

**DENSITAS DAN INTENSITAS METALLOTHIONEIN YANG TEREKSPRESI
PADA LAMBUNG TIRAM (*Crasostrea cucullata*) DI PANTAI PRENDUAN,
KABUPATEN SUMENEP, JAWA TIMUR**

**LAPORAN SKRIPSI
PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN**

Oleh :

SHINTA HIFLINA YUNIARI

NIM. 115080101111003



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2015

**DENSITAS DAN INTENSITAS METALLOTHIONEIN YANG TEREKSPRESI
PADA LAMBUNG TIRAM (*Crasostrea cucullata*) DI PANTAI PRENDUAN,
KABUPATEN SUMENEP, JAWA TIMUR**

**LAPORAN SKRIPSI
PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan
di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya**

**Oleh :
SHINTA HIFLINA YUNIARI
NIM. 115080101111003**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2015**

SKRIPSI

DENSITAS DAN INTENSITAS METALLOTHIONEIN YANG TEREKSPRESI
PADA LAMBUNG TIRAM *Crasostrea cucullata* DI PANTAI PRENDUAN,
KABUPATEN SUMENEP, JAWA TIMUR

OLEH :

SHINTA HIFLINA YUNIARI

NIM. 115080101111003

telah dipertahankan didepan penguji
pada tanggal 26 Maret 2015
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

SK Dekan No. :

Tanggal :

Dosen Penguji I

Prof. Ir. Yenny Risiani, DEA, Ph.D

NIP. 19610523 198703 2 003

Tanggal:

Dosen Penguji II

Ir. Herwati Umi S. MS

NIP. 19520402198003 2 001

Tanggal :

Menyetujui,

Dosen Pembimbing I

Dr. Asus Maizar S.H., S.Pi., MP

NIP. 19720529 200312 1 001

Tanggal:

Dosen Pembimbing II

Dr. Yuni Kilawati, S.Pi., M.Si

NIP.19730702 200501 2 001

Tanggal :

Mengetahui,
Ketua Jurusan

Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS

NIP.19620805 1986032 001

Tanggal:

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam laporan skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

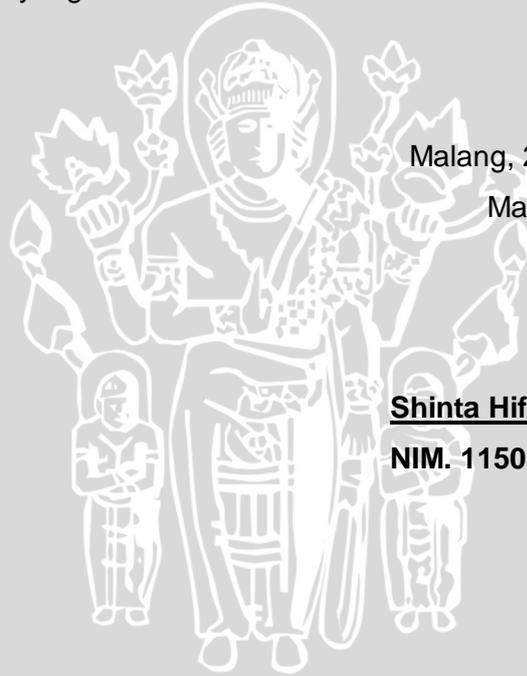
Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan laporan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, 26 Maret 2015

Mahasiswa

Shinta Hiflina Yuniari

NIM. 11508010111003



RINGKASAN

Shinta Hiflina Yuniari. Densitas Dan Intensitas Metallothionein yang Terekspresi pada Lambung Tiram (*Crasostrea cucullata*) di Pantai Prenduan, Kabupaten Sumenep, Jawa Timur. (di bawah bimbingan **Dr. Asus Maizar S.H., Spi, MP** dan **Dr. Yuni Kilawati S.Pi., M.Si**)

Perairan yang mengandung logam berat diduga akan mempengaruhi densitas dan intensitas pada *Crasostrea cucullata* yang ekspresi metallothioneinnya di teliti pada lambung yang berfungsi sebagai alat pencernaan serta dapat dijadikan sebagai biomarker melalui teknik imunohistokimia. Untuk mengetahui densitas dan intensitas metallothionein pada lambung tiram *Crasostrea cucullata* dan untuk mengetahui hubungan antara kadar logam berat, panjang tiram dan densitas serta intensitas metallothionein, sehingga perlu dilakukan penelitian. Penelitian dilakukan pada bulan November 2014 di pantai Prenduan, Kabupaten Sumenep, Jawa Timur.

Pengambilan tiram dilakukan pada 3 stasiun dan masing-masing stasiun terdiri dari 3 plot menggunakan random sampling dengan jarak 100 meter dari titik sebelumnya secara horizontal di sepanjang pinggiran pantai. Stasiun I bertempat di kolam labuh I terletak di daerah mangrove yang dekat dengan tempat pembuangan tinja manusia, Stasiun II terletak sekitar pemukiman dan bagian pelabuhan yang digunakan sebagai berlabuhnya kapal-kapal nelayan penduduk sedangkan Stasiun III terletak di areal yang disekitar atas perairannya terdapat kandang peternakan ayam. Prosedur penelitian menggunakan metode imunohistokimia yaitu pengamatan densitas dan intensitas metallothionein pada lambung tiram dilakukan di Laboratorium FAAL Fakultas KEdokteran Universitas Brawijaya Malang.

Hasil penelitian, ditemukan bahwa nilai densitas metallothionein pada stasiun I berkisar antara $6,74 \times 10^{-3} \text{ MT}/\mu\text{m}^2$ – $17,43 \times 10^{-3} \text{ MT}/\mu\text{m}^2$, stasiun II berkisar antara $9,38 \times 10^{-3} \text{ MT}/\mu\text{m}^2$ – $19,72 \times 10^{-3} \text{ MT}/\mu\text{m}^2$ dan stasiun III berkisar antara $5,16 \times 10^{-3} \text{ MT}/\mu\text{m}^2$ – $22,73 \times 10^{-3} \text{ MT}/\mu\text{m}^2$. Hasil densitas metallothionein sesuai dengan respon lambung tiram terhadap penyerapan logam berat yang menunjukkan kadar logam berat dalam lambung pada stasiun II lebih tinggi dibandingkan dengan stasiun I dan stasiun III. Intensitas metallothionein yang tertinggi ditemukan pada stasiun II yang merupakan daerah sekitar pemukiman dan bagian pelabuhan yang digunakan sebagai berlabuhnya kapal-kapal nelayan penduduk. Intensitas metallothionein pada stasiun I berkisar antara 3057 pixel – 19176 pixel, stasiun II berkisar antara 7101 pixel – 59935 pixel dan pada stasiun III berkisar antara 3754 pixel – 19633 pixel. Intensitas warna Metallothionein berbeda-beda pada setiap stasiun tergantung pada tingkat penyerapan logam berat oleh tubuh tiram. Hasil analisis kualitas air pada perairan pantai Prenduan masih berada dalam kisaran hidup tiram yaitu suhu didapat 34°C - 35°C , pH 9, Oksigen terlarut 6,1 – 8,7 mg/l, salinitas 30 ppt dan TOM 25,28 – 50,56 mg/l.

Hasil analisis logam berat pada lambung tiram menunjukkan bahwa lambung tiram telah tercemar logam berat Pb, Cd dan Hg karena sudah melewati

ambang batas normal. Hasil analisis regresi linier berganda menunjukkan semakin tinggi kandungan logam berat pada lambung tiram dan semakin panjang tiram maka semakin tinggi densitas dan intensitas metallothionein. Peningkatan densitas dan intensitas sesuai dengan kenaikan konsentrasi logam berat dan besarnya ukuran tiram. Sehingga dapat digunakan sebagai sumber informasi keilmuan tentang pencemaran logam berat di perairan.



KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT, karena berkat rahmad dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal penelitian Srikpsi ini sesuai harapan. Penulisan ini merupakan salah satu syarat untuk menyelesaikan studi pada Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan Jurusan Manajemen Sumberdaya Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, selain itu dengan diadakannya Penelitian ini diharapkan nantinya penulis mampu mengetahui gambaran mengenai ekspresi densitas dan intensitas pada *Crasostrea cucullata* sehingga dapat dijadikan biomarker pencemaran dalam penanganan logam berat di pantai Prenduan, Sumenep.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan proposal ini masih banyak terdapat kekurangan-kekurangan baik dari segi tulisan maupun sistem penulisanya. Untuk itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang sifatnya membangun guna memperbaiki penulisan ini. Semoga penelitian ini bermanfaat bagi penulis dan bermanfaat pula bagi pihak yang membutuhkan.

Malang, 26 Maret 2015

Penulis

UCAPAN TERIMA KASIH

Teriring salam dan doa semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya kepada kita semua dalam menjalankan amanah sebagai khalifah di muka bumi, dan sholawat serta salam kepada Nabi Muhammad SAW yang telah memberikan tauladan yang sempurna bagi umat di dunia. Rasa terima kasih yang paling dalam, penyusun sampaikan atas bantuan dalam penyusunan laporan skripsi kepada :

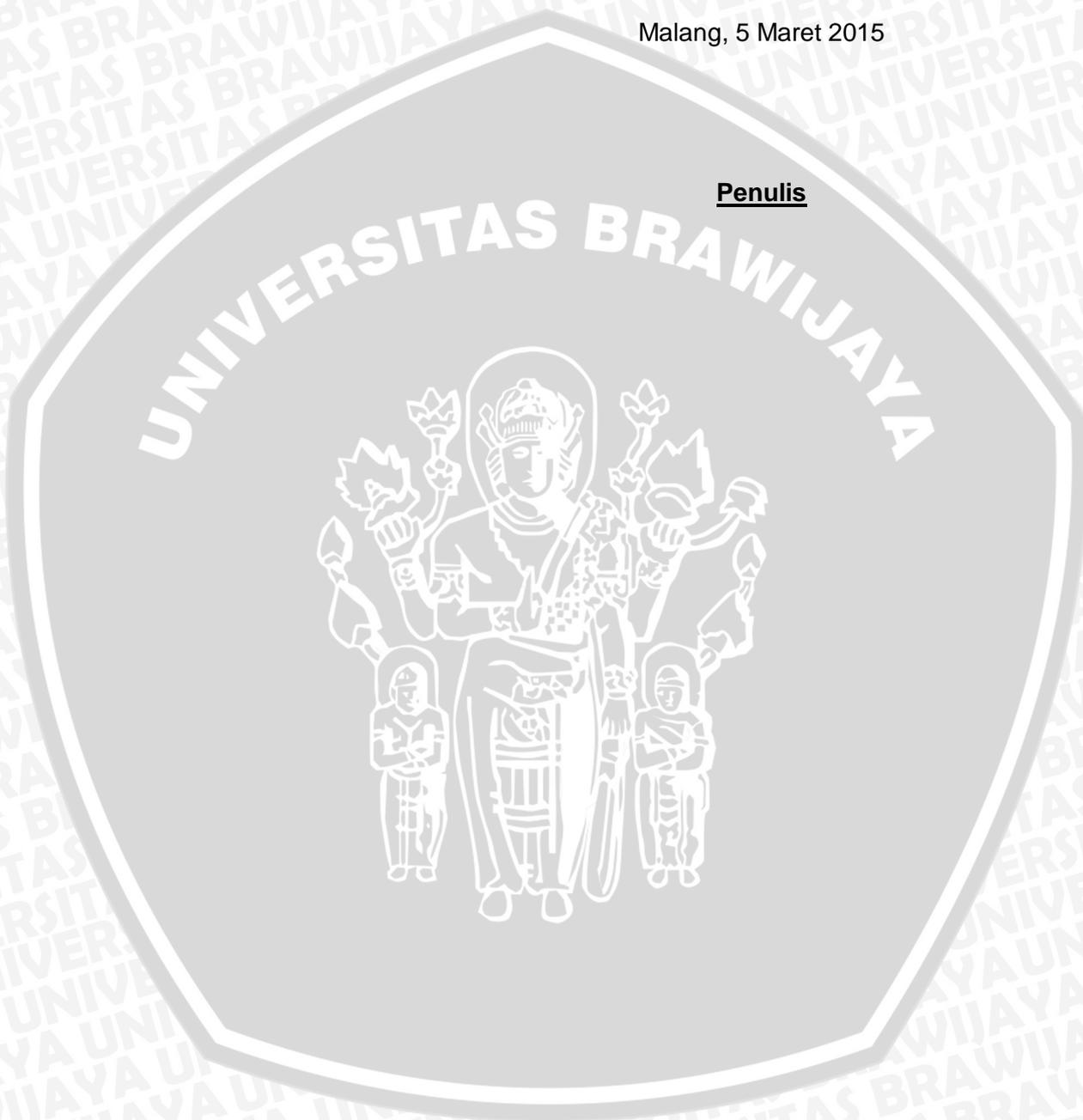
1. Allah SWT yang telah memberikan kesehatan serta kelancaran.
2. Mama (Ria rahayu), Papa (Muksin) dan adikku Sherlina Oktaviola yang telah memberikan segala dukungan, semangat dan doa.
3. Bapak Dr. Asus Maizar S.H, S.Pi, MP selaku Dosen Pembimbing I dan ibu Dr. Yuni Kilawati, S.Pi., M.Si selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan arahan yang sistematis dalam menyelesaikan laporan dengan baik, sabar dan ikhlas.
4. Bebski M.Ra'au Azzarudin Nur yang telah memberikan motivasi, doa, dukungan penuh dan kesabarannya.
5. Team Madura Bahagia (Girin, Tree, Tadheo, Dian, Ramli, Tiyan dan Dyah) yang telah membantu dalam proses penelitian dan penulisan secara langsung, serta memberikan dukungan dan manfaat yang sangat berguna.
6. Sahabat serta teman-teman MSP'11 seperjuangan yang selalu memberikan hiburan dan saling melengkapi keadaan.
7. Seluruh sahabat serta teman-teman Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya yang selalu memberikan dukungan dan kenangan.

Penulis menyadari bahwa laporan ini masih memiliki kekurangan, oleh karena itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun dari

pembaca. Semoga laporan skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi semua pihak yang berminat dan memerlukan. Amin.

