Histological structure gill and of the Kidney *Kryptopterus limpok*  at Kampar River and An River Siak Riau Province

By

Hidayat 1) ,Windarti 2) ,Ridwan Manda Putra3)

Faculty of fisheries and Marine science, University of Riau

**Abstract**

Siak River is one of the rivers that has polluted water in Riau. Low water quality in this river is negatively affects the fish living there. To understand other effects of low quality water on fish, a study aims to understand the histological structure of organs of *Kryptopterus limpok* has been conducted. Fish organs (gill and kidney) were processed for histological studied (formalin fixed, alcohol series, HE stained, 6 sliced). The structure of the organs were compared with the organ of fish captured in the Kampar River that has good water quality. Results shown that in general, histological structure of gill and kidney structure of fish from both areas are different. The cell structure of the Siak’s fish shown abnormality, while those of the Kampar fish were normal. Cell abnormality such as hyperplasia, hypertrophy, necrosis, hemorrhage, epithelium lifting and fused lamella are present in the gill of Siak’s fish. Most of lamella fused and there was no space between lamellae. In the kidney of the Siak’s fish, there were damaged glomerulus cells, hemorrhage, kongesti and mineralization. Based on data obtained, it can be concluded that low quality of water in the Siak river causes abnormality in tissue structure of the fish.

*Key word: Kampar and Siak river, Krytopterus limpok, abnormality, Gill, Kidney*

1) Student of the Fisheries and Marine Sciences Faculty, Riau University

2) Lecture of the Fisheries and Marine Sciences Faculty, Riau University

1. **PENDAHULUAN**
	1. **Latar Belakang**

Provinsi Riau merupakan salah satu provinsi yang kaya akan minyak bumi dan sumberdaya alamnya baik itu berupa daratan maupun perairan. Provinsi Riau memiliki lebih kurang 139 pulau, 4 sungai besar dan sejumlah sungai kecil. Sungai besar yang mengalir di Riau antara lain Sungai Siak dan Sungai Kampar. Perairan di Provinsi Riau mempunyai potensi untuk pembangunan di bidang perikanan, yaitu sumberdaya hayati ikan, udang dan biota lainnya. Jika potensi sumberdaya alam tersebut dikelola dengan baik maka peluang keuntungan yang didapat makin besar terutama untuk menambah devisa negara.

Kondisi kualitas perairan Sungai Kampar relatif baik karena di sekitar aliran sungai limbah yang dihasilkan dari aktifitas masyarakat seperti MCK, industri, dan pabrik tidak mempengaruhi kehidupan organisme. Kemungkinan kadar logam berat yang ada di peraiaran masih stabil dan sesuai dengan kondisi organisme yang hidup diperairan tersebut. Hal ini merujuk pada hasil penelitian Erlangga (2007), dimana kadar logam berat dalam badan air yaitu 0,017 ppm . Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kadar logam berat dalam badan air sesuai Peraturan Pemerintah Nomor 82 Tahun 2001 masih di bawah ambang batas nilai baku mutu yaitu 0,03 mg/l (perikanan).

Sedangkan di Sungai Siak sudah mengalami kritis dimana indikator kritis menurut (Departemen PU, 2005) dicirikan dengan adanya penurunan kualitas air dan kuantitas Sungai Siak. Kemungkinan penyebab utama penurunan kualitas Sungai Siak adalah limbah industri, baik industri besar, menengah maupun kecil yang berada disepanjang DAS Siak antara lain industri minyak, industri pengolahan, *sawmill*, industri pulp dan pembuangan sampah (60 % berasal dari rumah tangga). Selain itu tingginya erosi yang disebabkan semakin intesif pengolahan sumber daya alam yang ada di hulu, seperti penebangan liar, penebangan hutan berdasarkan Hak Pengusahaan Hutan (HPH), konversi hutan menjadi kawasan perkebunan besar atau kecil, kegiatan pertambangan dan kegiatan budidaya lainnya. Hal ini bisa dilihat dari hasil penelitian Purnamasari (2012), dimana nilai rata-rata kadar logam berat dalam badan air berkisar antara 0,02727-0,5455 ppm. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kadar logam berat dalam badan air sesuai Peraturan Pemerintah Nomor 82 Tahun 2001 telah melebihi ambang batas nilai baku mutu yaitu sebesar 0,03 mg/l (perikanan).

Selain itu Sungai Siak juga merupakan tempat penampungan berbagai macam limbah dari berbagai kegiatan industri, pertanian, perkebunan, perkotaan, balast kapal dan lain sebagainya, mulai dari hulu sampai hilir. Tercemarnya perairan di Sungai Siak karena limbah yang masuk ke badan perairan relatif banyak, sehingga mengakibatkan perairan tidak bisa menguraikan limbah tersebut (*self purification*). Kondisi tersebut menyebabkan terjadinya perubahan kualitas perairan Sungai Siak (Suwondo *et al.,* 2004). Meskipun kondisi perairan Sungai Siak dan Sungai Kampar ini berbeda, tetapi masih dapat ditemukan beberapa speises ikan yang sama diantaranya ikan selais janggut *(Cryptopterus limpok)*. Dimana ikan selais janggut tergolong jenis ikan air tawar yang hidup secara bebas, digemari masyarakat luas, baik dalam keadaan segar maupun sebagai ikan salai (asap), karena dagingnya yang cukup lezat dan gurih.

Perubahan lingkungan pada suatu perairan sangat mempengaruhi kondisi fisilogis tubuh ikan khususnya insang dan ginjal. Hal ini merujuk pada hasil penelitian Umami (2012), kadar logam berat 0,0176-0,3118 ppm. Dimana struktur jaringan insang udang telah mengalami abnormalitas seperti nekrosis, ruptur filamen insang dan kongesti. Sedangkan hasil penelitian Tresnati (2007), kadar logam berat 0,2 - 0,9 ppm dengan lama pemaparan lebih kurang 84-209 jam. Dimana adanya kelainan struktur jaringan ginjal ikan pari kembang seperti hyperplasia, nekrosis, artrophy, hypertrophy, peradangan glomerulus dan gumpalan darah yang terbentuk pada glomerulus dikarenakan adanya logam berat yang masuk secara terus menerus. Selama ini belum ada informasi tentang perbedaan struktur jaringan tubuh ikan selais yang hidup di kedua sungai tersebut. Berdasarkan hal tersebut, penulis tertarik untuk melakukan penelitian mengenai struktur jaringan insang dan ginjal pada ikan selais (*Cryptopterus limpok)* dari Sungai Siak dan Sungai Kampar.

