. **Very Low Doses of Bisphenol A and Ethinyl Estradiol Cause Developmental Abnormalities in Mice.** University of Missouri. Download: 10 Agustus 2004
- Sastrosupadi, A. 2002. **Rancangan Percobaan Praktis untuk Bidang Pertanian.** Jogyakarta: Kanisius.
- Sax, Leonard, 2003. **How Modern Chemicals May Be Changing Human Biology.** The Word & I. <http://www.worldandi.com/copyrights.asp>. Download: 26 Mei 2005
- Scanlon, T.S. 1997. **Evidence for Differing Roles of The Two Estrogen Receptors.** Science 5 Sep 97. <http://scienceweek.com/www.midlife-passages.com/page4.html> Download; 30 Juni 2003
- Schafersman, S. 2000. **Environmental Estrogens As Teratogenic Agents.** Environmental Estrogens and Other Hormones website of the Center for Bioenvironmental Research, 2000. www.utpb.edu/artsci/sci/Assci.htm. Download: 15 September 2001
- Schultz, I. R.A. Skillman, J.M. Nicolas, G. Cyr. Daniel, and J. N. James. 2003. **Short-Term Exposure to 17 α -Ethinylestradiol Decreases the Fertility of Sexually Maturing Male Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*).** Presented at the 21st Annual Meeting of the Society of Environmental Toxicology and Chemistry, November 12–16, 2000, Nashville, Tennessee, USA. Environmental Toxicology and Chemistry, v.22, n.6 Jun03.
- Sjafei, D.S. dkk., 1991. **Fisiologi Ikan II, Reproduksi Ikan.** Bogor: IPB.
- Skipper, J.K and T.H. Hamilton, 1977. **Regulation by Estrogen of the Vitellogenin Gene.** Proc. nati. Acad. Sci. USA 74: 2384-2388.
- Sorensen, P.W., H.L. Schoenfuss, I.L. Adelman, and D.L. Swackhamer, 2001. **Assessing the Effects of Endocrine Disrupter (EDCs) from a St. Paul Sewage Treatment Plant on Sperm Viability and Testicular Developpment in Fish: Adding a New Dimension to an Existing Project.** WRC Research 2001. Download 7 Juli 2004.

- Sparrow K, K.C. Flanders, and J. McLachlan, 1999. **Transforming Growth Factor β 1, β 2, and β 3 messenger RNA and Protein Expression in Mouse Uterus and Vagina during Estrogen Induced Growth: a Comparison to Other Estrogen Regulated Genes and Cell Growth Differentiation.** 5:919-935. Download 1 November 2004.
- Stancel, G.M., 1998. **Toxicity of Endogenous and Environmental Estrogen: What is the Role of Elemental Interaction?** Environmental Health Perspectives, 105, Supplement 7, October 1998. //ehpnet1.niehs.nih.gov/docs/1995/Suppl-7/stan-cel.html. Download: 4 Oktober 2001
- Sumpter, J.P., and S. Jobling, 1995. **Vitellogenesis as a Biomarker for Estrogenic Contamination of the Aquatic Environment.** Environmental Health Perspectives 103, Supplement 7, October 1995. <http://ehpnet1.niehs.nih.gov/docs/1995/Suppl-7/sumpter.html>. Download September 2001
- Tabata, A., S. Kashiwada, Y. Ohnishi, H. Ishikawa, N. Miyamoto, M. Itoh, and Y. Magara, 2001. **Estrogenic Influences of Estradiol-17 β , p-Nonilphenol and Bis-Phenol-A on Japanese Medaka (*Oryzias latipes*) at Detected Environmental Concentration.** Water Sci Technology, 2001, 43 (2): 109-116. Download: 14 Juni 2002.
- Tong, Weida, Roger Perkins, Jie Wu, Leming Shi, Meihua Tu, Hong Fang, Robert Blair, William Branham, Daniel M. Sheehan., 2000. **An Integrated Computational Approach for Prioritizing Potential Estrogenic Endocrine Disruptors.** FDA's National Center for Toxicological Research (NCTR). Download 2 Juli 2004
- Toppari, Jorma, John Chr. Larsen, Peter Christiansen, Aleksander Giwercman, Philippe Granjean, Louis J. Guillette. 1998. **Male Reproductive Health and Environmental Xenoestrogens.** Department of Growth and Reproduction, Juliane Marie Center, National University Hospital, Copenhagen, Denmark. Last update March 31, 1998
- Tzchori, I., A. Hurvitz, M. Summar, G. Degani and B. Moav (2001). **Effects of Estradiol-17 β on Vitellogenin Levels, Growth, and Sex Determination in The European Eel (*Anguilla anguilla*).** Department of Zoology, Tel Aviv university, Tel Aviv 69978, Israel
- Van Der Kraak, G., J. (2001). **Scientific Assessment of Endocrine Disrupting Substances in the Canadian Environment.** Canadian Association on Water Quality Water Quality Research Journal of Canada, 36(2): 171-173 (2001).
- Van Der Kraak, G.J. and A. Lister, 2002. **Mechanisms and Effects of Endocrine Disruption in Fish: Are They Ecologically Relevant?** Department of

Zoology, University of Guelph, Guelph, ON, N1G 2W1. Download 2 Juli 2004.

Watson, C.S., T.C. Pappas, and B. Gametchu, 1995. **The Other Estrogen Receptor in the Plasma Membrane: Implications for the Actions of Environmental Estrogens.** Environmental Health Perspectives 103, Supplement 7, October 1995. [//ehpnet1.niehs.nih.gov/docs/1995/Suppl-7/watson.html](http://ehpnet1.niehs.nih.gov/docs/1995/Suppl-7/watson.html). Download: 4 Oktober 2001

Wegner, F. 2000. **Principles of The Radioimmunoassay**, Wisconsin Regional Primate Research Center.

Windham, B. 2000. **Health, Hormonal, and Reproductive Effects of Endocrine-Disrupting Chemicals in the Food Chain. Introduction: the Rapidly Growing Problem of Endocrine Disrupting Chemicals in the Environment and Food Chain.** Florida League of Conservation Voters Education Fund.

Wilson, K. and K.H. Goulding, 1986. **Principles and Techniques of Practical Biochemistry, Third Edition.** Singapore: Colson, Pte,