Malang, 5 Maret 2015

Penulis



DAFTAR ISI

Halaman

LEMBAR PENGESAHAN	i
PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
RINGKASAN	iii
KATA PENGANTAR	v
UCAPAN TERIMAKASIH	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	4
1.4 Kegunaan	4
1.5 Tempat dan Waktu	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Logam Berat	6
2.1.1 Timbal (Pb)	6
2.1.2 Kadmium (Cd)	6
2.1.3 Merkuri (Hg)	7
2.2 Tiram	8
2.2.1 Biologi Tiram	8
2.2.2 Anatomi Tiram	9
2.2.3 Klasifikasi <i>Crasostrea cucullata</i>	10
2.2.4 Kebiasaan Makan	11
2.2.5 Mekanisme Penyerapan Makanan oleh Tiram	12
2.3 Metallothionein	13
2.4 Hubungan Logam Berat terhadap Metallothionein	15
2.5 Pengamatan Metallothionein dengan Metode Imunohistokimia	17
2.6 Kondisi Fisika dan Kimia Air	19
2.6.1 Suhu	19
2.6.2 pH (Potensial Hydrogen)	19
2.6.3 Oksigen Terlarut	20
2.6.4 Salinitas	21
2.6.5 Total Organik Matter	21

3. METODE PENELITIAN	23
3.1 Materi Penelitian	23
3.2 Alat dan Bahan	23
3.3 Metode Pengumpulan Data	23
3.4 Penentuan Stasiun	24
3.5 Prosedur.....	25
3.5.1 Pengambilan Sampel	25
3.5.2 Prosedur Pengukuran Tiram.....	25
3.5.3 Preparasi Sampel.....	26
3.5.4 Pembuatan Irisan Jaringan.....	27
3.5.4.1 Pembedahan dan Pengawetan Lambung Tiram.....	27
3.5.4.2 Pengamatan Histopatologi	27
3.5.5 Pewarnaan Imunohistokimia.....	29
3.5.6 Scan dengan Mikroskop Dotslide	30
3.5.7 Perhitungan Densitas dan Intensitas	31
3.5.8 Analisa Data.....	34
3.5.9 Analisis Kualitas Air Pendukung.....	35
3.5.9 Prosedur Analisis Logam (Pb, Cd dan Hg)	38
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	39
4.1 Deskripsi Lokasi Penelitian	39
4.1.1 Stasiun Pengamatan I.....	40
4.1.2 Stasiun Pengamatan II	41
4.1.3 stasiun Pengamatan III	41
4.2 Sebaran Ukuran Sampel.....	42
4.3 Hasil Analisis Logam Berat pada Lambung Tiram	45
4.4 Ekspresi Metallothionein pada Lambung Tiram dengan teknik Imunohistokimia.....	48
4.5 Hasil Analisis Densitas dan Intensitas Metallothionein pada Lambung Tiram.....	51
4.5.1 Hasil Analisis Densitas Metallothionein pada Lambung Tiram... 51	
4.5.2 Hasil Analisis Intensitas Metallothionein pada Lambung Tiram . 54	
4.6 Analisis Hubungan Densitas Metallothionein, Panjang Tiram dan Logam Berat pada Lambung Tiram.....	58
4.7 Analisis Hubungan Intensitas Metallothionein, Panjang Tiram dan Logam Berat pada Lambung Tiram.....	63
4.8 Analisis Parameter Kualitas Air.....	67
4.8.1 Suhu	67
4.8.2 pH.....	69
4.8.3 Dissolved Oksigen (DO).....	69
4.8.4 Salinitas	70
4.8.5 <i>Total Organic Matter</i> (TOM)	71
4.8.6 Analisa Logam Berat di Air.....	72
5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	77
DAFTAR PUSTAKA.....	78
LAMPIRAN	86

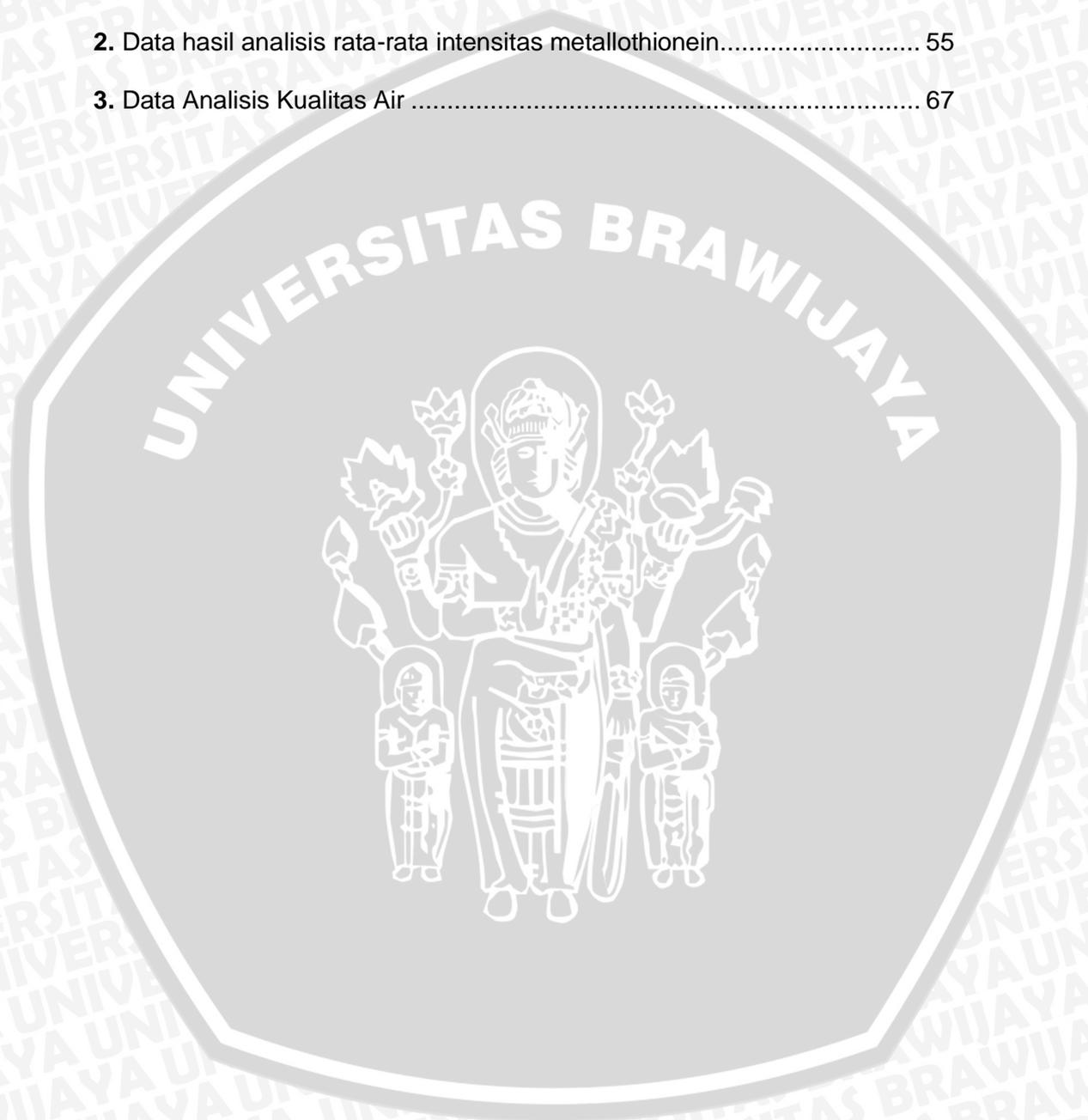
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bagan alur perumusan masalah	3
2. Anatomi tiram	10
3. Model pasangan MT yang menginduksiligan target	15
4. Kawasan mangrove (stasiun I)	40
5. Tempat berlabuhnya kapan dan pemukiman warga (stasiun II)	41
6. Daerah peternakan ayam (stasiun III)	42
7. Hasil Ukuran Rata-Rata Panjang Tiram <i>Crasostrea cucullata</i>	43
8. Grafik rata-rata kandungan Logam berat Pb, Cd dan Hg pada lambung tiram <i>Crasostrea cucullata</i>	46
9. Ekspresi Metallothionein skala 20 μ m	49
10. Ekspresi metallothionein	50
11. Grafik Rata-Rata Densitas Metallothionein pada Lambung Tiram	53
12. Intensitas metallothionein	55
13. Rata-rata Intensitas Metallothionein	56
14. Grafik Hubungan Densitas MT, Panjang tiram dan Logam Berat	59
15. Grafik Hubungan Intensitas MT, Panjang tiram dan Logam Berat	63
16. Logam Berat Pb, Cd dan Hg di Air Laut	72



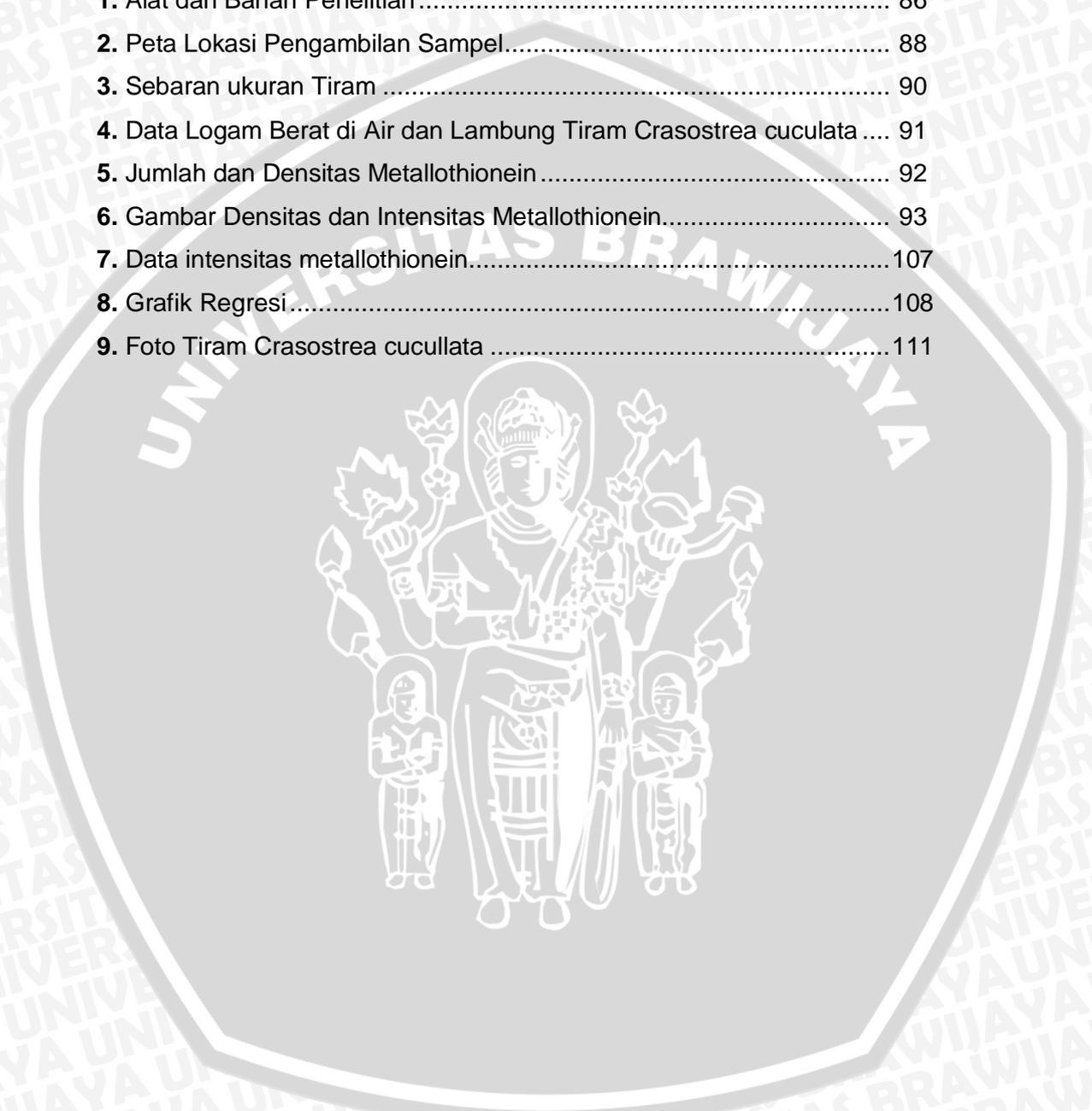
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Data Hasil Analisis Densitas Metallothionein	52
2. Data hasil analisis rata-rata intensitas metallothionein.....	55
3. Data Analisis Kualitas Air	67



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat dan Bahan Penelitian	86
2. Peta Lokasi Pengambilan Sampel	88
3. Sebaran ukuran Tiram	90
4. Data Logam Berat di Air dan Lambung Tiram <i>Crasostrea cucullata</i>	91
5. Jumlah dan Densitas Metallothionein	92
6. Gambar Densitas dan Intensitas Metallothionein	93
7. Data intensitas metallothionein	107
8. Grafik Regresi	108
9. Foto Tiram <i>Crasostrea cucullata</i>	111



I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Madura merupakan pulau yang mempunyai luasan hutan mangrove yang berbeda pada setiap kabupaten. Berdasarkan data yang diperoleh dari Dinas Pengelola Data Elektronik Propinsi Jawa Timur (2001), kawasan mangrove di Kabupaten Sampang adalah 999,6 Ha, di Kabupaten Sumenep seluas 1.408,75 Ha, dan luas mangrove di Kabupaten Pamekasan sekitar 473,040 Ha. Secara administratif Desa Prenduan termasuk dalam wilayah Kecamatan Peragaan. dan mempunyai kawasan hutan mangrove yang tumbuh di sisi barat pantai Prenduan. Di sekitar pantai juga terdapat tambak-tambak garam milik masyarakat sekitar yang sebagian dari tambak tersebut juga di tanami mangrove. Di sekitar pantai Prenduan juga banyak aktivitas masyarakat maupun kegiatan perkapalan yang dapat menyumbangkan masukan logam berat pada perairan pantai.

Masukan logam berat di perairan akan direspon oleh peningkatan kadar protein Metallothionein sebagai pengikat logam pada tubuh organisme misalnya tiram yang hidup di sekitar perairan. Adanya protein MT yang diyakini sebagai penanda biologi (Biomarker) pencemaran logam berat dapat dipelajari salah satunya melalui metode semi kuantitatif (imunohistokimia).

Salah satu cara yang dapat digunakan untuk memantau tingkat pencemaran perairan adalah dengan menggunakan bioindikator. Salah satu organisme akuatik yang potensial digunakan sebagai indikator pencemaran perairan adalah anggota kelas bivalvia (Molusca) (Fuller, 1974). Molusca yang ada di pantai Prenduan yaitu tiram (*Crasostrea cucullata*). Menurut Santosa (2010), tiram merupakan kelompok molusca dari kelas Bivalvia, yang hidup di

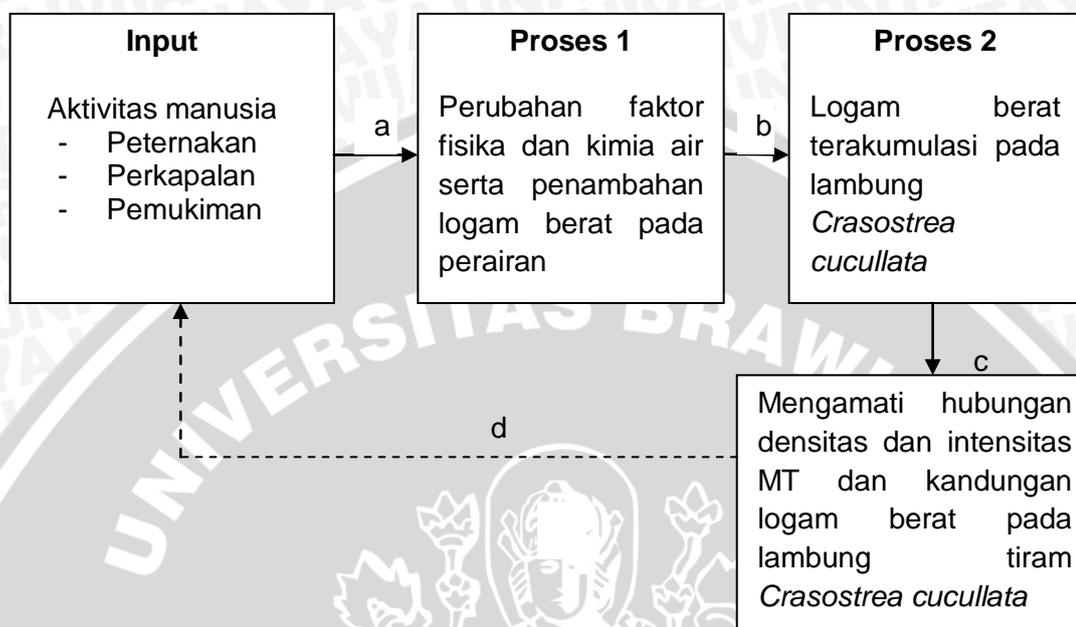
habitat laut atau air payau. Salah satu spesies tiram yang terdapat di perairan Indonesia adalah *Crasostrea cucullata*.

Logam berat cenderung menumpuk di dalam tubuh. Sebagai akibatnya logam berat itu akan terus ada di sepanjang rantai makanan. Menurut Kristanto (2002), logam berat berbahaya sering mencemari lingkungan yang paling utama salah satunya timbal (Pb). Menurut Suhendrayatna (2001), timbal merupakan logam berat yang sangat beracun, sumber utama timbal adalah berasal dari komponen gugus alkil timbal yang digunakan sebagai bahan aditif bensin.