* 1. **Perumusan Masalah**

Ikan selais janggut (*Cryptopterus limpok)* merupakan salah satu jenis ikan yang bisa dijumpai di perairan Sungai Kampar dan Sungai Siak. Dimana perairan di Sungai Kampar relatif baik di bandingkan perairan di Sungai Siak relatif buruk. Perbedaan kondisi perairan di kedua sungai tersebut dapat mempengaruhi kondisi fisilogis ikan. Berbedanya kondisi fisilogis ikan tersebut akan menyebabkan perbedaan struktur jaringan tubuh ikan, terutama struktur jaringan insang dan ginjal ikan. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian tentang struktur jaringan insang dan ginjal pada ikan selais janggut (*Cryptopterus limpok)* di Sungai Kampar dan Sungai Siak.

**1.3. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan struktur jaringan insang dan ginjal pada ikan selais janggut (*Cryptopterus limpok)* dari Sungai Kampar dan Sungai Siak. Sedangkan manfaat yang diperoleh diharapkan dapat memberikan informasi bagi dunia perikanan khususnya Manajemen Sumberdaya Perairan serta untuk menambah literatur dan juga sebagai pengetahuan tentang struktur jaringan insang dan ginjal pada ikan selais dari Sungai Kampar dan Sungai Siak.

**III. METODE PENELITIAN**

**3.1. Waktu dan Tempat**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei-Agutus 2012 dan tempat pengambilan sampel adalah Perairan Sungai Siak (Desa Tualang) dan Sungai Kampar (Desa Buluh Cina). Pembuatan preparat insang dan ginjal ikan di Laboratorium Terpadu Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau kemudian pembuatan preparat histologi dikirim ke Institut Pertanian Bogor.

**3.2. Bahan dan Alat**

Bahan penelitian terdiri ikan selais dari hasil tangkapan nelayan Sungai Siak dan Sungai Kampar. Ikan yang tertangkap dikasih formalin atau es batu kemudian di bawa langsung Laboratorium Biologi Perikanan dan Laboratorium Terpadu Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau dan Ilmu Kelautan Universitas Riau dan Institut Pertanian Bogor untuk pembuatan preparat histologi kemudian diamati di bawah mikroskop. Bahan untuk pembuatan preparat histologi menggunakan formalin 10% dan 4%, alkohol 35%, 70%, 80%, 90%, 96%, dan alkohol absolut, paraffin dengan titik leleh 58oC, xylol, entellan neu, glycerin + albumin, dan pewarna hematoxylin eosin.

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah cool box, alat bedah,baki, alat bedah, gelas ukur, cawan petri, pipet tetes, mikroskop, objek glass, hot plate, cetakan parrafin, timer, mikrotom, oven, inkubator, staining jar untuk pewarnaan sampel, serta kamera digital.

**3.3. Metode Penelitian**

Metode penelitian ini adalah metode survei dimana perairan Sungai Siak dan Sungai Kampar dijadikan sebagai lokasi survei dan ikan selais dijadikan sampel penelitian. Sedangkan metode pembuatan preparat histologi insang dan ginjal ikan menggunakan metode mikroteknik irisan (sectioning) menurut Bevalender *dalam* Gunarso (1988) yang dimodifikasi oleh Windarti (2011).

**3.4. Prosedur Penelitian**

**3.4.1. Pengambilan Sampel**

Pengambilan sampel dilakukan seminggu sekali selama tiga bulan. Ikan sampel diperoleh dengan cara menangkap langsung dengan bantuan nelayan di Perairan Sungai Kampar dan Sungai Siak dengan menggunakan alat pancing, jaring, dan pengilau. Sampel ikan yang diambil adalah ikan dalam kondisi segar dan utuh dengan ukuran yang bervariasi kemudian diambil insangnya dimasukkan ketabung kecil yang telah diberi formalin 10 %. Pada ginjal ikan diambil dengan cara dibedah dari arah anus ke vertebrae sampai ke belakang operculum kemudian diambil organ perut semuanya dimasukkan ketabung kecil yang telah diberi formalin 10%. Kemudian sampel ikan, insang dan ginjal dibawa ke Laboratorium Biologi Perikanan dan Laboratorium Terpadu Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau. Kemudian sampel insang dan ginjal ikan selais dikirim ke Institut Pertanian Bogor untuk dibuat preparat histologi.

**3.4.2. Pembuatan preparat histologi**

* Ikan dibedah di bagian operculum untuk diambil insang dan dibedah melalui anus ke vertebrae sampai ke belakang operkulum, lalu diambil ginjalnya untuk dijadikan sampel,
* Insang dan ginjal ikan difiksasi dengan formalin 10% selama 24 jam, kemudian dipindahkan ke formalin 4 %
* Setelah difiksasi, selanjutnya melakukan proses dehidrasi yaitu : insang yang telah di fiksasi dipindahkan dalam alkohol bertingkat mulai dari 70%, 80%, 90%, 96% dan absolut masing-masing selama 1 jam
* Sampel dimasukkan dalam alkohol : xylol (1:1) selama 1 jam
* Sampel insang dan ginjal dimasukkan dalam xylol I dan xylol II masing-masing 1 jam
* Sampel insang dan ginjal dimasukkan dalam xylol : paraffin (1:1), paraffin I dan paraffin II masing-masing 1 jam (dilakukan dalam inkubator 60 oC),
* Sampel ditanam dalam paraffin di kertas cetakan dan membiarkannya sampai mengeras,
* Sampel dimasukkan di blok paraffin pada holder atau balok kayu,
* Sampel dipotong dengan mikrotom ketebalan 6 mikron,
* Potongan sampel ditempel pada objek glass yang telah diolesi dengan glyserin albumin,
* Sampel dikeringkan pada oven 45 oC selama 24 jam
* Sampel diwarnai dengan menggunakan haematoxylin dan eosin (HE). Proses pewarnaan dengan menggunakan haemotoxylin dan eosin dengan langkah-langkah sebagai berikut :
	+ Deparaffinasi dengan xylol I dan II masing-masing 2 menit
	+ Sampel dimasukkan kedalam alkohol absolut, 96%, 90%, 80%, 70%, 35% selama 1 menit,
	+ Sampel dimasukkan kedalam haemotoxylin selama 4 menit,
	+ Sampel dicuci dengan air mengalir sampai jernih,
	+ Sampel dimasukkan kedalam eosin selama lebih kurang 2 menit,
	+ Sampel dicuci dengan air mengalir sampai jernih,
	+ Sampel direndam dengan alkohol bertingkat 70%, 80%, 90%, absolut, xylol II dan xylol I masing-masing 20 detik,
* Sampel ditutup dengan cover glass yang ditetesi dengan entellan neu,
* Sampel dikeringkan dalam oven 45 oC selama 48 jam, diamati dan di foto dibawah mikroskop.