Logam berat diserap oleh tubuh hewan perairan kebanyakan dalam bentuk ion melalui insang dan saluran pencernaan. Logam dapat tertimbun dalam jaringan terutama di hati dan ginjal. Ion logam yang masuk kedalam jaringan mahluk hidup bersenyawa dengan bahan kimia jaringan mahluk hidup membentuk senyawa kompleks organik protein disebut metallothionein (Nurtoni *et al.*, 1984). Metallothionein (MT) adalah protein dengan berat molekul rendah, ditandai dengan tingginya kandungan sistein. MTs merupakan kelompok logam yang mengandung masing-masing dua tiga dan empat ion logam divalent (Carpene *et al.*, 2007). Menurut Murthy *et al.* (2011), Metallothionein (MT) adalah protein kaya sistein yang mengikat logam dan ditemukan dalam berbagai organisme termasuk bakteri, jamur dan semua tanaman dan spesies hewan eukariotik. Metalothionein mengikat logam esensial dan non esensial. Oleh karena itu diperlukan informasi mengenai densitas dan intensitas Metallothionein pada lambung tiram (*Crasostrea cucullata*) di perairan pantai Prenduan Kabupaten Sumenep.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini secara ringkas digambarkan dalam bagan berikut:



Gambar 1. Bagan Alur Perumusan Masalah

Keterangan:

- Aktivitas manusia di sekitar perairan pantai Prenduan seperti peternakan, perkapalan dan pemukiman akan menghasilkan limbah yang jika dibuang ke perairan dapat mempengaruhi kualitas air serta mempengaruhi konsentrasi logam esensial dan non esensial di perairan itu sendiri.
- Perubahan kualitas air serta penambahan logam berat pada perairan akan terakumulasi pada lambung tiram *Crasostrea cucullata* yang berfungsi sebagai alat pencernaan makanan.
- Logam berat yang terakumulasi pada lambung tiram *Crasostrea cucullata* mempengaruhi densitas dan intensitas metallothionein (MT) pada tubuh organisme sebagai protein pengikat logam berat. Perairan yang mengandung logam berat diduga akan mempengaruhi densitas dan

intensitas metallothionein pada *Crasostrea cucullata* dan dapat dijadikan sebagai biomarker melalui teknik Imunohistokimia

- d. Gambaran dalam hubungannya dengan kadar logam berat Hg, Pb dan Cd dapat dijadikan biomarker pencemaran dalam penanganan logam berat di pantai Prenduan, Sumenep.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui hubungan (densitas dan intensitas) Metallothionein, panjang tiram dan logam berat (Pb, Cd dan Hg) yang terekspresi pada lambung tiram *Crasostrea cucullata* dari perairan pantai Prenduan, Kabupaten Sumenep, Jawa Timur.

1.4 Kegunaan

Kegunaan dari penelitian ini adalah memberikan informasi hubungan panjang tiram, logam berat dan densitas serta intensitas Metallothionein pada lambung tiram *Crasostrea cucullata* di perairan pantai Prenduan yang nantinya dapat digunakan sebagai bahan acuan untuk pengelolaan dan pemanfaatan perairan pantai Prenduan, serta dapat mengendalikan aktivitas manusia di sekitar pantai Prenduan, Sumenep dan juga sebagai bahan rujukan bagi ilmu pengetahuan dan teknologi pada bidang teknik biomarker lingkungan dengan mengetahui kadar Metallothionein pada lambung tiram.

1.5 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan November 2014 di perairan Pantai Prenduan, Sumenep, Madura, Jawa Timur. Pengamatan histopatologi dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, Analisis kadar metallothionein pada tiram *Crasostrea cucullata* dilakukan di Laboratorium Fisiologi Anatomi (FAAL) Fakultas Kedokteran Universitas

Brawijaya Malang. Analisis kandungan logam berat Hg, Pb dan Cd dilakukan di Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) dan analisis kualitas air dilakukan di Laboratorium Lingkungan dan Bioteknologi Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Logam berat

2.1.1 Timbal (Pb)

Menurut Muhaemin (2005), kelarutan Pb dalam air media sangatlah tergantung pada kondisi pH, konsentrasi klorida dan suhu air. Kondisi pH tinggi, potensial redoks akan rendah sehingga logam – logam biasanya akan menjadi lebih aktif dalam pembentukan kompleks dengan senyawa organik dan dapat pula membentuk senyawa lebih mudah larut dalam air. Pada pH 6 reaksi hidrolisis dan presipitasi Pb fosfat dan Pb sulfide dapat membentuk kompleks $Pb(OH)^+$ terlarut yang dominan pada pH antara 8,1 - 8,2. Tetapi bila konsentrasi ion klorida cukup tinggi, maka kompleks tersebut menjadi tak dominan dan digantikan oleh senyawa $PbCl_2$. Senyawa $Pb(OH)_2$ yang tak larut akan terbentuk sampai pH 10.

Sumber utama timbal adalah berasal dari komponen gugus alkil timbal yang digunakan sebagai bahan additive bensin dan penggunaan Pb terbesar adalah dalam industri baterai, kendaraan bermotor seperti timbal metalik. Timbal digunakan pada bensin kendaraan, cat dan pestisida (Suhendrayatna, 2001). Komponen ini beracun terhadap seluruh aspek kehidupan. Timbal menyebabkan rusaknya system saraf, hematotoksik dan mempengaruhi kerja ginjal (Suhendrayatna, 2001).

2.1.2 Kadmium (Cd)

Logam Cd atau kadmium mempunyai penyebaran yang sangat luas di alam. Sumber kadmium dapat berasal dari pabrik peleburan besi, baja, produksi semen, pembakaran sampah, dan penggunaan logam yang berhubungan dengan hasil produksinya (pabrik baterai, aki, pigmen warna, pestisida, gelas,

dan keramik) (Darmono, 1995). Sementara itu, sumber Cd dalam laut terutama berasal dari alam yaitu letusan gunung berapi, debu yang terbawa angin, lahan pertanian yang menggunakan pupuk yang mengandung kadmium dan aliran sungai yang berasal dari lahan tersebut. Sumber lainnya merupakan hasil buangan manusia berasal dari pertambangan, ekstraksi dan pengolahan Zn (Laws, 1993).

Keracunan kadmium dapat bersifat akut dan kronis. Organ tubuh yang menjadi sasaran keracunan kadmium adalah ginjal dan hati. Kadmium lebih beracun bila terhisap melalui saluran pernafasan dari pada saluran pencernaan. Kasus keracunan akut kadmium kebanyakan dari menghisap debu dan asap kadmium, terutama kadmium oksida (CdO) yang dapat menyebabkan emfisema atau gangguan paru-paru yang jelas terlihat (Darmono, 1995).

2.1.3 Merkuri (Hg)

Merkuri dalam perairan dapat berasal dari buangan limbah industri kelistrikan dan elektronik, baterai, pabrik bahan peledak, fotografi, pelapisan cermin, industri bahan pengawet, pestisida, industri kimia, petrokimia, limbah kegiatan laboratorium dan pembangkit tenaga listrik yang menggunakan tenaga fosil. Merkuri yang paling toksik adalah bentuk alkil merkuri yaitu metil dan etil merkuri (Suryadiputra, 1995).

Pada perairan alami, merkuri hanya ditemukan dalam jumlah yang sangat kecil. Merkuri merupakan satu-satunya logam berat yang berada dalam bentuk cair pada suhu normal. Merkuri terserap dalam bahan-bahan partikulat dan mengalami presipitasi. Pada dasar perairan anaerobik, merkuri berikatan dengan sulfur. Sumber alami merkuri yang paling umum adalah cinnaber, namun pelapukan bermacam-macam batuan dan erosi tanah dapat melepaskan merkuri kedalam lingkungan perairan (Effendi, 2003).

Merkuri (Hg) adalah salah satu jenis logam berat yang sangat berbahaya. Bahaya merkuri khususnya Hg metil (MeHg) telah dikenal luas. Melalui proses akumulasi secara biologi (bioakumulasi), proses perpindahan secara biologi (biotransfer), dan pembesaran secara biologi (biomagnifikasi) yang terjadi secara alamiah, organisme laut mengakumulasi MeHg dalam konsentrasi yang relatif tinggi (Yasuda, 2000). Penambangan, pelabuhan, pembakaran bahan bakar fosil, dan produksi baja, semen dan fosfat juga merupakan sumber merkuri yang dapat menambah keberadaannya di alam (Lu, 2006).

2.2 Tiram

2.2.1 Biologi Tiram

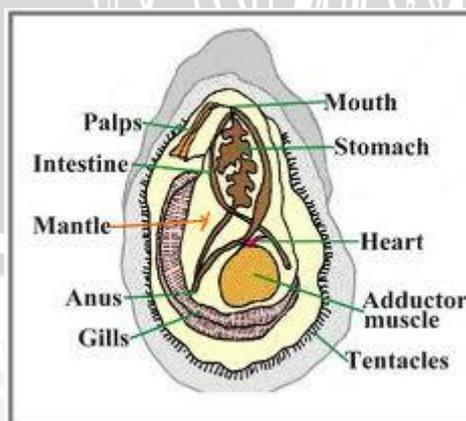
Tiram memiliki morfologi bentuk cangkang yang tidak beraturan, kulit tebal, dan tidak simetris (Nateewathana, 1995). Spesies *Crassostrea* sp. hidup berkelompok dan saling menempel satu sama lain serta melekat pada akar mangrove. Ukuran maksimum tiram dapat mencapai 6-8 cm (Izwady, 2006). Tiram dewasa menempel pada substrat keras seperti kayu, batu atau materi keras lainnya dan tidak bergerak. Tiram hidup di muara sungai yang bersubstrat lumpur berpasir, pantai berbatu sampai laut dengan kedalaman 100 kaki. Pengusahaan tiram secara komersial biasanya menggunakan perairan dengan kedalaman sampai 40 kaki saja (Galtsoff, 1964).

Jenis kerang-kerangan termasuk pada jenis tiram *Crassostrea cucullata* merupakan bioindikator pencemaran yang efisien untuk menduga pencemaran logam berat, karena merupakan *filter feeder* dan mempunyai toleransi yang besar terhadap tekanan ekologis yang tinggi. Menurut Galtsoff (1964), tiram termasuk dalam filum Moluska atau golongan binatang lunak dalam bangsa Bivalve yaitu bercangkang setangkup. Cangkang tiram tidak sama besar karena ada bagian mangkok dan bagian tutup. Tiram dapat bertahan hidup dan

berkembang biak pada kondisi tekanan ekologis yang tinggi. Kemampuan dalam mengakumulasi logam berat pada tiram dapat digunakan untuk memperoleh gambaran tingkat pencemaran logam berat pada lingkungan dimana tiram hidup (Apriadi, 2005).

2.2.2 Anatomi Tiram

Tubuh tiram terdiri atas tiga bagian yaitu: kaki, mantel dan kumpulan organ bagian dalam. Kaki merupakan salah satu bagian tubuh yang bersifat elastis terdiri atas susunan jaringan otot yang dapat meregang. Tiram termasuk momomary, yaitu hewan yang memiliki otot tunggal yang berfungsi untuk membuka dan menutup cangkang. Seperti pada semua molusca, cangkang tiram dibentuk oleh mantel dengan cara mengeluarkan sel-sel yang dapat membentuk struktur cangkang dengan corak warna yang berbeda-beda tergantung pada faktor lingkungan dan genetik. Mantel membungkus organ bagian dalam dan memisahkan dengan bagian cangkang, selain itu juga berfungsi untuk menyeleksi unsur-unsur yang masuk kedalam tubuh dan jika dalam tubuhnya terdapat kotoran maka mantel akan menyemburkan kotoran itu keluar (Syazili, 2011). Bagian dalam dari tiram dapat dilihat pada **Gambar 2**.



Gambar 2. Anatomi tiram (Robert dan Jobin, 2000)

Bentuk luar tiram seperti batu karang yang tidak ada tanda - tanda kehidupan. Tiram mempunyai sepasang cangkang yang disatukan pada bagian punggung dengan engsel untuk melindungi bagian dalam tubuh yang lunak agar terhindar dari benturan atau serangan hewan lain. Kedua belahan cangkang tidak sama bentuknya, cangkang yang satu lebih cembung dibanding lainnya (Sambaz, 2010).

2.2.3 Klasifikasi *Crasostrea cucullata*

Berikut ini adalah klasifikasi dari tiram *Crassostrea cucullata* menurut Zipcodezoo (2013), adalah sebagai berikut:

- **Kingdom** : Animalia
- **Subkingdom** : Bilateria
- **Infrakingdom** : Lophotrochozoa
- **Superphylum** : Eutrochozoa
- **Phylum** : Mollusca
- **Class** : Bivalvia
- **Subclass** : Metabranchia
- **Superorder** : Filibranchia
- **Order** : Pteriomorpha
- **Suborder** : Ostreina
- **Superfamily** : Ostreoidea
- **Family** : Ostreidae
- **Genus** : Crassostrea
- **Name** : *cucullata*
- **Scientific name** : *Crassostrea cucullata*

Crassostrea cucullata adalah filter feeder, memompa air melalui insang dan menyaring fitoplankton. Di perairan tercemar, logam berat terakumulasi dalam jaringan tersebut. Untuk alasan ini dapat digunakan sebagai bioindikator untuk pemantauan pencemaran, karena selektif menghilangkan logam berat dan menjadi biofilter yang efisien, telah digunakan di Teluk Persia untuk mengendalikan pencemaran. *Crassostrea* ini toleran terhadap berbagai temperatur dan salinitas (Angell, 1986).

2.2.4 Kebiasaan Makan

Tiram mempunyai kebiasaan makan dengan menyaring makanan (*filter feeder*), karena memiliki siphon yang pendek (Fitrianti, 2003). Kebiasaan makan tersebut menyebabkan tiram dapat menyerap sebagian besar air dan kandungan-kandungan unsur didalamnya. Plankton yang terdapat di perairan akan tersaring melalui mekanisme makan tiram tersebut. Tiram dapat dijadikan bioindikator karena seluruh partikel-partikel yang terdapat di dalam perairan akan tersaring (Suharyanto *et al.* 1996).

Tiram banyak dijumpai di berbagai Negara seperti Filipina, Thailand, Myanmar, Australia dan perairan Indonesia dan menyukai hidup di daerah batuan karang atau dasar perairan yang berpasir dengan kedalaman 5-60 m. Cara makan tiram dilakukan dengan menyaring air laut dengan cara mengambil makanan dilakukan dengan menggetarkan insang yang menyebabkan air masuk ke dalam rongga mantel. Kemudian dengan menggerakkan bulu insang, plankton yang masuk akan berkumpul di sekeliling insang, selanjutnya melalui gerakan labial palp plankton akan masuk ke dalam mulut (Sambaz, 2010).

Tiram tergolong *filter feeder* yaitu jenis hewan yang mendapatkan makanan dengan jalan menyaring air yang masuk ke dalam tubuhnya. Volume air yang dapat disaring oleh tiram adalah 2,5 liter/jam. Makanan yang masuk bersama air

tadi digerakkan, diperas, lalu dicerna dengan bantuan cilia (rambut getar) pada tubuhnya. Cilia mampu bergerak 2-20 kali per detik. Makanan tiram dapat berupa zooplankton, fitoplankton, bakteri, flagellata, protozoa, detritus, alga, dan berbagai zat yang tersuspensi dalam perairan tempat tinggalnya. Alat pencernaannya berturut-turut terdiri dari mulut yang tidak berahang atau bergigi, sepasang labial pals yang bersilia, esofagus, lambung, usus, rektum, dan anus. Selain alat pencernaan, di dalam tubuh kerang terdapat pula hati yang menyelubungi dinding lambung, ginjal, pembuluh darah, dan pembuluh urat saraf (Ricomarsen, 2010).

2.2.5 Mekanisme Penyerapan Makanan oleh Tiram

Menurut Galtsoff (1964), makanan yang sudah sampai di mulut akan masuk ke esophagus diteruskan ke lambung. Makanan akan dipecah-pecah dalam proses pencernaan kemudian yang tercerna dalam lambung akan diserap. Partikel makanan yang relatif besar dan belum tercerna di lambung akan dimasukkan ke *crystallin style sac* untuk dicerna lebih lanjut. Proses pencernaan dilambung dan *crystallin sac* selain dipecah-pecah juga dibantu oleh enzim yang ada di dalamnya. Langkah selanjutnya makanan akan masuk ke usus, partikel makanan yang sudah tercerna akan didorong oleh silia untuk di masukkan ke dalam vakuola dari sel-sel digestif kemudian diaktifkan oleh enzim dan diedarkan ke sel-sel lain.

Menurut Barret (1963), tiram bernafas dan mendapatkan makanannya dengan menggunakan dua insang. Cilia di bagian dalam insang, bergerak bersama-sama, menarik arus air agar masuk melalui katup terbuka dan melalui insang. Ketika tiram makan, helaian lendir dikeluarkan pada permukaan insang. Partikel-partikel makanan berukuran mikroskopis yang terbawa dalam air akan terperjat dalam lendir dan setelah itu dimakan oleh tiram. Air kemudian melewati

pori-pori di insang (ostium) ke ruang pengeluaran, dan membilas kotoran yang keluar dari anus. Makanan yang mengandung lendir didorong ke arah mulut dengan silia.