Parameter yang diamati adalah: lebar lamella sekunder, jarak antar lamella sekunder serta adanya kelainan pada insang dan ginjal.

**3.5. Pengukuran Kualitas Air**

Pengukuran parameter fisika kimia perairan yang diukur adalah suhu, kecerahan, pH, oksigen terlarut dan karbondioksida bebas. Pengukuran parameter fisika kimia perairan bertujuan untuk melihat kemungkinan terjadinya kisaran parameter dibawah atau diatas standar normal sehingga dapat berpengaruh terhadap kehidupan organisme di perairan. Pengukuran kualitas air seperti pH, suhu, kecerahan, DO dan CO2 dilakukan langsung di lapangan tempat pengambilan sampel.

**a. Suhu**

Pengukuran suhu dilakukan dengan menggunakan DO meter berdasarkan metode penelitian air (Alaerts dan Santika, 1984). DO meter di masukkan ke dalam perairan hingga hingga sensor DO meter tersebut terendam. Selanjutnya, DO meter digerakkan ke atas dan bawah selama beberapa menit hingga menunjukkan hasil dalam bentuk angka dan kemudian dilakukan pencatatan angka dengan satuan oC.

**b. Kecerahan**

Pengukuran kecerahan merujuk pada Alaerts dan Santika (1984) yaitu diukur dengan menggunakan alat bantu yang disebut dengan secchi disk. Alat ini diturunkan ke dalam perairan dan memperhatikan kapan secchi disc mulai tidak terlihat ketika ditenggelamkan dan kapan mulai terlihat pada saat ditarik keatas. Hasil penjumlahan kedua angka tersebut dibagi dua sehingga diperoleh nilai kecerahan perairan.

**c. pH**

Pengukuran pH juga dilakukan dengan menggunakan DO meter berdasarkan metode penelitian air (Alaerts dan Santika, 1984). DO meter di masukkan ke dalam perairan hingga hingga sensor DO meter tersebut terendam. Selanjutnya, DO meter digerakkan ke atas dan bawah selama beberapa menit hingga menunjukkan hasil dalam bentuk angka dan kemudian dilakukan pencatatan angka.

1. **Oksigen Terlarut**

Pengukuran suhu dilakukan dengan menggunakan DO meter berdasarkan metode penelitian air (Alaerts dan Santika, 1984). DO meter di masukkan ke dalam perairan hingga hingga sensor DO meter tersebut terendam. Selanjutnya, DO meter digerakkan ke atas dan bawah selama beberapa menit hingga menunjukkan hasil dalam bentuk angka dan kemudian dilakukan pencatatan angka dengan satuan omg/l.

**e. Karbondioksida Bebas**

Sampel air diambil dengan menggunakan water sampler. Pengukuran karbondioksida bebas menggunakan metode titrasi. Air sampel diambil menggunakan botol sampel 600 ml dan dijaga agar tidak ada gelembung udara. Selanjutnya air sampel dimasukkan kedalam botol ermeyer sebanyak 10 ml. Selanjutnya ditambahkan 3-4 tetes larutan indikator Phenolpthalen, apabila tidak terjadi perubahan warna pink maka dilanjutkan dengan titrasi dengan larutan Na2CO3 sambil diaduk hingga berwarna pink. Jumlah titrasi yang dipakai dicatat dan dimasukkan kedalam rumus:

**Karbondioksida Bebas (mg/l) = *AxNx22x1000***

 ***V***

Dimana : A = Banyaknya Na2CO3 yang dipakai

 N = Normalitas (0.0454 N)

 V = Volume sampel air (100 ml)

**3.6. Analisis data**

Data yang dianalisis dalam penelitian ini adalah lebar lamella sekunder, jarak antar lamella sekunder, adanya kelainan pada insang dan ginjal dilihat secara deskriptif.

**IV. HASIL DAN PEMBAHASAN**

**4.1. Keadaan Umum Lokasi Penelitian**

**4.1.1. Desa Buluh Cina (Sungai Kampar)**

 Desa Buluh Cina merupakan desa pariwisata yang ada di Kecamatan Siak Hulu dimana jarak ke ibu kota provinsi lebih kurang 30 km melalui jalur darat. Luas daerahnya 11.251 ha, yang terdiri dari 11.065,93 ha daratan dan 184,07 ha perairan umum. Desa Buluh Cina ini dialiri oleh Sungai Kampar dimana letak geografisnya 0o16’21” LS – 0o23’30” LS dan 101o27’44” BT - 101o33’25” BT, dengan batas wilayah sebagai berikut; sebelah utara berbatasan dengan Desa Baru, sebelah selatan berbatasan dengan Kampar Kiri, sebelah timur berbatasan dengan Desa Pangkalan Baru, dan sebelah barat berbatasan dengan Desa Lubuk Siam (Kantor Desa Buluh Cina, 2006).

 Lokasi pengambilan sampel ikan selais janggut dilakukan di Sungai Kampar Kiri, dimana sewaktu mencari ikan dibantu oleh nelayan setempat dengan menggunakan alat tangkap berupa jaring, pengilau dan pancing. Pengambilan sampel ikan selais ini diiringi dengan mengukur kualitas air. Sampel ikan yang diambil untuk penelitian ini adalah 8 ekor. Dari 8 ekor ikan, organ insang dan ginjal ikan diambil untuk pembuatan preparat histologi yang kemudian sampel tersebut dikirim ke Institut Pertanian Bogor.

**4.1.2. Desa Tualang (Sungai Siak)**

 Desa Tualang merupakan salah satu desa di Kecamatan Tualang (Perawang) Kabupaten Siak yang dialiri oleh Sungai Siak. Letak geografisnya 0o 21’0o LU dan 0o 23’60o LU dan 101o36’BT-102o25’ BT dengan batas wilayah sebagai betikut; sebelah utara berbatasan dengan Desa Pinang Sebatang, sebelah selatan dengan Desa Maredan, sebelah barat dengan desa Minas dan sebelah timur berbatasan dengan Desa Lubuk Dalam (Kantor Desa Tualang, 2006).

 Lokasi pengambilan sampel ikan selais janggut dilakukan di Sungai Siak Bagian hilir daerah Perawang yaitu Desa Tualang. Dimana sewaktu mencari ikan dibantu oleh nelayan setempat dengan menggunakan alat tangkap berupa jaring, pengilau dan bubu. Pengambilan sampel ikan selais ini diiringi dengan mengukur kualitas air. Sampel ikan yang diambil untuk penelitian ini adalah 8 ekor. Dari 8 ekor ikan, organ insang dan ginjal ikan diambil untuk pembuatan preparat histologi yang kemudian sampel tersebut dikirim ke Institut Pertanian Bogor.

**4.2. Struktur Jaringan Insang Ikan Selais**

Struktur jaringan insang di Sungai Kampar dan Sungai Siak sangat berbeda. Struktus jaringan insang di Sungai Kampar masih normal sedangkan struktur jaringan insang di Sungai Siak mengalami abnormalitas. Perbedaan struktur jaringan insang dapat dilihat pada gambar dibawah ini.



**Gambar 1. Struktur Jaringan Insang Ikan Selais Janggut di Sungai Siak**

Struktur jaringan insang ikan yang ada di Sungai Kampar normal (Gambar 1A). Dimana Struktur jaringan insang ini masih terlihat bagian-bagiannya seperti lamella sekunder, pembuluh darah dan tulang kartilago. Jarak antar lamella sekunder dengan lamella sekundernya tidak menyatu sedangkan lebar lamella sekunder tidak jauh berbeda dengan lamella sekunder lainnya dan juga susunan struktur lamella sekunder masih berjajar rapi. Pada pembuluh darah tidak ada sel darah yang keluar dari tempatnya, sedangkan cartilago masih menyokong struktur lamella primer dan lamella sekunder. Selain itu tidak terlihat kelainan struktur insang ikan seperti proliferasi sel, penebalan sel, hyperplasia, hypertropi, dan hemoragi (pendarahan). Hal ini sesuai dengan pendapat Yonkos *et al*., (2003) yang menyatakan bahwa lamella primer

insang disokong oleh tulang rawan dan setiap bagian lengkung insang dibungkus oleh epithelium yang berperan dalam memproduksi mukosa. Sel mukosa umumnya terdapat didasar lamella sekunder menghasilkan lapisan mukus yang mengurangi pengikisan, infeksi bakteri dan membantu mengurangi gesekan.

Struktur insang ikan dari Sungai Kampar ini diperkirakan masih menunjang proses respirasi dengan baik. Kondisi respirasi yang baik karena kualitas air di Sungai Kampar relatif baik. Data pada Tabel 1 menunjukkan bahwa kualitas air di Sungai Kampar di Desa Buluh Cina masih baik, di mana DO 5,23 – 6,42 mg/l , CO2 12,45 – 17,01 mg/l, pH 5,7 – 6 , kecerahan 86 – 124 cm dan suhu 28 – 30 oC dan juga kadar logam berat di Sungai Kampar masih diambang batas baku mutu yaitu berkisar 0,017 mg/l. Kualitas perairan tersebut termasuk golongan III yaitu cocok untuk perikanan, sesuai Peraturan Pemerintah No.82 tahun 2001.

Sedangkan struktur jaringan insang ikan di Sungai Siak mengalami abnormalitas (Gambar 1B). Dimana struktur jaringan insang ikan tidak terlihat lagi dengan jelas karena struktur lamella sekunder telah menyatu dengan lamella sekunder lainnya dan juga jarak antar lamella sekunder dengan lamella tidak terlihat lagi jaraknya begitu juga pada lebar lamellanya. Struktur lamella seperti ini mengakibatkan struktur lamella insang ikan tidak beraturan. Pada pembuluh darah, sel darah tidak pada tempatnya lagi. Dimana sel darah telah keluar mengenai struktur lamella sekunder yang menyatu tersebut kemungkinan ini diduga struktur insang ikan telah mengalami pendarahan. Pada strukrur jaringan lamella insang ikantersebut dijumpai nekrosis (sel mati), hemoragi (pendarahan), epitelial lifting (epithelium terangkat), hyperplasia (sel menjadi banyak), hypertrophi (sel membesar), dan banyaknya lamella yang mengalami peleburan sel (fuse). Perubahan struktur insang ikan seperti ini dapat mempengaruhi proses respirasi pada ikan sehingga ikan akan mengalami stres dan kematian. Hal ini sesuai dengan pendapat (Hoole *dalam* Supriyono, 2010) yang menyatakan bahwa kondisi seperti hiperplasia, hipertrophi, edema dan peningkatan sel penghasil mukus akan mengurangi efisiensi difusi gas dan dapat berakibat fatal atau kematian. Kejadian yang lebih fatal dapat terjadi apabila poliferasi sel-sel lamella sekunder telah bersifat kronis.