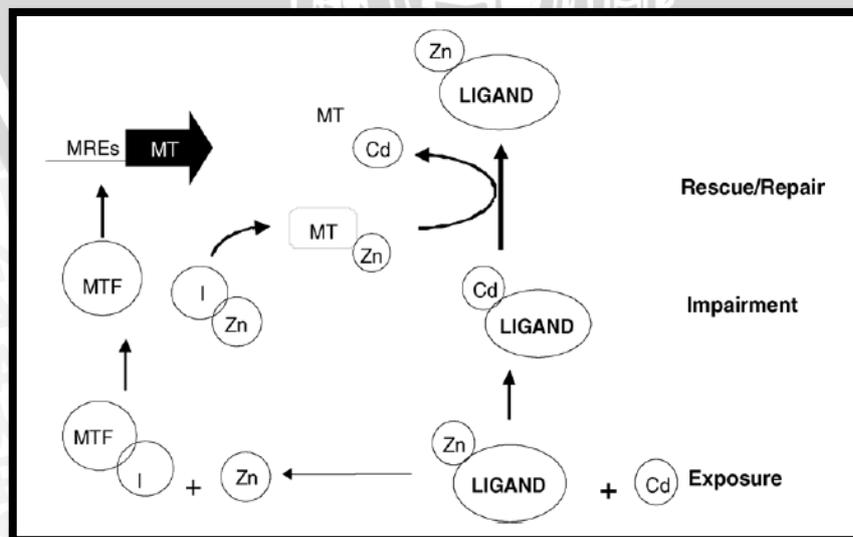
2.3 Metallothionein (MT)

Tiram memiliki kapasitas konsentrasi penyerapan logam berat yang terdapat pada lingkungan perairan, logam berat yang dihasilkan berkaitan dengan keberadaan detoksifikasi yang efektif melibatkan mekanisme perangkap untuk logam berat yang masuk dengan ligan spesifik dalam sitosol. Metallothionein merupakan protein dengan berat molekul rendah, sistein protein yang tinggi berperan untuk mengikat logam (Couillard *et al.*, 1993).

Metallothionein memiliki berat molekul rendah, mempunyai kandungan protein dan polipeptida yang kehadirannya dipengaruhi oleh induksi logam dan berpartisipasi dalam metabolisme dan detoksifikasi logam. Meskipun banyak penelitian yang menyatakan bukti konkrit namun terdapat beberapa penelitian yang membuktikan bahwa Metallothionein berperan dalam mengatur atau mengendalikan ketersediaan logam intraseluler Cu, Zn dan Cd. MT mampu mengendalikan pengambilan Cu dan Zn dengan bantuan molekul reseptor yang sesuai antara lain adanya metalloenzyme. Sehingga pengaturan pengambilan logam tersebut sangat spesifik. Metallothionein mengikat logam esensial maupun non esensial, sehingga dapat diyakini Metallothionein berperan dalam perlindungan organisme dalam toksisitas logam. Protein ini mengikat logam beracun seperti Cd, dimana ZnMT berfungsi sebagai reseptor Cd sedangkan dalam kasus metalloprotein, Zn berfungsi sebagai mekanisme untuk memulihkan struktur fungsional (Roesijadi, 1994).

Metallothioneins (MTs) telah banyak dipertimbangkan untuk digunakan sebagai biomarker tertentu karena potensi MT mencerminkan keberadaan logam

berat polusi dan induksi dari MT meningkat setelah paparan logam berat dalam organisme (Wu, *et al.*, 2005). Prosedur pengukuran tingkat pencemaran di perairan, khususnya untuk perairan Indonesia telah banyak dibuat, namun sedikit saja yang dapat dikategorikan sebagai prosedur yang peka, akurat dan dapat diandalkan. Apalagi pencemaran yang dimaksud adalah pencemaran yang disebabkan oleh logam berat yang berdampak luas sampai pada manusia. Salah satu alternatif prosedur pengukuran yang masuk dalam kategori peka, akurat dan dapat diandalkan serta dapat diaplikasikan di perairan Indonesia adalah pengukuran dengan menggunakan indikator metallothionein (Lasut, 2002). Metallothionein (MT) merupakan peptida dengan berat molekul yang rendah dengan konten sistein tinggi. Metallothionein pada invertebrata air memainkan peran penting dalam detoksifikasi logam dan sering disebut sebagai biomarker yang berguna untuk logam beracun (Desouky, 2012). Metallothionein merupakan protein pengikat logam (*metal-binding protein*) yang berfungsi dan berperan dalam proses pengikatan logam di dalam jaringan setiap makhluk hidup (Yuliana, 2012). Reaksi kimia Metallothionein beraksi dengan logam Pb pada tubuh bivalvia dapat dilihat pada **Gambar 3**.



Gambar 3. Model pasangan MT yang mengiduksi dan memperbaiki ligan target dalam pengikatan logam. (MT : Metallothionein; MRE : Metal Regulatory Element; MTF : Metal Transcription Factor; MTI : Metal Transcription Inhibitor) (Roesijadi, 1996 *dalam* Amiard *et al.*, 2006).

2.4 Hubungan logam berat, Ukuran Tiram dan Metallothionein

Metallothionein merupakan protein yang sangat peka dan akurat sebagai indikator pencemaran. Hal ini didasarkan pada suatu fenomena alam di mana logam-logam dapat terjerap di dalam jaringan tubuh organisme yang terdapat adanya protein tersebut. Dengan demikian, metallothionein merupakan protein pengikat logam (*metal-binding protein*) yang berfungsi dan berperan dalam proses pengikatan/penyekapan logam didalam jaringan setiap mahluk hidup (Lasut, 2002). Keberadaan metallothionein memiliki setidaknya dua fungsi utama, yaitu membersihkan materi radikal bebas yang terdapat didalam tubuh dan detoksifikasi logam untuk mencapai keadaan homeostasis. Adapun salah satu fungsi metallothionein adalah sebagai detoksifikasi logam untuk mencapai keadaan homeostasis, sehingga adanya metallothionein menyebabkan organisme menjadi resisten terhadap adanya logam berat dan menyebabkan toksisitas dari logam berat berkurang (Carpene, *et al.*, 2007).

Menurut hasil penelitian Nurjanah (1983) *dalam* Rudiyanti (2009), yang menyatakan bahwa tiram yang berukuran kecil (muda) memiliki kemampuan akumulasi yang lebih besar dibandingkan dengan tiram yang berukuran lebih besar (tua). Diduga semakin besar ukuran (tua) tiram maka akan semakin baik kemampuannya dalam mengeliminasi logam berat. Penelitian Abdulgani *et al.* (2008), menyatakan bahwa rerata konsentrasi kadmium pada daging *Perna viridis* cenderung lebih tinggi pada ukuran yang lebih kecil dibanding yang berukuran lebih besar. Inswiasri (1995) menyatakan bahwa kadar kadmium dan

merkuri yang terdapat dalam kerang hijau selalu menurun seiring dengan naiknya ukuran kerang.

Menurut Amiard *et al.* (2006) bahwa metabolisme dan ukuran tiram sangat mempengaruhi terhadap kandungan metallothionein pada tiram tersebut, dimana semakin besar ukuran tiram maka kadar metallothionein juga semakin tinggi. Begitu juga Isani dan Carpene (2014), mengatakan salah satu faktor yang berpengaruh terhadap kadar metallothionein dalam tiram yaitu umur tiram. Menurut Prasetyo (2009), Semakin besar ukuran tubuhnya (semakin tua) maka kandungan logam berat dalam tubuh juga akan semakin meningkat. Terjadinya peningkatan ini dikarenakan logam berat yang masuk kedalam tubuhnya akan terus diakumulasi.

Logam berat seperti kadmium (Cd) dapat menyebabkan karsinogen (gangguan metabolisme), mutagenik (mutasi gen) dan teratogenik (kelainan gen) pada beberapa jenis hewan termasuk pada bivalvia. Ketika berada di dalam sel, salah satu logam berat seperti Cd akan menginduksi berbagai jenis mekanisme signal transduksi serta mengaktifkan banyak gen. Salah satu efek langsung yang ditimbulkan oleh logam berat Cd adalah mengganggu proses homeostasis sel. Mekanisme homeostasis sel terlaksana dengan keberadaan protein metallothionein (MT) yang berperan sebagai protein pengikat logam dan mengurangi efek toksik (Rumahlatu, 2012).

2.5 Pengamatan Metallothionein dengan metode imunohistokimia

Imunohistokimia merupakan proses untuk mendeteksi antigen (protein, karbohidrat, dsb) pada sel dari jaringan dengan prinsip reaksi antibodi yang berikatan terhadap antigen pada jaringan. Nama imunohistokimia diambil dari nama "immune" yang menunjukkan bahwa prinsip dasar dalam proses ini adalah penggunaan antibodi dan "histo" menunjukkan jaringan secara mikroskopis.

Imunohistokimia seringkali digunakan untuk mengukur dan mengidentifikasi karakteristik dari kejadian seluler seperti proses proliferasi sel dan apoptosis sel. Imunohistokimia juga sering digunakan untuk penelitian dasar dalam rangka mengetahui distribusi dan lokasi biomarker ataupun protein yang terekspresi pada berbagai macam jaringan pada tubuh (Ramos dan Vara, 2005).

Imunohistokimia merupakan suatu cara pemeriksaan untuk mengukur derajat imunitas atau kadar antibodi atau antigen dalam sediaan jaringan. Pewarnaan sediaan jaringan menimbulkan ikatan antibodi pada antigen dipermukaan atau didalam sel yang selanjutnya dapat dideteksi dengan cara dilabel dengan enzim, *isotop*, *fluoropore*, atau *colloidal gel*. Untuk mempelajari morfologi sel, sel dalam jaringan difiksasi kemudian dilokalisasi diantara sel dan divisualisasikan dengan mikroskop elektron atau mikroskop cahaya, untuk divisualisasikan hasil interaksi antara antigen dan antibodi dapat dilakukan dengan berbagai macam cara, dimana cara yang paling sering digunakan adalah dengan konjugasi antibodi dengan enzim seperti peroksidase. Selain itu juga bisa digunakan *fluoropore* seperti *fluorosein* atau *rhodamin*. Untuk mempelajari morfologi sel, sel dalam jaringan difiksasi kemudian dilokalisasi diantara sel dan divisualisasikan dengan mikroskop electron atau mikroskop cahaya (Rantam, 2003).

Metode imunohistokimia juga digunakan untuk mendeteksi atau mengukur kandungan Metallothionein yang diukur dengan memeriksa intensitas warna yang dihasilkan. Intensitas yang dihasilkan akibat reaksi ini dibagi menjadi tiga kelas, yang reaksi positif kuat ditunjukkan dengan warna coklat gelap sampai coklat kehitaman (+ + +), positif sedang yang ditunjukkan oleh warna dari coklat gelap ke terang coklat (+ +), dan positif lemah yang ditunjukkan oleh coklat kemerahan (+) (Irvan, 2007 dalam Hertika et al., 2014).

Menurut Hertika *et al.*, (2014), kepadatan adalah satuan seberapa dekat zat dengan yang lain dan diukur dengan jumlah zat (massa) per satuan volume. Unit pengukuran adalah massa per satuan volume atau biasanya dinyatakan dalam gram / cm³ atau nomor sel / ml. Kepadatan metallothionein adalah kuantitas biofisik yang memiliki hubungan langsung dengan penentuan nomor MT per lebar cakupan. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa MT dinyatakan dengan munculnya blok coklat pada insang dan interior jaringan rongga kijing Taiwan. Kecerahan atau kegelapan blok coklat menunjukkan tingkat viskositas MT. Tingkat ini berguna untuk mengukur kepadatan dan intensitas blok coklat. Penelitian menyimpulkan bahwa kepadatan MT dan intensitas kijing taiwan disajikan dalam rongga interior yang lebih tinggi dibandingkan dengan insang. Rata-rata kepadatan MT dan Intensitas meningkat dengan peningkatan dosis paparan. Kenaikan tertinggi ditemukan di PbNO₃ dosis paparan 30 ppm, tetapi menurun pada dosis 40 ppm.

2.6 Kondisi fisika dan Kimia air

2.6.1 Suhu

Suhu dapat menjadi faktor penentu atau pengendali kehidupan flora dan fauna akuatis, terutama suhu di dalam air yang telah melampaui ambang batas (terlalu hangat atau dingin). Jenis, jumlah, dan keberadaan flora dan fauna akuatis seringkali berubah dengan adanya perubahan suhu air, terutama oleh adanya kenaikan suhu dalam air. Hasil pengamatan Rakhmanda (2011), suhu organisme laut seperti gastropoda dan bivalvia diketahui bahwa suhu pada pengamatan berkisar antara 25°C - 27°C. .

Peningkatan suhu juga menyebabkan peningkatan kecepatan metabolisme dan respirasi organisme air, dan selanjutnya mengakibatkan peningkatan konsumsi oksigen. Peningkatan suhu perairan sebesar 10°C menyebabkan

terjadinya peningkatan konsumsi oksigen oleh organisme akuatik sekitar 2 - 3 kali lipat (Paramita, 2011). Kisaran suhu yang sesuai untuk pertumbuhan makrozoobentos seperti bivalvia menurut Hutabarat dan Evans (1985), siklus temperatur untuk kehidupan organisme perairan berkisar 26°C - 31°C.

2.6.2 pH (Potensial Hydrogen)

Menurut Pennak (1978), bahwa pH yang mendukung kehidupan moluska berkisar antara 5,7 - 8,4, bivalvia hidup pada batas kisaran pH 5,8 - 8,3. Nilai pH < 5 dan > 9 menciptakan kondisi yang tidak menguntungkan bagi kebanyakan organisme makrobenthos (Hynes, 1978). Effendi (2003) menyatakan bahwa sebagian besar biota akuatik sensitif terhadap perubahan pH dan menyukai nilai pH sekitar 7 - 8,5.

Pada penelitian (Supriyantini *et al.*, 2007), rata-rata pH pada bivalvia di media air selama penelitian sebesar 7,0. Nilai ini masih sesuai dengan kisaran pH normal. Menurut Insafitri (2010), dalam penelitiannya pH 7,8 - 8,2 yang menunjukkan masih bisa ditolerir untuk hidup bivalvia. Bivalvia dapat hidup dengan baik di perairan dengan kisaran pH 5,6 - 8,3. Pada perairan dengan kisaran pH 4,4 - 6,1 menyebabkan tiram menutup cangkangnya (estivasi) dan secara bertahap kehilangan bobot tubuhnya. Kisaran salinitas 5 - 35 ‰ dan nilai pH > 5 dan < 9 merupakan kondisi yang optimal bagi kelangsungan hidupnya.

2.6.3 Oksigen Terlarut

Oksigen terlarut mempengaruhi populasi dan pertumbuhan individu tiram. Tiram dapat hidup pada oksigen yang rendah pada konsentrasi 1 ppm. Pada penelitian laboratorium, larva tiram berhenti aktif dan mati setelah 3 hari ketika konsentrasi oksigen 0.1 ppm dan mati dalam waktu seminggu. Namun, tiram dewasa bertahan lebih lama pada konsentrasi yang sama (Naik dan Gowda,

2013). Selain itu, tiram menggunakan $\pm 10\%$ pada oksigen yang tersedia dari makanan yang masuk melewati insang (Galtstoff, 1964).

Menurut Rachmawaty (2011), kisaran oksigen terlarut yang diperoleh pada penelitiannya adalah 1,80 - 5,40 ppm, kondisi ini masih layak bagi kehidupan organisme perairan utamanya moluska. Nilai ambang batas kadar oksigen terlarut untuk biota laut dan pariwisata bahari adalah $>5,0$ ppm (Edward, 2008). Pengaruh oksigen terlarut terhadap logam berat yaitu berbanding terbalik dimana semakin rendah kadar oksigen terlarut, semakin tinggi toksisitas logam berat, begitu juga sebaliknya. Namun pada perairan yang diperuntukkan untuk perikanan sebaiknya kadar oksigen tidak kurang dari 5 mg/liter (Wahyuni, *et al.*, 2013).