Terjadinya kelainan struktur jaringan insang ikan selais di Sungai Siak kemungkinan kualitas perairan tersebut relatif buruk dikarenakan banyaknya aktfitas masyarakat seperti adanya galangan kapal, indutri pabrik, MCK, yang menghasilkan limbah yang berbahaya. Adanya aktifitas tersebut menyebabkan terjadinya pencemaran di sungai tersebut yang mengakibatkan besarnya tingkat toksiksitas di perairan dan kemungkinan timbulnya kadar logam berat yang cukup tinggi. Hal ini bisa dilihat dari hasil penelitian Purnamasari (2012), dimana nilai rata-rata kadar logam berat berkisar antara 0,02727-0,5455 ppm. Dengan demikian kadar logam berat di Sungai Siak telah melewati ambang batas yang ditentukan dalam PP No. 82 tahun 2001 (untuk kegiatan perikanan) yaitu, 0,03 ppm. Kendati demikian struktur jaringan insang ikan selais di Sungai Siak mungkin mengalami dampak negatif dari keberadaan logam berat diperairan tersebut sehingga struktur jaringan insang berubah. Hal ini merujuk pada hasil penelitian Erlangga (2007) menyatakan bahwa konsentrasi logam berat Pb di insang berkisar antara 0,0214-0,0309 ppm. Struktur jaringan pada insang ikan baung adanya kelainan seperti nekrosis, mineralisasi, degenerasi sel, deformasi sel, hypertrophi dan adanya pembengkakan. Simaremare (2008) menyatakan bahwa konsentrasi deterjen 5,8229 –23,2916 mg/l struktur jaringan insang menunjukkan adanya kelainan seperti hipertropi, hyperplasia, hemoragi, nekrosis dan fuse lamella.

Perbedaan kondisi insang ikan di Sungai Kampar dan di Sungai Siak dapat dilihat pada gambar dibawah ini yaitu lebar dan jarak lamella sekunder.

**Gambar 2. Lebar dan Jarak Antar Lamella Insang Ikan Selais Janggut**

Dari Gambar 2 di atas ini dapat dilihat bahwa lebar lamella insang di Sungai Kampar lebih kecil dibandingkan dengan lebar insang di Sungai Siak, sedangkan jarak antar lamella di Sungai Kampar relatif besar dibandingkan dengan jarak antar lamella di Sungai Siak.Lebar dan jarak antar lamella insang di Sungai Kampar masih bagus karena tidak adanya perubahan struktur pada lamellanya. Dimana struktur lamella sekunder tidak menyatu dengan lamella sekunder lainnya dan di antara lamella-lamella tersebut lebar lamella sekunder berkisar 0,015 mm dan jarak berkisar 0,028 mm. Struktur lamella seperti inilah kemungkinan yang mendukung proses respirasi dengan baik karena air dapat mengalir melalui celah-celah antar lamella, sehingga oksigen dapat menyentuh epithelium pada lamella sekunder dan terjadi proses pemasukan O2 kedalam tubuh. Hal ini dikarenakan Insang berbentuk lembaran-lembaran tipis berwarna merah muda dan selalu lembap. Bagian terluar dari insang berhubungan dengan air, sedang bagian dalam berhubungan erat dengan kapiler-kapiler darah. Tiap lembaran insang terdiri dari sepasang filamen dan tiap filamen mengandung banyak lapisan tipis (lamela). Pada filamen terdapat pembuluh darah yang memiliki banyak kapiler, sehingga memungkinkan O2 berdifusi masuk dan CO2 berdifusi keluar. Lancarnya proses respirasi ini menunjukkan bahwa ikan tersebut sehat sehingga dapat melakukan aktifitas dengan baik. Hal ini sesuai dengan Bond (1979) yang menyatakan bahwa pada saat darah mengalir di dalam lakuna insang maka akan terjadi proses pengambilan O2 dan pengeluaran CO2.

Bagian dari lamella sekunder yang paling luar adalah lapisan epithelium yang membungkus lamella sekunder. Pada lamella sekunder terdapat sel-sel pilar yang menyangga struktur lamella dan diantara sel-sel pilar terdapat ruang-ruang kosong (lakuna) yang dapat digunakan untuk lalu lalangnya darah ikan. Darah yang sudah mengandung O2 akan menuju saluran yang akan membawa darah keluar dari insang, yaitu arteri efferent. Selanjutnya darah menuju ke arteri effernt pada lengkung insang dan kemudian darah akan disebarkan ke seluruh tubuh.

 Pada lamella insang ikan di Sungai Siak telah mengalami abnormalitas, yaitu lamella sekunder menyatu dengan lamella sekunder lainnya dan di antara lamella-lamella tersebut lebar berkisar 0,02 mm dan jarak berkisar dan 0,01 mm. Hal ini terjadi karena adanya kelainan pada insang seperti hyperplasia, hypertrophi, nekrosis, hemoragi dan lamella yang melebur. Akibatnya lamella sekunder menjadi lebar dan jarak antar lamella menjadi sempit, bahkan tidak ada jarak karena lamella tersebut melebur. Dengan kondisi lamellla yang melebur, fungsi insang dalam pengambilan O2 dan pengeluaran CO2 menjadi terganggu, sehingga proses respirasi menjadi terganggu. Terganggunya proses respirasi karena adanya hambatan pada saat air yang masuk ke insang melalui rongga mulut dan celah mulut menutup. Kemudian air dalam mulut mengalir melalui celah-celah insang dan menyentuh lembaran-lembaran insang. Pada tempat ini terjadi pertukaran udara pernapasan. Darah melepaskan CO2 ke dalam air dan mengikat O2 dari air tidak berjalan dengan baik. Kelainan pada lamella ini berdampak pada pernafasan insang ikan yang sulit untuk bernafas dan juga ikan akan mengalami stres, pusing, lemas dan akhirnya berujung pada kematian karena kekurangan O2 di dalam tubuh. Seandainya ada O2yang masuk ke dalam insang, kemungkinan O2 tersebut tidak dapat didistribusikan dengan baik karena darah tidak dapat mengalir dengan lancar akibat kelainan pada insang tersebut.

**4.3. Struktur Jaringan Ginjal Ikan Selais** **dari**  **Sungai Siak dan Kampar**

Struktur jaringan ginjal di Sungai Kampar dan Sungai Siak sangat berbeda. Struktur jaringan ginjal ikan di Sungai Kampar masih normal sedangkan struktur jaringan ginjal ikan di Sungai Siak telah mengalami abnormalitas. Perbedaan struktur jaringan ginjal ikan dari kedua lokasi penelitian dapat dilihat pada gambar dibawah ini.

****

**Gambar 3. Struktur Jaringan Ginjal Ikan Selais Janggut di Sungai Kampar (A) dan Sungai Siak (B)**

Struktur jaringan ginjal ikan dari Sungai Kampar masih normal (Gambar 3A). Dimana struktur jaringan ginjal ikan menunjukkan bahwa glomerulus dan kapsula bowman masih normal. Bentuk dari struktur glomerulus dan kapsula bowman tidak berbeda dengan struktur glomerulus dan kapsula bowman lainnya. Pada struktur ginjal ikan ini tidak dijumpai sel darah yang keluar mengenai glomerulus dan kapsula bowman. Struktur glomerulus dan kapsula bowman normal maka kinerja dari ginjal ikan tersebut menjadi lancar. Hal ini dapat dijelaskan oleh Takashima dan Hibiya (1995), yang menyatakan bahwa glomerulus yang tersusun dari kapiler darah berfungsi sebagai penyaring selektif dari darah terutama dalam penyaringan darah normal. Setelah melalui penyaringan pada glomerulus kemudian direabsorpsi pada tubulus yang menghasilkan urine pada keadaan normal sebagai hasil sekresi (Siregar dalam Tresnati, 2007). Glomerulus merupakan filter yang menyaring air dan materi cair lain. Plasma dan materi lainnya akan memasuki ruangan diantara dinding capsula bowman dan masuk ke tubula ginjal, disinilah materi-materi yang guna akan diserap kembali dan materi yang tak berguna akan dibuang bersama urine (Bond, 1979) .

Sedangkan struktur jaringan ginjal ikan dari Sungai Siak diatas telah mengalami abnormalitas (Gambar 5A). Pada ginjal ikan tersebut terdapat kelainan berupa kongesti, nekrosis, hemoragi, mineralisasi, sel glomerulus yang rusak dan sel radang. Adanya abnormalitas pada ginjal dapat menyebabkan fungsi dari ginjal itu terganggu dalam menyaring atau menetralisir bahan yang masuk kedalam tubuh tidak akan optimal. Kemungkinan kelainan pada ginjal ikan di peraiaran Sungai Siak tersebut tercemar, karena pada saat bahan pencemar yang masuk kedalam ginjal akan terjadi penumpukkan bahan yang berbahaya seperti logam berat yang dihasilkan oleh limbah industri dan lainnya. Apabila ginjal tersebut mentolerir bahan pencemar terus-menerus. Maka berangsur-angsur ginjal itu mengalami kerusakan sehingga ginjal tidak berfungsi lagi dengan baik. Hal ini menyebabkan terganggunya fisiologi ikan tersebut sehingga menglami stress dan berujung kepada kematian. Hal ini sesuai dengan penelitian Tresnati (2007) yang menyatakan bahwa pada konsentrasi paparan logam berat timbel Pb 0,2 - 0,9 ppm dengan lama pemaparan lebih kurang 84-209 jam adanya kerusakan struktur jaringan histologi ginjal ikan pari kembang seperti hyperplasia, nekrosis, artrophy, hypertrophy, peradangan glomerulus dan gumpalan darah yang terbentuk pada glomerulus dikarenakan adanya logam berat yang masuk secara terus menerus. Erlangga, (2007) menyatakan bahwa konsentrasi logam berat Pb di ginjal berkisar antara 0,0257 s/d 0,0338 ppm. Dimana terjadinya perubahan struktur jaringan ginjal seperti nekrosis, pendarahan, kerusakan glomerulus, mineralisasi dan terjadi sel radang pada ginjal ikan baung.

**4.4. Kualitas Air**

Hasil pengukuran kualitas air di Sungai Kampar dan Sungai Siak dapat dilihat pada Tabel 1 dibawah ini.

**Tabel 1. Hasil Pengukuran Kualitas Perairan selama penelitian**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **No.** | **Parameter** | **Satuan** | **Sungai Kampar** | **Sungai Siak** |
| **I.**1.2. | **Fisika**SuhuKecerahan | 0CCm | 28-3086-124 | 28-2945-75 |
| **II.**1.2.3. | **Kimia**pHDOCO₂ Terlarut | mg/lmg/l | 5,7-65,23-6,4212,45-17,01 | 4,5-4,72,43-2,7522,5-30,86 |

Sumber : *Data Primer*

Hasil pengukuran suhu di Sungai Kampar 28 – 30 oC dan Sungai Siak 28 - 29 oC. Suhu di kedua peraiaran tersebut tidak begitu jauh berbeda. Karena kedua sungai tersebut terletak di daerah tropis, suhu tersebut masih layak untuk mendukung kehidupan organisme. Hal ini sesuai dengan pendapat Boyd (1979) yang menyatakan bahwa suhu perairan di daerah tropis berkisar antara 25-32 oC dan masih layak untuk kehidupan organisme.

Derajat keasaman sangat berpengaruh pada kelangsungan hidup suatu organisme. Hasil pengukuran pH di Sungai Kampar 5,7 – 6 dan di Sungai Siak berkisar 4,5 – 4,7. pH di Sungai Kampar lebih tinggi di bandingkan dengan pH di Sungai Siak. Akan tetapi pH di kedua sungai tersebut masih layak untuk kelangsungan organisme terutama ikan selais janggut . Hal ini dijelaskan Elvyra *dalam* Sinaga (2011) yang menyatakan bahwa pH yang cocok untuk kehidupan ikan selais janggut berkisar 5,5 - 6,0.

Hasil pengukuran kecerahan di Sungai Kampar 86 – 124 cm dan di Sungai Siak 45 – 75 cm. Kecerahan di Sungai Kampar lebih tinggi di bandingkan dengan Sungai Siak. Tetapi kecerahan di kedua sungai tersebut masih layak untuk kehidupan organisme. Hal ini sesuai dengan pernyataan (Setijanto *dalam* Sinaga ,2011) bahwa nilai kecerahan yang lebih besar dari dari 45 cm masih baik untuk kehidupan organisme. Boyd (1982) menyatakan bahwa peraiaran dengan kecerahan > 60 cm dianggap sangat baik untuk produktifitas perairan dan ini sangat mendukung kelangsungan hidup ikan dan organisme akuatik lainnya. Namun diantara kedua sungai tersebut kecerahannya masih cocok untuk kelangsungan hidup organisme akuatik.