2.6.4 Salinitas

Menurut Nybakken (1998), salinitas merupakan konsentrasi dari ion-ion yang terlarut dalam air dan dinyatakan dalam ppt atau promil. Salinitas sangat berhubungan dengan tekanan osmotik air sehingga organisme berada pada kondisi yang seimbang dengan medium tempat hidupnya. Perubahan salinitas dapat menyebabkan masalah terhadap tekanan osmotik pada organisme, dan jika melebihi ambang batas toleransi organisme tersebut, akan menimbulkan kematian. Perubahan salinitas dapat terjadi karena adanya pasang surut, aliran air dari daratan, penguapan air bersalinitas maupun adanya air hujan.

Variasi salinitas berpengaruh terhadap regulasi osmotik organisme yang tinggal pada wilayah perairan pantai, biasanya organisme tersebut memiliki pola adaptasi khusus terkait osmoregulasi. Biasanya, peningkatan salinitas akan diikuti dengan peningkatan pengeluaran energi yang digunakan untuk proses

osmoregulasi (penyesuaian tekanan ekstraseluler). Akibatnya sel tidak punya cukup energi untuk melakukan aktivitas akrosomal (Effendi, 2010).

2.6.5 Total Organik Matter (TOM)

Kalium permanganat (KMnO_4) telah lama dipakai sebagai oksidator pada penentuan konsumsi oksigen untuk mengoksidasi bahan organik, yang dikenal sebagai parameter nilai permanganat atau sering disebut sebagai kandungan bahan organik total atau TOM (*Total Organic Matter*). Akan tetapi, kemampuan oksidasi oleh permanganat sangat bervariasi, tergantung pada senyawa-senyawa yang terkandung dalam badan air. Penentuan nilai oksigen yang dikonsumsi dengan metode permanganat selalu memberikan hasil yang lebih kecil daripada nilai BOD. Kondisi ini menunjukkan bahwa permanganat tidak cukup mampu mengoksidasi bahan organik secara sempurna (Effendi, 2003).

Menurut Hariyadi *et al.* (1992), bahan organik total atau *Total Organic Matter* (TOM) menggambarkan kandungan bahan organik total suatu perairan yang terdiri dari bahan organik terlarut, tersuspensi (partikulat) dan koloid. Prinsip analisa Total Organik Matter hampir sama dengan prinsip analisa COD yaitu didasarkan pada kenyataan bahwa hampir semua bahan organik dapat dioksidasi dengan menggunakan senyawa Kalium permanganat. Oksidator yang digunakan untuk penentuan TOM adalah KMnO_4 , diasamkan dengan menggunakan H_2SO_4 pekat dan dididihkan beberapa saat.

3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

Materi dalam penelitian ini adalah densitas dan intensitas metallothionein pada jaringan lambung tiram *Crassostrea cucullata* dari perairan Pantai Prenduan Madura yang diduga tercemar logam berat.

3.2 Alat dan Bahan

Alat dan bahan penelitian pada prosedur pengukuran kualitas air (suhu, oksigen terlarut, pH, salinitas, dan logam berat), pengambilan organ, prosedur histopatologi, pewarnaan imunohistokimia, pengamatan mikroskop dan analisis densitas dan intensitas metallothionein yang terekspsi pada lambung tiram *Crasostrea cucullata* terlampir pada **lampiran 1**.

3.3 Metode Pengumpulan Data

Metode pengambilan data yang digunakan pada penelitian ini adalah metode deskriptif. Menurut Surakhmad (1998), metode deskriptif adalah sebuah metode yang menggambarkan keadaan atau kejadian di suatu daerah tertentu. Pelaksanaan metode yang menggambarkan keadaan atau kejadian di suatu daerah tertentu. Pelaksanaan metode deskriptif tidak terbatas pada pengumpulan dan penyusunan data, tetapi meliputi analisis dan pembahasan tentang data tersebut, sehingga diharapkan dapat memberikan gambaran dan pembahasan tentang data tersebut, sehingga diharapkan dapat memberikan gambaran secara umum, sistematis, aktual dan valid mengenai fakta dan sifat-sifat populasi daerah tersebut.

Dalam penelitian ini, peneliti mengamati ekspresi densitas dan intensitas Metallothionein pada lambung tiram dari beberapa stasiun di perairan pantai Prenduan. Tiram dari lokasi tersebut kemudian dibedah, dan diambil lambung dan dilakukan pengamatan dengan teknik imunohistokimia untuk mengetahui densitas dan intensitas Metallothionein. Kegiatan berikutnya adalah dilakukan pengamatan kualitas air laut pada saat sampling untuk mengetahui hubungannya dengan densitas dan intensitas Metallothionein pada lambung tiram.

3.4 Penentuan Stasiun

Pengambilan sampel tiram dilakukan di 3 stasiun, yaitu Stasiun I terletak di daerah mangrove yang dekat dengan tempat pembuangan tinja manusia, Stasiun II terletak sekitar pemukiman dan bagian pelabuhan yang digunakan sebagai berlabuhnya kapal-kapal nelayan sedangkan Stasiun III terletak di areal yang disekitar atas perairannya terdapat kandang peternakan ayam. Penentuan pengambilan sampel dapat dilihat pada **Lampiran 2**.

Pemilihan lokasi-lokasi tersebut didasarkan pada dugaan jenis cemaran yang berasal dari sumber buangan limbah yang berbeda. Misalnya pada kolam labuh I, diduga cemaran berasal dari emisi gas kendaraan karena daerah ini dekat dengan jalan raya, Sedangkan Lokasi II diduga cemaran berasal dari limbah domestik dan limbah oli buangan mesin kapal, atau limbah perbaikan kapal. Sedangkan Lokasi II, diduga cemaran berasal dari sisa-sisa peternakan. Dari 3 stasiun tersebut, masing-masing stasiun ditentukan 3 titik (plot) jarak 100 meter dari titik sebelumnya secara horizontal di sepanjang pinggiran pantai serta di kondisikan dengan luasan stasiun yang ada, jadi banyak sampel keseluruhan ada 9 sampel. Parameter pendukung yang diukur antara lain suhu, pH, oksigen terlarut, salinitas dan *Total organik matter*.

3.5 Prosedur

3.5.1 Pengambilan Sampel

Prosedur pengambilan sampel pada penelitian skripsi ini dilakukan 1 kali sampling menggunakan metode random sampling dengan jarak 100 meter dari titik sebelumnya secara horizontal di sepanjang pinggiran pantai serta di kondisikan dengan luasan stasiun yang ada. Prosedur pengambilan sampel dilakukan pada saat surut terendah di daerah intertidal. Pengambilan sampel dilakukan pada 3 stasiun yang telah ditentukan. Pengamatan dilakukan sebanyak 3 kali dalam 1 stasiun agar data yang didapat lebih akurat dan dapat mewakili semua tiram *Crassostrea cucullata* yang terdapat di tiap-tiap stasiun yang telah di tentukan.

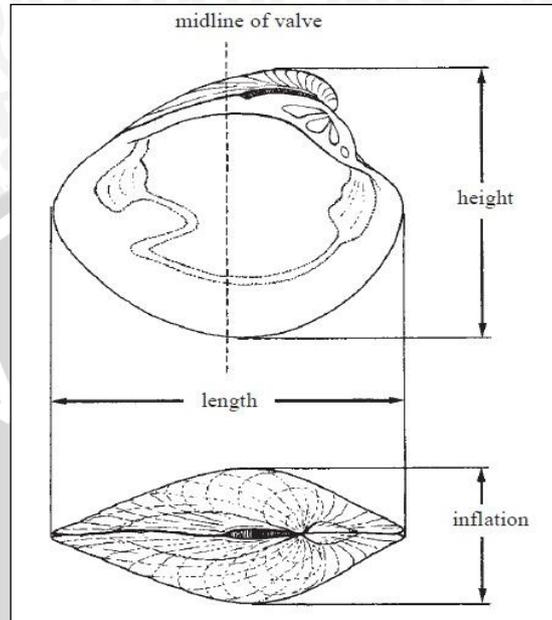
Tiram *Crassostrea cucullata* yang hidup di sekitar perairan pantai Prenduan, yang menempel pada batu atau benda keras yang tidak berlumut maka dapat dilakukan pencongkelan biota dengan menggunakan betel, sedangkan palu digunakan untuk memudahkan betel pada saat pencongkelan biota saat air surut. Untuk sampel air yang akan diuji kadar logam beratnya diberi larutan HNO_3 pekat sebanyak 1 ml, kemudian air sampel dimasukkan ke dalam *coolbox* dan dianalisis di laboratorium.

3.5.2 Prosedur Pengukuran Tiram

Prosedur yang dilakukan untuk mengukur panjang, lebar dan tinggi tiram yaitu disiapkan jangka sorong yang digunakan untuk mengukur panjang, lebar serta tinggi tiram. Kemudian diambil sampel tiram dari masing-masing stasiun sebanyak 3 kali pengulangan dari ukuran yang terkecil hingga yang terbesar. Lalu diukur panjang, lebar serta tinggi tiram menggunakan jangka sorong. Dicatat hasilnya. FAO (1998) mengutarakan bagian dari sisi-sisi cangkang tiram yang

repository.ub.ac.id

dijadikan acuan dalam pengukuran panjang, tinggi dan lebar tiram pada penelitian ini adalah sebagai berikut:



Gambar 6. Bagian-bagian sisi cangkang bivalvia FAO (1998).

3.5.3 Preparasi Sampel

Metode preparasi sampel yang dilakukan selama proses Penelitian Skripsi ini yaitu dengan langkah - langkah sebagai berikut:

- Diambil tiram *Crassostrea cucullata* pada stasiun yang telah ditentukan.
- Tiram *Crassostrea cucullata* di bersihkan dengan air yang mengalir hingga bersih dari lumpur.
- Kemudian tiram *Crassostrea cucullata* yang telah dibersihkan dimasukkan kedalam wadah kantong plastik ukuran 1 kg.
- Selanjutnya kantong plastik yang telah terisi tiram *Crassostrea cucullata* diikat dengan karet gelang kemudian diberi label dan keterangan untuk menandai biota agar tidak tertukar.

- Setelah itu, di masukkan ke dalam cool box yang berisi es batu dalam kemasan agar biota tidak membusuk saat di perjalanan.
- Selanjutnya tiram *Crassostrea cucullata* di beri perlakuan di Laboratorium Ichthyologi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang

3.5.4 Pembuatan Irisan Jaringan

3.5.4.1 Pembedahan dan Pengawetan Lambung Tiram

Menurut Farabi (2012), pembedahan dan pengawetan lambung tiram dapat dilakukan dengan cara:

- a. Cangkang tiram dibuka menggunakan “betel” tipis
- b. Organ dalam dibedah menggunakan sectio set
- c. Kemudian lambung tiram diambil dan ditimbang
- d. Lambung dimasukkan kedalam botol kaca yang telah diisi dengan larutan formalin 10%.

3.5.4.2 Pengamatan Histopatologi

Pengamatan Histopatologi dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang. Menurut Muntiha (2001), prosedur histopatologi antara lain:

- a. **Organ difiksasi dengan formalin 10% selama semalam.**
- b. **Pemotongan jaringan Makros.**
 1. Diambil organ yang telah difiksasi.
 2. Jaringan dipotong dengan ketebalan 2 - 3 mm
 3. Jaringan disusun kedalam *tissue cassette* sesuai dengan kode.
 4. Dimasukkan *tissue cassette* ke dalam keranjang khusus.

c. Proses Dehidrasi

1. Keranjang dimasukkan ke dalam *tissue tex processor* untuk diproses secara otomatis.
2. Jaringan mengalami proses dehidrasi bertahap dengan putaran waktu : alkohol 70% (2 jam), alkohol 80% (2 jam), alkohol 90% (2 jam), alkohol absolut (2 jam), alkohol absolut (2 jam), xylol (2 jam), xylol (2 jam).

d. Proses Vakum

1. Diletakkan keranjang di dalam mesin vakum untuk penghilangan udara dari jaringan dengan temperatur (50-60°C) selama 30 menit.
2. Keranjang diambil dan dikeluarkan *tissue cassette*.

e. Pengeblokan

1. Dihangatkan parafin cair, pinset dan cetakan.
2. Parafin cair dituangkan ke dalam cetakan.
3. Jaringan dari *Tissue Tex Prosesor* dimasukkan kedalam cetakan yang telah diisi parafin cair, tekan jaringan agar semakin menempel di dasar cetakan.
4. Tutup cetakan diambil, letakkan di atasnya dan di tekan. Pasang etiket di pinggir.
5. Biarkan sampai membeku.
6. Setelah beku, keluarkan dari cetakan. Rapikan sisi-sisi blok. Ganti etiket dengan yang permanen.
7. Sebelum dipotong, paraffin blok didinginkan dengan es batu sampai ± 30 menit.

f. Pemotongan dengan Mikrotom

1. Blok di jepit pada mikrotom
2. Blok paraffin dipotong dengan pisau mikrotom. Kemiringan: $\pm 30^\circ$. Tebal $\pm 3-5$ mikron.

3. Hasil pemotongan (berupa pita/irisan tipis yang saling bersambung) dimasukkan ke dalam waterbath yang diisi air yang sudah dihangatkan 40°C -50°C. Kemudian diambil dengan kaca objek (Meletakkan potongan di waterbath tidak boleh terbalik).
4. Disusun dalam *object glass box*.
5. Dimasukkan ke dalam inkubator bersuhu 60°C.
6. Lakukan deparafinasi preparat (blok parafin) dengan xylol sebanyak 3 kali masing-masing 3 menit.
7. Rehidrasi preparat dengan menggunakan atanol 100%, 95% dan 70%. Masing-masing selama 2 menit, 2 menit, dan 1 menit.

3.5.5 Pewarnaan Imunohistokimia

Prosedur pewarnaan dengan menggunakan sampel bagian lambung Tiram (*Crassostrea cucullata*) dilakukan di Laboratorium Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang. Menurut Larasati (2010), yaitu sebagai berikut:

1. Masing-masing sample ditetesi Phospate Buffer Saline (PBS) sebanyak 3 kali setiap 5 menit. PBS berfungsi dalam menstabilkan pH jaringan.
2. Ditetesi 3 CDTA (ethylene diamine tetra acetic acid) dan dibiarkan selama 10 menit. Berfungsi sebagai fiksasi jaringan.
3. Ditetesi Na-sitrat dan dibiarkan selama 10 menit.
4. Dibilas dengan PBS sebanyak 3 kali setiap 5 menit.
5. Ditetesi H₂O₂ 0,3% dan dibiarkan selama 30 menit.
6. Dibilas dengan PBS sebanyak 3 kali setiap 5 menit.
7. Diinkubasi serum 1% di PBS dan ditunggu selama 30 menit.
8. Ditetesi antibodi Metallothionein dan diinkubasi di kulkas selama 1 malam.
9. Dibilas dengan PBS sebanyak 3 kali setiap 5 menit.

10. Ditetesi 2ndAB in PBS dengan perbandingan 1:200 dan dibiarkan selama 60 menit.
11. Dibilas dengan PBS sebanyak 3 kali setiap 5 menit.
12. Ditetesi detection antibodi (SAHRP) hingga terendam dan dibiarkan selama 60 menit.
13. Dibilas PBS sebanyak 2 kali setiap 5 menit.
14. Dicuci aquades dan dibiarkan selama 5 menit.
15. Ditetesi DAB (Dimetil Amino Benzaldehid) dengan perbandingan 1:45 hingga berwarna coklat.
16. Dibilas dengan D2H2O.
17. Ditetesi dengan haematoxylin selama 10 menit.
18. Dibilas dengan D2H2O.
19. Dibilas dengan air kran.
20. Diberi cover glass.

3.5.6 Scan dengan Mikroskop Dot slide

Pada pengamatan mikroskop, digunakan mikroskop dot slide dengan tipe BX51 dan kamera XC10.

- a. Fungsi Scan:
 1. Nyalakan seluruh power, mikroskop, CPU, layar monitor dan power server.
 2. Tunggu sampai proses loading selesai.
 3. Setelah komputer siap, klik 2 kali Dot Slide.
 4. Untuk proses scan diprogram dot slide ada lima pilihan kotak yang terdiri dua baris atas dan bawah.
 5. Kotak atas digunakan untuk single scan (satu slide).
 6. Kotak bawah digunakan untuk multisingle scan (lebih dari satu slide).
 7. Salah satu kotak pilihan di klik sesuai dengan kebutuhan.