Hasil pengukuran oksigen terlarut (DO) di Sungai Kampar 5,23 – 6,42 mg/l dan di Sungai Siak 2,43 – 2,75 mg/l. Konsentrasi oksigen terlarut berdasarkan PP.No.82 tahun 2001 untuk perikanan adalah 3 mg/l. Oksigen terlarut di Sungai Kampar lebih bagus dari pada di Sungai Siak. Kemungkinan di Sungai Kampar relatif sedikit bahan tercemar diperaiaran. Hal ini sesuai dengan data kualitas air Yanti (2012), dimana DO 2,1- 6 mg/l masih berada di atas ambang batas baku mutu yang di peruntukkan. Efendi *dalam* Purnamasari (2011) yang menyatakan bahwa kadar oksigen terlarut yang menurun akan menyebabkan toksisitas dari logam tembaga dan seng akan meningkat. Begitu juga sebaliknya jika oksigen terlarut naik maka toksisitas diperaiaran akan menurun. Akan tetapi kondisi lingkungan sangat menentukan besar kecilnya kadar logam tersebut. Sebaliknya di Sungai Siak oksigen terlarutnya lebih rendah yaitu berkisar antara 2,43 -2,75 mg/l. Kemungkinan aktifitas relatif besar menghasilkan limbah dari pabrik dan industri.

Hasil pengukuran karbondioksida bebas (CO2) di Sungai Kampar 12,45 – 17,01 mg/l dan di Sungai Siak 22,5 – 30,86 mg/l . Konsentrasi karbondioksida terlarut di Sungai Kampar lebih rendah dibandingkan di Sungai Siak. Akan tetapi konsentrasi CO2 di kedua Sungai tersebut sudah melebihi kapasitas untuk hidup hewan air. Hal ini dapat dijelaskan Asmawi (1983) yang menyatakan bahwa kadar CO2 yang dikehendaki ikan adalah tidak lebih dari 12 ppm dengan kandungan O2 terendah adalah 2 ppm . Hal ini sesuai dengan pendapat dengan Boyd (1982) yang menyatakan bahwa perairan yang di peruntukkan untuk perikanan sebaiknya mengandung konsentrasi CO2 bebas tidak kurang dari 5 mg/l. Sedangkan konsentrasi CO2 bebas yang lebih dari 12 mg/l masih dapat ditolerir oleh organisme asal didiukung oleh konsentrasi oksigen terlarut yang tinggi.

**V. KESIMPULAN DAN SARAN**

**5.1. Kesimpulan**

Struktur jaringan insang dan ginjal ikan selais janggut dari Sungai Kampar dan Sungai Siak berbeda. Struktur jaringan insang dan ginjal ikan selais di Sungai Kampar masih normal. Struktur jaringan insang ikan selais normal dapat dilihat pada insang ikan tersebut masih terlihat jarak antar lamella sekunder tidak menyatu dengan lamella sekunder lainnya. Selain itu tidak terlihat adanya kelainan struktur insang seperti proliferasi sel, penebalan sel, hyperplasia, hypertropi, dan hemoragi (pendarahan). Begitu juga dengan struktur jaringan ginjal ikan selais janggut juga normal. Dimana glomerulus dan kapsula bowman masih terlihat normal. Bentuk sel glomerulus dan kapsula bowman tidak menyatu dengan lainnya dan juga sel darah yang ada pada ginjal ikan tidak mengalami pendarahan.

 Sedangkan pada struktur jaringan insang dan ginjal ikan selais di Sungai Siak telah mengalami abnormalitas. Dimana bentuk lamella sekunder telah menyatu dengan lamella lainnya mengakibatkan struktur lamella insang tidak beraturan. Kemudian pada struktur jaringan insang ikan tersebut dijumpai adanya nekrosis (sel mati), hemoragi (pendarahan), epitelial lifting (epithelium terangkat), hyperplasia, hypertrofi, dan banyak lamella yang mengalami peleburan sel (fuse). Begitu juga dengan ginjal ikan terdapat kelainan pada glomerulus dan kapsula bowman mengalami kerusakan dan juga kelainan lainnya seperti kongesti, nekrosis, hemoragi, mineralisasi, sel glomerulus yang rusak dan adanya sel radang.

**5.2. Saran**

Dalam penelitian selanjutnya dilakukan penelitian untuk melihat kerusakan struktur organ internal lainnya seperti pada hati, usus, lambung dan jantung agar dapat memberikan informasi yang lebih lengkap tentang jaringan organ tubuh ikan selais janggut.

**DAFTAR PUSTAKA**

Alaerts, S. G. dan S.S. Santika. 1984. Metode Penelitian Air. Usaha Offset Printing. Surabaya. 309 hal.

Asmawi. S., 1983. Pemeliharaan Ikan Dalam Keramba. Gramedia. Jakarta. 82 hal.

Asriadi, 1983. Jenis – jenis ikan yang terdapat di Danau Sikuran, Kecamatan Cerenti. Kertas Karya. Fakultas Perikanan Universitas Riau, Pekanbaru. 73 hal. (tidak diterbitkan).

Bappeda Tingkat II Kampar, 1997. Kampar Dalam Angka 1997. Pemerintah Daerah Tingkat II Kabupaten Kampar, Bangkinang. 15 Hal.

Boyd, C. E. 1982. Water Quality Management Fish Culture. Elsevier Scientific Publishing Company. New York. 420 pp.

Departemen Pekerjaan Umum. 2005. Seminar Penyelamatan dan Pelestarian DAS Siak, Penataan Ruang Daerah Aliran Sungai (DAS) Siak Provinsi Riau. 13 hal Djuanda, T. 1981. Dunia Ikan. Penerbit Armico. Bandung. 190 halaman.

Dinas Pekerjaan Umum 2005. Penataan Ruang Daerah Aliran Sungai (DAS) Siak Provinsi Riau. (Seminar Penyelamatan dan Pelestarian DAS Siak) Pekanbaru, 6 Agustus 2005.

Efrizal, T., 1999.Kualitas Air Sungai Siak Ditinjau dari Aspek Fisika Kimia dan Struktur Komunitas Plankton. Lembaga Penelitan Universitas Riau. Pekanbaru. 31 halaman(tidak diterbitkan).

Effendi, H., 2003. Telaah Kualitas Air. Bagi Pengelolaan Sumber Daya dan Lingkungan Perairan. Penerbit Kanisius, Yogyakarta 258 halaman.

Erlangga. 2007. Efek Pencemaran Perairan Sungai Kampar di Provinsi Riau terhadap ikan baung (*Hemibagrus nemurus*). (Tesis). Sekolah Pasca Sarjan IPB. Bogor.