8. Klik manual load tataan slide mikroskop akan lebih menonjol ke depan.
 9. Letakkan slide pada papan slide dengan benar dan klik OK.
 10. Klik next.
 11. Pilih perbesaran yang akan discan sesuai dengan kebutuhan.
 12. Klik scan now untuk memulai proses scan.
 13. Ditunggu proses scan sampai selesai.
 14. Setelah selesai, klik file -save as- di pojok kiri atas dan di masukkan folder dan diberi nama file sesuai dengan keinginan.
- b. Fungsi Foto
1. Pilih menu live.
 2. Atur menggunakan jointstik sesuai gambar objek yang dimaksud.
 3. Atur focus di jointstik, setelah focus sempurna sesuai dengan yang dimaksud kemudian klik Snapshot.
 4. Klik file-save as- di pojok kiri atas dan di masukkan folder dan diberi nama file sesuai dengan keinginan.

3.5.7 Perhitungan Densitas dan Intensitas

Prosedur analisis densitas Metallothionein dapat dilakukan dengan menggunakan software Olyvia dan ImageJ. Olyvia adalah aplikasi gambar yang digunakan untuk melihat hasil gambar yang telah di scan melalui mikroskop, yang diperoleh dari:

https://support.olympus.co.jp/cf_secure/en/lisg/bio/download/ga/olyvia/.

Sedangkan untuk menghitung densitas metallothionein menggunakan aplikasi ImageJ. ImageJ adalah aplikasi berbasis Java untuk menganalisis gambar yang diperoleh dari : <http://imagej.en.softonic.com/>.

- olyVIA

1. Menyalakan komputer
2. Tunggu sampai proses loading selesai
3. Buka perangkat lunak olyVIA
4. Buka scan pada gambar file
5. Memilih gambar yang diperlukan menggunakan image navigator
6. Tekan print screen untuk memilih gambar

- Paint

1. Klik start pada layar komputer
2. Buka paint
3. Klik copy display to clipboard untuk memindah gambar
4. Pada paint, pilih paste
5. Pilih save as untuk menyimpan gambar

- ImageJ

1. Buka Mozilla Firefox/Google Chrome atau browser lainnya
2. Mengaktifkan software ITCN 1.6 jar, ITCN (Image-based Tool for Counting Nuclei) adalah bagian dari plugins imageJ yang berfungsi untuk jumlah sel dari gambar.

http://biodev.ece.ucsb.edu/projects/bioimage/downloader/download/category/7/file/34/ICTN_1_6_.jar

3. Plugin ITCN di program files > imageJ > plugins > paste
4. Buka imageJ
5. Pilih file > open > pilih gambar yang akan di analisis
6. Klik edit > invert, untuk mengetahui bagian yang akan dihitung
7. Klik image > type > 8 bit, untuk mengubah gambar menjadi grayscale
8. Klik Plugins > ITCN > count
9. Result, didapatkan hasil jumlah MT pada gambar

Prosedur analisis intensitas metallothionein dapat dilakukan dengan cara dengan memanfaatkan gambar dari software Olyvia kemudiann dihitung menggunakan software ImageJ dengan prosedur sebagai berikut :

- olyVIA
 1. Menyalakan komputer
 2. Tunggu sampai proses loading selesai
 3. Buka perangkat lunak olyVIA
 4. Buka scan pada gambar file
 5. Memilih gambar yang diperlukan menggunakan image navigator
 6. Tekan preen screen untuk memilih gambar
- Paint
 1. Klik start pada layar komputer
 2. Buka paint
 3. Klik copy display to clipboard untuk memindah gambar
 4. Pada paint, pilih paste
 5. Pilih save as untuk menyimpan gambar
- imageJ
 1. Buka imageJ
 2. Pilih file > open > pilih gambar yang akan di analisis
 3. Klik analyze > set measurement > centang Area, Mean Gray Value, Integrated Density, Stdev dan Display label, Redirect to gambar yang akan dianalisis > OK
 4. Klik "OVAL", elliptical or brush selections
 5. Arahkan ke gambar, untuk menyamakan lingkaran di gambar yang lain perhatikan navigation bar, catat weight dan height.

6. Tekan M pada keyboard untuk mengetahui hasil ukuran warna

3.5.8 Analisis Data

Analisis data dalam penelitian ini menggunakan analisa regresi kolerasi dengan model regresi linier berganda pada software SPSS versi 16.0. Analisa regresi merupakan alat analisa yang mampu menjelaskan pola hubungan antara dua variabel atau lebih yang terdiri atas variabel dependen (Y) dan variabel independen (X), sedangkan koefisien korelasi menunjukkan arah hubungan antara variabel X dan Y. Menurut Sujianto (2009), menyatakan bahwa regresi berganda seringkali digunakan untuk mengatasi permasalahan analisis regresi yang melibatkan hubungan dari dua atau lebih variabel bebas. Model regresi ini digunakan untuk mengetahui hubungan densitas dan intensitas Metallothionein yang merupakan variabel terikat (Y) pada lambung tiram *Crasostrea cucullata* terhadap panjang tiram yang merupakan variabel bebas (X_1) dan kadar logam berat Pb, Cd dan Hg yang merupakan variabel bebas (X_2). Persamaan model regresi linier berganda menurut Walpole (1995) yaitu:

$$Y = a + b_1X_1 + b_2X_2$$

Keterangan:

Y : Variabel terikat (kadar densitas dan intensitas metallothionein pada lambung tiram *C.cucullata*)

a : Intersep atau perpotongan dengan sumbu tegak (y)

b_1 : Kemiringan atau gradien variabel bebas ke-1

b_2 : Kemiringan atau gradien variabel bebas ke-2

X_1 : variabel bebas ke-1 (panjang tiram)

X_2 : variabel bebas ke-2 (kadar logam berat Pb, Hg, Cd pada lambung tiram *C.cucullata*)

3.5.9 Analisis Kualitas Air Pendukung

Parameter analisa kualitas air pendukung penelitian ini terdiri dari suhu, pH, oksigen terlarut, TOM, dan salinitas di lokasi. Tujuan analisa kualitas ini untuk mendukung, menunjang serta untuk mengetahui kondisi lingkungan perairan tempat hidup tiram.

1. Suhu

Prosedur pengukuran suhu diukur dengan Termometer Hg Menurut Subarijanti (1990) adalah sebagai berikut:

- Memasukkan termometer Hg ke dalam perairan, dan ditunggu beberapa saat sampai air raksa dalam termometer berhenti pada skala tertentu
- Mencatat dalam skala °C
- Membaca skala pada saat termometer masih di dalam air, dan jangan sampai tangan menyentuh bagian air raksa thermometer.

2. pH

Pengukuran pH di lakukan dengan pH paper Menurut Suprpto (2011) adalah sebagai berikut:

- Menyiapkan pH paper
- Memasukkan pH paper ke dalam contoh air sekitar 3 menit, kemudian dicocokkan perubahan warna pH paper dengan kotak standar.

3. Oksigen terlarut

Prosedur pengukuran oksigen terlarut di lakukan dengan cara Winkler Menurut Suprpto (2011) adalah sebagai berikut:

- Mengukur dan mencatat volume botol DO yang akan digunakan $\pm 250 - 300$ mL

- Memasukkan botol DO ke dalam air yang akan diukur oksigennya secara perlahan-lahan dengan posisi miring dan diusahakan jangan sampai ada gelembung udara
- Menutup botol DO didalam air dan dipastikan tidak ada gelembung udara
- Menambahkan MnSO_4 2 ml, NaOH + KI 2 ml lalu bolak-balikkan botolnya sampai homogen
- Mengendapkan dan didiamkan selama kurang lebih 30 menit sampai terjadi endapan coklat
- Membuang air yang bening di atas endapan, dan menambahkan 1-2 ml H_2SO_4 dan mengkocok sampai endapan larut
- Menambahkan 3-4 tetes amylum, diaduk dan dititrasi dengan Na -thiosulfat 0,025 N sampai jernih
- Mencatat volume titran
- Mengukur kadar oksigen yang terlarut dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{DO} = \frac{V \text{ titran} \times N \text{ titran} \times 8 \times 1000}{V. \text{ botol DO} - 4}$$

Keterangan :

v : ml larutan Natrium Thiosulfat untuk titrasi

N : Normalitas larutan Natrium thiosulfat

V : Volume botol DO

4. Total Organik Matter

Menurut SNI (1990), prosedur pengukuran TOM menggunakan metode titrasi adalah sebagai berikut :

- Memasukkan 50 ml air sampel ke dalam Erlenmeyer
- Menambahkan 9,5 ml KMnO_4 dari buret dan ditambahkan 10 ml H_2SO_4

- Dipanaskan di atas water bath sampai suhu mencapai 70-80° C kemudian angkat
- Bila suhu telah turun menjadi 60-70°C langsung tambahkan Na-oxalate 0,01 N perlahan sampai tidak berwarna
- Segera titrasi dengan KMnO_4 0,01 N sampai terbentuk warna (merah jambu / pink) dan volume yang terpakai dicatat sebagai ml titran (x ml)
- Melakukan prosedur (1-5) dengan menggunakan sampel berupa aquadest dan dicatat titran yang digunakan sebagai (y ml). Selanjutnya kadar TOM dalam perairan tersebut dapat dihitung menggunakan rumus

$$\text{TOM} = \frac{(x-y) \times 31,6 \times 0,01 \times 1000}{\text{ml air sampel}}$$

5. Salinitas

Menurut SNI (1990), prosedur pengukuran salinitas dengan menggunakan Refraktometer adalah sebagai berikut :

- Menyiapkan refraktometer
- Membuka penutup kaca prisma dan mengkalibrasi dengan aquadest
- Membersihkan dengan tissue secara searah
- Meneteskan 1-2 tetes air yang akan diukur salinitasnya
- Menutup kembali dengan hati-hati agar tidak terjadi gelembung udara dipermukaan kaca prisma
- Mengarahkan ke sumber cahaya
- Melihat nilai salinitasnya dan air yang diukur melalui kaca prisma

3.5.8 Prosedur Analisis Logam (Pb, Cd, dan Hg)

Menurut Departement Pekerjaan Umum, 1990 *dalam* Widiati, 2010, metode analisis logam Pb, Cd dan Hg sebagai berikut :

- Menimbang masing-masing sampel padat ± 15 gr dengan timbangan Sartorius untuk mendapatkan berat basah.
- Mengoven sampel padat pada suhu $\pm 105^{\circ}\text{C}$ selama 3-5 jam sampai mendapat berat konstan.
- Menimbang berat konstan dengan timbangan Sartorius sebagai berat kering.
- Memasukkan sampel yang sudah kering ke dalam *beaker glass* 100 ml.
- Menambahkan HNO_3 dengan perbandingan 1:1 ($\text{HNO}_3:\text{HCL}$) sebanyak $\pm 10-15$ ml.
- Memanaskan diatas *hot plate* di dalam kamar asam sampai ± 3 ml.
- Menyaring dengan kertas saring ke dalam labu ukur 50 ml.
- Mengulang proses penyaringan sampai tanda batas labu ukur dengan terlebih dahulu menambahkan 15 ml aquades ke dalam *beaker glass*.
Tempat sampel.
- Menganalisis sampel dengan menggunakan mesin *Atomic Absorbstion Spectrophotometer* (AAS) pada panjang gelombang 283,3 nm.
- Menyiapkan larutan standar.
- Menganalisis larutan standar dengan mesin AAS dan mencatat nilai absorbannya kemudian membuat kurva kalibrasinya. Larutan standar ini berfungsi untuk membantu nilai konsentrasi logam Pb, Cd, dan Hg pada sampel, karena prinsip kerja mesin AAS hanya menentukan nilai absorbansi dengan sampel.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Deskripsi Lokasi Penelitian

Menurut Pemerintah Kabupaten Sumenep (2014), desa Prenduan terletak di kecamatan Peragaan kabupaten Sumenep. Desa Prenduan sendiri merupakan desa yang terletak di pinggiran jalan poros propinsi yang menghubungkan Kabupaten Pamekasan dan Sumenep. Desa Prenduan merupakan desa di pesisir selatan pulau Madura, kurang lebih 30 km sebelah barat kota Sumenep dan 22 km sebelah timur kota Pamekasan. Batas-batas wilayah desa Prenduan meliputi :

1. Sebelah Utara : Kecamatan Guluk-guluk
2. Sebelah Timur : Kelurahan Aengpanas
3. Sebelah Selatan : Selat Madura
4. Sebelah Barat : Kelurahan Peragaan Lao'

Wilayah Kabupaten Sumenep berada diujung timur Pulau Madura dengan letak geografis diantara $113^{\circ} 32'$ - $116^{\circ} 16'$ Bujur Timur dan $4^{\circ} 55'$ - $7^{\circ} 24'$ Lintang Selatan. Kabupaten Sumenep secara umum berada pada ketinggian antara 0 - 500 meter di atas permukaan laut. Sedangkan sebagian lagi berada pada ketinggian antara 500 - 1000 meter di atas permukaan laut. Kondisi ketinggian wilayah di Kabupaten Sumenep dibagi menjadi 2, yaitu wilayah dengan ketinggian 0 - 500 meter dpl seluas 208.697,40 Ha atau mencapai luasan sekitar 99,72 % dari seluruh luas wilayah Kabupaten Sumenep, dan Wilayah yang memiliki ketinggian 500 - 1000 meter dpl mencapai luasan 578,42 Ha atau sekitar 0,28 % dari seluruh luas wilayah Kabupaten Sumenep (Pemerintah Kabupaten Sumenep, 2014)

Secara geografis Prenduan terdiri dari dua karakter wilayah yaitu daerah gunung dan daerah pesisir yang membentang di utara dan selatan dibelah oleh

jalan utama desa berupa jalan kabupaten. Daerah gunung oleh masyarakat setempat dikenal sebagai daerah onggan, karena letaknya secara topografis yang lebih tinggi. Lahan pertanian terletak di bagian utara desa, dimana lahan umumnya kering. Daerah Pesisir terletak di bagian selatan, lahannya landai berpasir. Daerah ini langsung berhubungan dengan selat Madura. Di sepanjang pantai banyak berdiri rumah-rumah kuno peninggalan para juragan pribumi dan cina yang berhasil melakukan perdagangan melalui perhubungan laut. Di tepian pantai banyak berjejer perahu nelayan yang umumnya milik para nelayan yang tinggal di daerah ini.

4.1.1 Stasiun Pengamatan I

Stasiun I terletak di daerah mangrove yang dekat dengan tempat pembuangan tinja manusia, yang berada pada $7^{\circ}06'33.32''$ - $7^{\circ}06'33.67''$ Lintang Selatan dan $113^{\circ}40'39.17''$ - $113^{\circ}40'36.88''$ Bujur Timur. Pada stasiun ini banyak ditemui pohon-pohon mangrove yang memiliki fungsi yang sangat penting sebagai pelindungan pantai serta sebagai penyedia pangan, tempat perlindungan dan perkembangbiakan berbagai jenis biota laut salah satunya tiram *Crasostrea cucullata*. Kawasan mangrove ini dekat dengan jalan raya yang menghasilkan emisi gas kendaraan bermotor yang dapat menambah kandungan logam berat di kawasan mangrove. Stasiun 1 dapat dilihat pada **Gambar 4**.



Gambar 4. Kawasan Mangrove (Stasiun I)

4.1.2 Stasiun Pengamatan II

Stasiun II terletak di sekitar pemukiman dan bagian pelabuhan yang digunakan sebagai berlabuhnya kapal-kapal nelayan, yang berada pada $7^{\circ}06'32.67''$ - $7^{\circ}06'33.79''$ Lintang Selatan dan $113^{\circ}40'39.11''$ - $113^{\circ}40'39.09''$ Bujur Timur. Pada stasiun ini digunakan untuk area berlabuhnya kapal setelah mendaratkan hasil tangkapan serta dekat dengan pemukiman penduduk, sehingga diduga sumber pencemar berasal dari aktivitas manusia seperti limbah domestik dan limbah pencucian hasil tangkapan ikan yang langsung dibuang ke laut. Di stasiun ini sangat kotor dikarenakan dekat dengan tempat pembuangan limbah baik dari limbah domestik maupun limbah dari hasil pengolahan dan pencucian hasil tangkapan nelayan. Kondisi dasar atau substrat di stasiun ini dominan lumpur. Stasiun II ditunjukkan pada **Gambar 5**.