Fardiaz, S., 1992. Polusi Air dan Polusi Udara. Kanisius, Yogyakarta. 118 hal.

Fujaya, Y. 2004. Fisiologi Ikan Dasar Pengembangan Teknik Perikanan. Rineka Cipta. Jakarta. 179 halaman.

Hamidy, Y. 1983. Identifikasi dan inventarisasi jenis – jenis ikan di Sungai Siak, Riau. Pusat Penelitian Universitas Riau, Pekanbaru. 63 hal. (tidak diterbitkan).

Harahap, S..,2000. Analisis Kualitas Air Sungai Kampar dan Identifikasi Bakteri patogen di Desa Pongkai dan Batu Bersurat Kecamatan Kampar Kabupaten Kampar . Pusat Penelitian Universitas Riau. Pekanbaru 33 hal(tidak diterbitkan.)

Kordi, K. M. G., 1994. Parameter Kualitas Air. Karya Anda, Ujung Pandang. 55 halaman

Kottelat, M. A., Whitten, S. N., Kartikasari dan S. Wirjoatmoko. 1993. Freshwater Fishes of Western Indonesia and Sulawesi. Periplus Edition. Jakarta. 239 hal.

Lesmana, D.S.,2001. Kualitas Air Ikan Tawar. Penerbit Penebar Swadaya, Jakarta 88 hal

Lukistyowati, I.; Windarti; Riauwaty, M. 2005. Study efektivitas ekstrak bawang putih (*Allium sativum*) untuk mencegah dan mengobati penyakit MAS pada ikan mas (*Cyprinus carpio*). Laporan Penelitian. Lembaga Penelitian UNRI. Tidak diterbitkan.

.

Mulyadi, A. 2005. Hidup Bersama Sungai. Kasus Provinsi Riau. Penerbit Unri Press. Pekanbaru. 136 halaman.

Nugroho, F dan Darwin. 1995. Kragaman Usaha Perikanan, kendala dan Prospek Pengembangannya Di Daerah Aliran Sungai (DAS) Kampar. Lembaga Penelitian Universitas Riau, Pekanbaru. 88 hal.(tidak diterbitkan).

Pemerintah Provinsi Riau. 2006. Profil Riau.www.riau.go.id/ index. php?module=articles and funcs=display&aid=147 dikunjungi pada tanggal 18 Maret 2009

Pulungan, C. P. 1985. Morphometrik Ikan Selais Siluroidea dari perairan Kecamatan Kampar Kiri, Kabupaten Kampar, Riau. Pusat Penelitian Universitas Riau, Pekanbaru. 54 hal. (tidak diterbitkan)

Purnamsari, I. 2011. Skripsi. Kandungan logam berat pb, cu dan zn pada air, sedimen udang Galah (Macrobranchium Sp), Diperairan Sungai Siak Sekitar Desa Teluk Mesjid Kecamatan Sungai Apit Kabupaten Siak Kabupaten Siak. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau. Pekanbaru. 66 halaman

Sampurno, Suwondo, Aras, M Adriman, Eriyanti, y dan Nedi, S., 1999. Studi Analisis Kualitas Perairan Sungai Siak Kota Madya Pekanbaru. Provinsi Riau. Bappelda TK.I Riau dan PPLH UNRI. Pekanbaru.

Simaremare, Riko. J. E. 2008. Skripsi. Struktur Histologi Insang Ikan Mas (Cyprinus carpio L) yang Dipaparkan Pada Air Deterjen Rinso. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau. Pekanbaru. 69 hal.

Sinaga , F. 2011. Skripsi. Hubungan Antara Kualitas Air Dengan Distribusi Ikan Selais Di Danau Baru Desa Buluh Cina Kecamatan Siak Hulu Kabupaten Kampar Provinsi Riau, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau. Pekanbaru.48 halaman.

Siregar, M. M. 1983. Jenis – jenis ikan yang tertangkap di perairan umum Kecamatan kampar. Kertas karya. Fakultas Perikanan Universitas Riau, Pekanbaru. 61 hal. (Tidak diterbitkan).

Supriyono, E, Budiyanti, Budiarti, T. 2010. Respon Fisiologi Benih Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttans*) Terhadap Pengguanaan Minyak Sereh dalam Transportasi Tertutup dengan Kepadatan Tinggi. Ilmu Kelauatan15 (2): 103-112.

Susanto, H. 2004. Budidaya Ikan di Pekarangan. Penebar Swadaya. Jakarta. 150 hal.

Takashima F, T Hibiya. 1995. An Atlas Of Fish Histology normal and pathological features. 2nd edition. Kodansha. Tokyo

Tresnati J, Djaward MI, Bulqys AS. 2007. Kerusakan Ginjal Ikan Pari Kembang *(Dasyatis kuhlii*) yang diakibatkan oleh logam berat Timbal (Pb). J Sains Teknol 7 (3): 153-160.

Umami F, Wisanti, Yuliani, 2012. Kerusakan Insang dan PertumbuhanUdang Windu (*Penaeus monodon fab.*) di Tambak Keputih Surabaya yang Tercemar Logam Timbal (Pb).

Wardoyo, S. T. H. 1981**.** Kriteria Kualitas Air untuk Keperluan Pertanian dan Perikanan Training. Analisis Dampak Lingkungan PPLH-UNDP-PUSDI-PSL, IPB Bogor. 40 halaman.

Wikipedia Perikanan Indonesia. 2010. http//www.wikipedia.com.Dikunjungi 16 Oktober 2010.

Windarti. 2011. *Fisiologi Hewan Air.* Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau. Pekanbaru.

Windarti. 2011. *Penuntun Pratikum Histologi.* Diktat. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau. Pekanbaru. (tidak diterbitkan).

Yanti. 2012. Skripsi. Studi Komparatif Morfometrik dan Pola Pertumbuhan Ikan Selais Ompok *(Ompok hypopthalmus)* di Perairan Sungai Siak dan Sungai Kampar Provinsi Riau. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau. Pekanbaru.

Yonkos, L. T; R.R. Chuessel; A.S. Kane; and D.J. Fisher, 2033. Atlas of Fatched Minnow Normal Histology. University of Virginia. <http://aquaticpath.umd.edu/fhm/index.html>. Internet 20 September 2012.