Gambar 5. Tempat berlabuhnya kapal dan pemukiman warga (stasiun II)

4.1.3 Stasiun Pengamatan III

Stasiun III terletak di areal yang disekitar atas perairannya terdapat peternakan ayam, yang terletak pada $7^{\circ}06'32.77''$ - $7^{\circ}06'33.44''$ Lintang Selatan dan $113^{\circ}40'41.33''$ - $113^{\circ}40'41.23''$ Bujur Timur. Pada stasiun ini berada di dekat peternakan ayam, selain itu juga banyak kapal nelayan setempat yang bersandar

di dekat stasiun ini. Di stasiun ini juga kotor karena banyak limbah domestik yang dibuang di daerah ini. Kondisi dasar atau substrat di stasiun ini dominan lumpur. Stasiun III ditunjukkan pada **Gambar 6**.



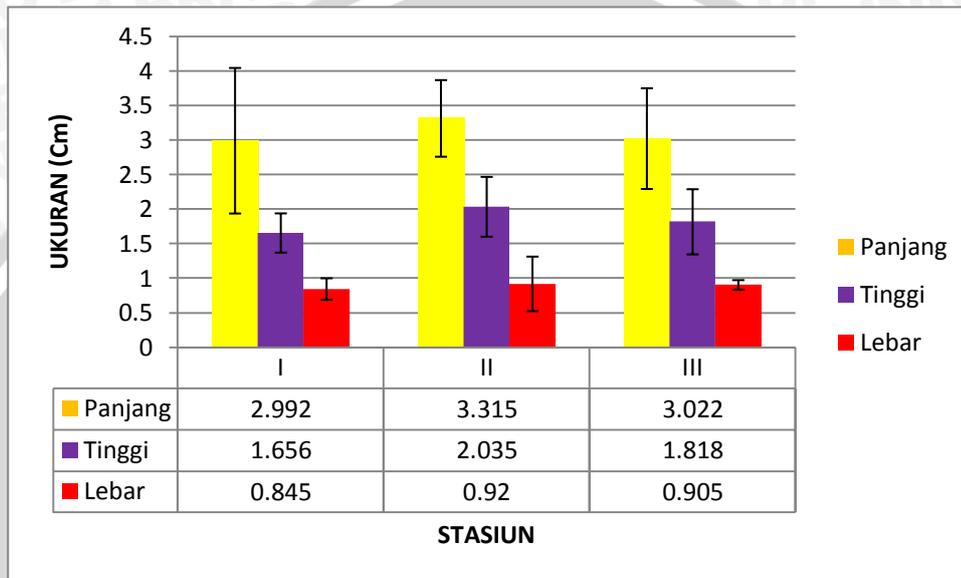
Gambar 6. Daerah peternakan ayam (stasiun III)

4.2 Sebaran Ukuran Sampel

Sebaran ukuran sampel yang didapat pada saat penelitian yaitu dengan cara mengukur panjang, lebar dan tinggi dari cangkang tiram *Crasostrea cucullata* sebanyak 3 kali ulangan dalam masing-masing stasiun. Rata-rata ukuran sampel tiram *Crasostrea cucullata* yang didapatkan pada masing-masing stasiun berbeda-beda. Data ukuran tiram ini, didapatkan dari pengambilan sampel tiram pada masing-masing plot. Pada stasiun I, rata-rata panjang tiram yaitu 2,992 cm, rata-rata lebar tiram 1,656 cm dan rata-rata tinggi tiram 0,845 cm. Pada stasiun II, rata-rata panjang tiram yaitu 3,315 cm, rata-rata lebar tiram 2,035 cm dan rata-rata tinggi tiram 0,92 cm. Pada stasiun III, rata-rata panjang tiram yaitu 3,022 cm, rata-rata lebar tiram 1,818 cm dan rata-rata tinggi tiram 0,905 cm. Sebaran ukuran sampel tiram *Crasostrea cucullata* dapat dilihat pada **Lampiran 3**.

Ukuran yang didapatkan pada masing-masing stasiun berbeda-beda. Ukuran ini menentukan jumlah Metallothionein yang terkandung pada tiram *Crasostrea cucullata*. Pada stasiun II didapatkan ukuran tiram yang lebih besar

dibandingkan ukuran tiram pada stasiun I dan III. Menurut Ramon and Richardsdson (1992), ukuran tiram sekaligus mempresentasikan usia dari tiram, yang biasanya dapat dilihat melalui ukuran cangkang sekaligus jumlah *bend* yang terdapat pada cangkang tiram tersebut. Hasil penentuan sebaran ukuran sampel yang terbesar hingga terkecil dapat dilihat pada **Gambar 7**.



Gambar 7. Hasil Ukuran Rata-Rata Panjang Tiram *Crasostrea cucullata*

Ukuran tiram dari masing-masing stasiun berbeda-beda, dimana ukuran rata-rata tiram paling besar berada di stasiun II, dan ukuran tiram terkecil berada di stasiun I. Ukuran tiram yang besar dikarenakan bahan organik yang terdapat di stasiun II lebih tinggi dibandingkan dengan stasiun I dan stasiun III. Tingginya bahan organik ini akan diikuti oleh pertumbuhan fitoplankton, sehingga tiram dapat berkembang dengan baik seiring dengan terpenuhinya makanan yang dibutuhkannya. Hal ini sesuai menurut pendapat Simanjuntak (2009), zat hara yang merupakan bahan makanan bagi fitoplankton umumnya di peroleh dari daratan sekitarnya dan berasal dari berbagai limbah industri. Fitoplankton merupakan komponen utama rantai makanan bagi biota laut sehingga

keberadaan zat hara dan fitoplankton merupakan salah satu indikator kesuburan perairan.

Menurut Fitriyah (2007), logam berat yang berada dalam tubuh kerang selain berasal dari air laut juga berasal dari makanan yang selanjutnya mengalami biomagnifikasi. Sebagian besar makanan tiram terdiri dari plankton, detritus dan mikroorganisme lain. Fitoplankton sebagai pakan alami tiram juga menyerap logam berat di perairan melalui adsorpsi, umumnya dalam bentuk anorganik. Fitoplankton kemudian di makan oleh tiram dan selanjutnya logam berat akan terakumulasi pada tubuh tiram. Konsentrasi logam berat tersebut akan terus meningkat, sesuai dengan tingkat rantai makanan dan ekosistem perairan sehingga terjadilah proses biomagnifikasi.

Ukuran tiram juga akan mempengaruhi kadar Metallothionein pada tiram tersebut. Selain itu umur tiram juga sangat berpengaruh terhadap daya akumulasi logam berat yang ada di lingkungannya. Diduga semakin besar ukuran tiram (tua), semakin banyak tiram tersebut menyerap logam berat dan semakin banyak pula produksi Metallothionein yang dihasilkan oleh tiram tersebut. Hal ini sesuai menurut Amiard *et al.* (2006) bahwa metabolisme dan ukuran tiram sangat mempengaruhi terhadap kandungan Metallothionein pada tiram tersebut, dimana semakin besar ukuran tiram maka kadar Metallothionein juga semakin tinggi. Begitu juga Isani dan Carpene (2014), mengatakan salah satu faktor yang berpengaruh terhadap kadar Metallothionein dalam tiram yaitu umur tiram.

Tingkat kemampuan individu untuk menyaring dan mengekskresikan logam yang ada dalam tubuhnya berbeda-beda. Faktor-faktor yang mempengaruhi konsentrasi dan akumulasi logam antara lain *bioavailability* logam, ukuran dan berat, dan komposisi jaringan (Boyden & Philips, 1981 dalam Otchere, 2003). Konsentrasi logam pada kelompok kerang-kerangan dalam satu

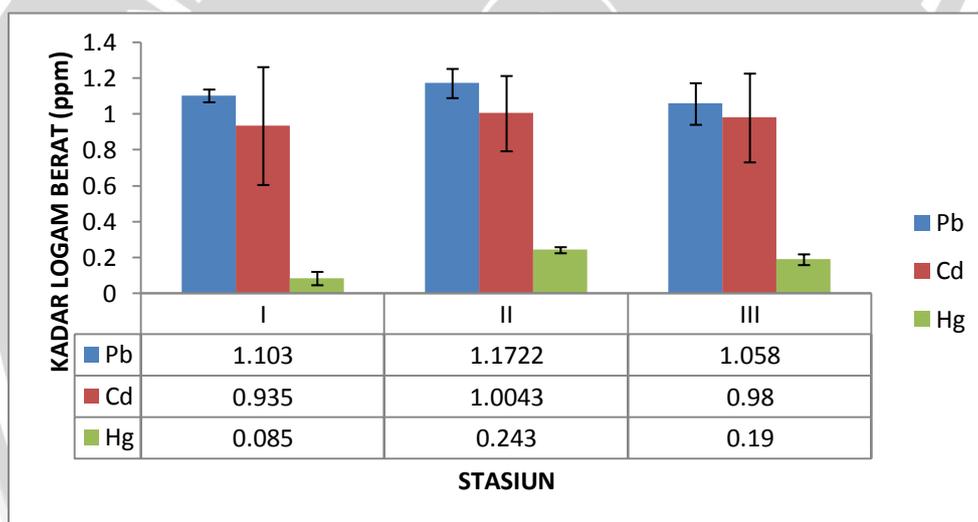
lokasi yang sama berbeda antara individu satu dengan individu yang lain. Hal ini tergantung kemampuan/kapasitas masing-masing individu untuk mengakumulasi logam (Reinfelder, *et al.*, 1997 dalam Otchere, 2003). Semakin besar ukuran tubuhnya (semakin tua) maka kandungan logam berat dalam tubuh juga akan semakin meningkat. Terjadinya peningkatan ini dikarenakan logam berat yang masuk kedalam tubuhnya akan terus diakumulasi (Prasetyo, 2009).

Nurjanah (1983) dalam Rudiyantri (2009), dijelaskan tiram yang berukuran kecil (muda) kemampuan akumulasi logam berat lebih besar dibandingkan tiram yang berukuran lebih besar (tua). Diduga semakin besar ukuran (tua) tiram maka akan semakin baik kemampuannya dalam mengeliminasi logam berat. Berdasarkan penelitian Abdulgani *et al.* (2008), dijelaskan bahwa rerata konsentrasi kadmium pada daging *Perna viridis* cenderung lebih tinggi pada ukuran yang lebih kecil dibanding yang berukuran lebih besar. Inswiasri (1995) menyatakan bahwa kadar kadmium dan merkuri yang terdapat dalam kerang hijau selalu menurun seiring dengan naiknya ukuran kerang. Aunurohim (2006) dalam Abdulgani *et al.* (2008) menyatakan bahwa bioakumulasi logam Cd juga cenderung menurun seiring dengan meningkatnya ukuran cangkang pada *Anadara inaequata* di Kenjeran dan Kangean. Berdasarkan penelitian Cheney (2007), dimana tiram *Crassostrea* sp. yang dibudidayakan di Willapa Bay mengakumulasi kadmium lebih banyak pada masa pertumbuhan tahun pertama dan kedua dalam siklus hidupnya. Sementara tahun ketiga dan keempat justru mengalami penurunan. Hal ini diduga karena adanya tingkat kejenuhan organisme tersebut dalam mengakumulasi kadmium.

4.3 Hasil Analisis Logam Berat pada Lambung Tiram *Crassostrea cucullata*

Tiram merupakan organisme filter feeder karena kemampuannya dalam mendapatkan makanan dengan cara menyaring air yang ada disekitar tempat

hidupnya seperti yang dijelaskan oleh Darmono (2001), bahwa hewan air jenis kerang-kerangan dapat mengakumulasi logam lebih besar daripada hewan air lainnya karena sifatnya yang menetap, lambat untuk dapat menghindarkan diri dari pengaruh polusi dan mempunyai toleransi yang tinggi terhadap konsentrasi logam tertentu. Menurut Ramakritinan *et al.*, (2012), logam berat yang masuk kedalam perairan dapat terakumulasi dalam tubuh organisme. Bivalvia digunakan sebagai organisme uji kadar logam berat dikarenakan bersifat *filter feeder* dan *sedentary*. Hasil penyerapan logam berat oleh lambung tiram berbeda pada setiap stasiun. Rata-rata kandungan logam berat Pb, Cd dan Hg pada lambung tiram pada tiap stasiun penelitian dapat dilihat pada **Gambar 8**.



Gambar 8. Grafik Rata-Rata Kandungan Logam Berat Pb, Cd dan Hg pada Lambung Tiram *Crasostrea cucullata*

Diagram pada gambar 8 diatas menunjukkan bahwa lambung tiram lebih banyak menyerap timbal (Pb) daripada kadmium (Cd) maupun merkuri (Hg). Pada stasiun II, respon lambung tiram terhadap penyerapan logam berat terutama Pb lebih tinggi jika dibandingkan dengan stasiun I dan stasiun III. Rata-rata kadar logam berat Pb di lambung tiram *Crasostrea cucullata* pada stasiun I sebesar 1,103 ppm, pada stasiun II sebesar 1,172 ppm dan pada stasiun III sebesar 1,058 ppm. Rata-rata kadar logam berat Cd di lambung tiram *Crasostrea*

cucullata pada stasiun I sebesar 0,935 ppm, pada stasiun II sebesar 1,004 ppm dan pada stasiun III sebesar 0,980 ppm. Rata-rata kadar logam berat Hg di lambung tiram *Crasostrea cucullata* pada stasiun I sebesar 0,085 ppm, pada stasiun II sebesar 0,243 ppm dan pada stasiun III sebesar 0,190 ppm.

Kandungan logam berat pada lambung tiram relatif lebih tinggi jika dibandingkan dalam air. Hal ini menunjukkan tingkat akumulasi logam berat dalam tiram cukup tinggi. Menurut Saeni (2003), kerang adalah salah satu hewan laut yang paling efisien mengakumulasi logam berat. Hal ini disebabkan, kerang hidup di lapisan sedimen dasar perairan, bergerak sangat lambat, dan makanannya adalah detritus di dasar perairan, sehingga peluang masuk logam berat ke dalam tubuh sangat besar. Sitorus (2011) menjelaskan bahwa, bila konsentrasi logam berat tinggi dalam air, ada kecenderungan konsentrasi logam berat tersebut tinggi dalam sedimen, dan akumulasi logam berat dalam tubuh hewan demersal semakin tinggi.

Menurut Yudha (2008) dalam Wulandari (2010), faktor akumulasi pada setiap jenis biota laut relatif berbeda, hal ini disebabkan oleh perbedaan sifat-sifat biologis (jenis, umur dan fisiologis) masing-masing jenis biota, juga disebabkan oleh perbedaan sifat fisik dan kimia serta aktivitas masing-masing lokasi sebagai contohnya yaitu logam berat Pb. Cara masuk Pb kedalam tiram pertama-tama logam Pb masuk melalui permukaan organ pernafasan yaitu insang dan mantel bersama air atau fitoplankton. Insang menyaring air yang mengandung bahan pencemar dan masuk kedalam tubuh tiram, selanjutnya didistribusikan ke seluruh tubuh melalui aliran darah (haemocyte) dan akhirnya dapat terakumulasi di organ seperti pencernaan (lambung), otot dan lain-lain. Kandungan logam Pb yang masuk kedalam tubuh tiram yang terus menerus, lama-kelamaan akan menyebabkan perubahan atau kerusakan struktur sel dalam tubuh.

Logam berat yang dilepas ke laut kemudian akan diserap oleh biota laut seperti pada tiram dan dapat berakibat pada penurunan respon imunnya. Penurunan respon imun menyebabkan tiram (*Crassostrea virginica*) mudah menyerap polutan seperti Cd yang dapat menyebabkan kematian biota tersebut (Cherkasov, *et al.*, 2007). Bahan pencemar (racun) yang masuk ke tubuh tiram melalui proses absorpsi. Proses ini merupakan perpindahan racun dari lingkungan atau tempat absorpsinya ke dalam sirkulasi darah. Absorpsi, distribusi dan ekskresi bahan pencemar tidak dapat terjadi tanpa transpor melintasi membran. Proses transportasi dapat berlangsung dengan 2 cara : transpor pasif (melalui difusi) dan transpor aktif (melalui sistem transpor khusus dalam hal ini zat terikat pada molekul pengemban) (Yudha, 2008).

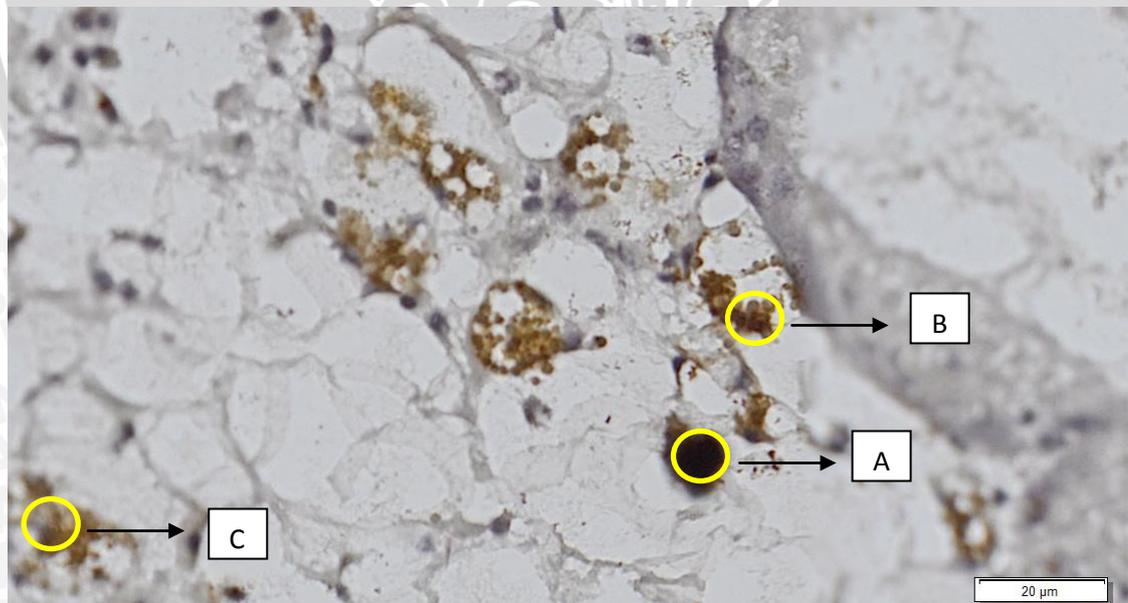
Akumulasi logam berat dapat juga terjadi dalam tubuh organisme. Masuknya logam berat ke dalam tubuh organisme dapat melalui tiga cara yaitu difusi melalui permukaan tubuh, tersaring insang dan masuk bersama rantai makanan. Sedangkan cara keluar logam berat dari tubuh organisme dengan melalui dua cara yaitu ekskresi melalui feses dan urine. Sebagian besar masuknya logam berat ke dalam tubuh organisme adalah melalui rantai makanan, sedikit saja yang diambil langsung dari air melalui proses adsorpsi insang. Pada rantai makanan *fitoplankton* yang merupakan awal dari rantai makanan akan dimakan oleh *zooplankton*, dan *zooplankton* akan dimakan oleh ikan-ikan kecil serta biota lainnya seperti tiram (bivalvia) (Goldberg, 1983 dalam Wardhani, 2009).

4.4 Ekspresi Metallothionein pada Lambung Tiram *Crasostrea cucullata* dengan Teknik imunohistokimia

Ekspresi metallothionein pada lambung tiram *Crasostrea cucullata* dengan teknik imunohistokimia yang terdapat pada tiga stasiun dengan sumber

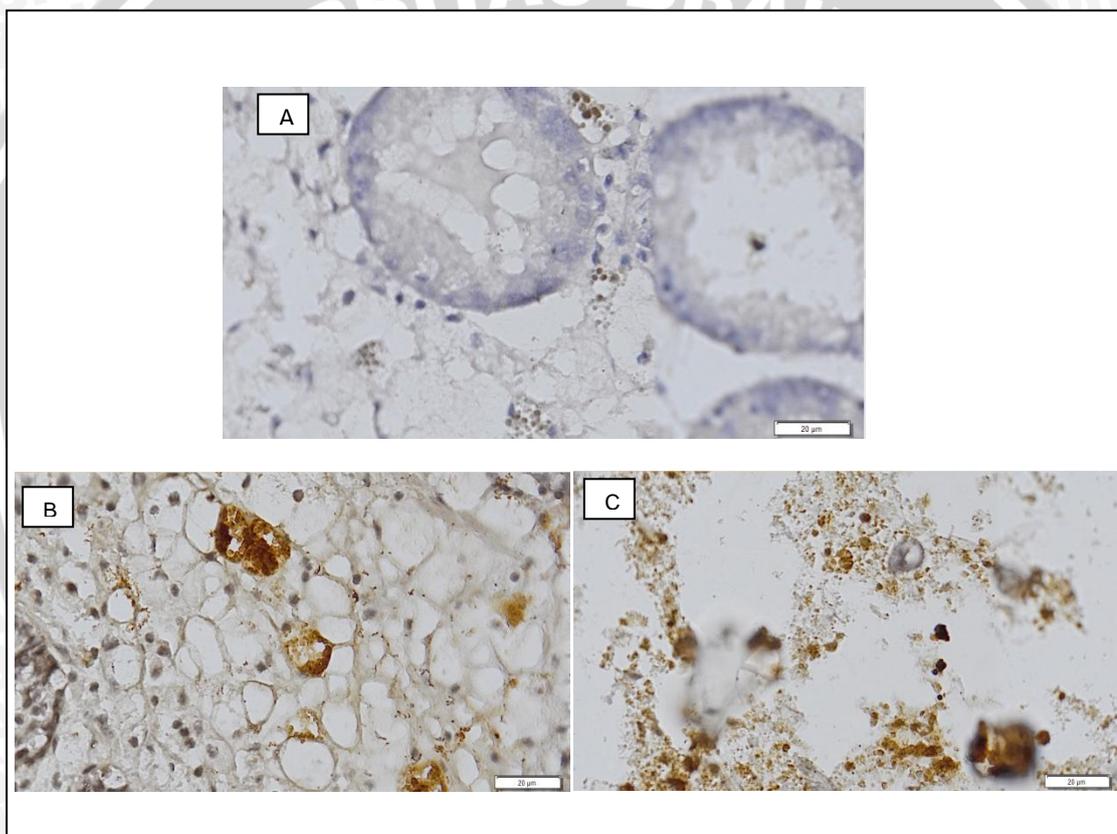
pencemaran yang berbeda menunjukkan bahwa metallothionein terekspresi pada gambar berupa blok-blok warna coklat. Menurut Irvan (2007) dalam Hertika *et al.*, (2014), bahwa metode imunohistokimia juga digunakan untuk mendeteksi atau mengukur kandungan Metallothionein yang diukur dengan memeriksa intensitas warna yang dihasilkan. Intensitas yang dihasilkan akibat reaksi ini dibagi menjadi tiga kelas, yang reaksi positif kuat ditunjukkan dengan warna coklat gelap sampai coklat kehitaman (+ + +), positif sedang yang ditunjukkan oleh berkisar dari coklat gelap ke coklat terang (+ +), dan positif lemah yang ditunjukkan oleh coklat kemerahan (+).

Hasil penelitian Hertika *et al.* (2014) menunjukkan bahwa ekspresi metallothionein reaksi positif kuat nilai intensitasnya yaitu 51.999 pixel, reaksi positif sedang sebesar 39.889 pixel dan positif lemah sebesar 12.138 pixel. Semakin tua dan semakin meratanya warna coklat yang terlihat menunjukkan semakin banyak jumlah metallothionein terekspresi maka semakin tinggi pula kadar logam berat. Ekspresi metallothionein dapat dilihat pada **Gambar 9**.



Gambar 9. Ekspresi Metallothionein skala 20 μ m (A) positif kuat (B) positif Sedang (C) positif lemah

Sama halnya seperti kandungan logam berat, metallothionein terlihat muncul dan berwarna cokelat tua pada jaringan lambung tiram untuk mengikat logam berat yang masuk pada saat tiram menyaring makanan banyak ditemukan pada stasiun II yang merupakan area berlabuhnya kapal setelah mendaratkan hasil tangkapan serta dekat dengan pemukiman penduduk, sedangkan metallothionein yang terlihat sedikit muncul terdapat pada stasiun I yang merupakan daerah mangrove. Ekspresi metallothionein pada masing-masing stasiun dapat dilihat pada **Gambar 10**.



Gambar 10. Ekspresi Metallothionein (A) stasiun I (B) stasiun II (C) stasiun III

Proses terbentuknya warna cokelat dijelaskan oleh Ramos dan Vara (2005), bahwa prinsip pewarnaan imunohistokimia metode peroksidase, yaitu antigen yang ada pada jaringan diikat dengan antibodi primer yang spesifik. Lalu antibodi primer yang terikat antigen kemudian diikat pula dengan antibodi sekunder (anti antibodi primer) yang telah dilabel enzim peroksidase.

Penambahan substrat yang berisi kromogen dan H_2O_2 akan memunculkan endapan berwarna coklat dan H_2O . Endapan coklat merupakan hasil penguraian substrat (kromogen dan H_2O) oleh enzim peroksidase. Warna coklat yang muncul menandakan reaksi positif (+), yang artinya didalam jaringan terdapat antigen. Apabila di jaringan tersebut tidak terdapat antigen, maka tidak akan muncul warna coklat.

Metallothionein merupakan golongan protein yang mempunyai berat molekul yang rendah, mempunyai kadar sistein yang tinggi, dan mempunyai kemampuan untuk mengikat logam dari golongan IB dan ion IIB (Couillard *et al.*, 1993). Menurut Couillard *et al.* (1993), individu mensintesis metallothionein merupakan respon pertahanan terhadap masukan logam beracun dari habitatnya. Pada beberapa organisme yang hidup pada lingkungan perairan telah mengalami kontaminasi logam, hal tersebut akan mendorong organisme untuk meningkatkan sintesis MT. fungsi metallothionein terutama ada kaitannya dengan proses pengikatan logam, menguraikan radikal bebas, konsentrasi protein dan khususnya sistein. Lebih lanjut menurut Murthy *et al.* (2011), fungsi MT secara biologis terutama dalam proses detoksifikasi dari unsur beracun yang masuk kedalam tubuh organisme diantaranya Cd^{2+} dan Hg^{2+} . MT dapat juga bersifat sebagai antioksidan dan berperan dalam proses homeostasi Zn^{2+} .

4.5 Hasil Analisis Densitas dan Intensitas Metallothionein pada Lambung Tiram

4.5.1 Hasil Analisis Densitas Metallothionein pada Lambung Tiram

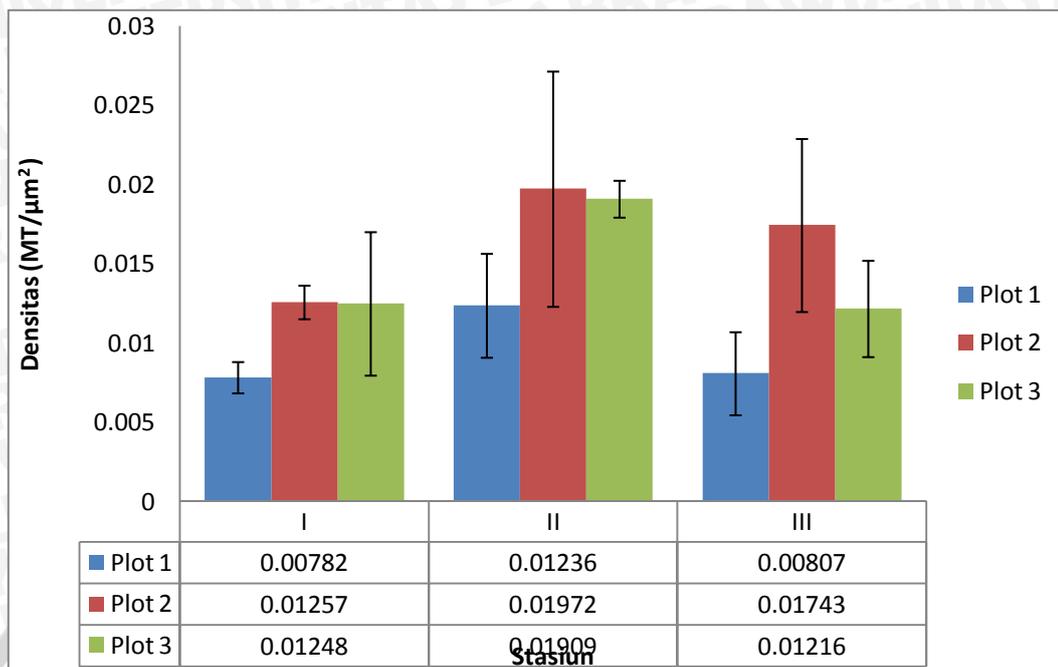
Densitas metallothionein merupakan kuantitas biofisik yang berhubungan langsung dengan penentuan jumlah metallothionein per luas lapang pandang. Hasil perhitungan jumlah metallothionein di sajikan pada **Lampiran 5**. Rata-rata

hasil densitas dari ketiga stasiun, dimana masing-masing stasiun terdapat tiga plot disajikan pada **Tabel 1** berikut ini.

Tabel 1. Data Hasil Analisis Densitas Metallothionein

LAPANG PANDANG	DENSITAS METALLOTHIONEIN (MT/ μm)								
	STASIUN PENELITIAN								
	I			II			III		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	0.00807	0.01135	0.01743	0.00938	0.018	0.02041	0.00516	0.01182	0.01435
2	0.00866	0.01319	0.01144	0.01587	0.01331	0.01865	0.01024	0.01775	0.00869
3	0.00674	0.01319	0.00856	0.01182	0.02786	0.01821	0.00882	0.02273	0.01344
ERATA	0.00782	0.01257	0.01248	0.01236	0.01972	0.01909	0.00807	0.01743	0.01216

Seperti halnya kandungan logam berat pada lambung tiram dan metallothionein yang terekspresi pada gambar, hasil penelitian menunjukkan densitas metallothionein tertinggi ditemukan pada stasiun II yang merupakan daerah area berlabuhnya kapal setelah mendaratkan hasil tangkapan serta dekat dengan pemukiman penduduk, sedangkan densitas terendah pada stasiun I yaitu daerah mangrove. Dari hasil penelitian, ditemukan bahwa nilai densitas Metallothionein pada stasiun I berkisar antara $6,74 \times 10^{-3} \text{ MT}/\mu\text{m}^2 - 17,43 \times 10^{-3} \text{ MT}/\mu\text{m}^2$, stasiun II berkisar antara $9,38 \times 10^{-3} \text{ MT}/\mu\text{m}^2 - 19,72 \times 10^{-3} \text{ MT}/\mu\text{m}^2$ dan stasiun III berkisar antara $5,16 \times 10^{-3} \text{ MT}/\mu\text{m}^2 - 22,73 \times 10^{-3} \text{ MT}/\mu\text{m}^2$. Hasil densitas metallothionein sesuai dengan respon lambung tiram terhadap penyerapan logam berat yang menunjukkan kadar logam berat dalam lambung pada stasiun II lebih tinggi jika dibandingkan dengan stasiun I dan III. Hal ini terlihat jelas pada grafik rata-rata densitas Metallothionein yang disajikan pada **Gambar 11**.



Gambar 11. Grafik Rata-Rata Densitas Metallothionein pada Lambung Tiram

Dari grafik tersebut dapat diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi logam berat yang terpapar dalam tubuh organisme, maka semakin besar pula densitas Metallothionein didalam tubuh suatu organisme tersebut, begitu juga sebaliknya.

Menurut Amiard *et al.* (2006), bahwa metallothionein dapat mereduksi ikatan logam non essensial di dalam sel sehingga keterlibatan Metallothionein dalam akumulasi logam berat ini dianggap penting dengan menghubungkan induksi Metallothionein terhadap toleransi logam berat. Kemudian dijelaskan oleh Quilin dan Mathews (2000), untuk protein dengan berat molekul di bawah 20 kDA kepadatan rata-rata protein tidak konstan seperti yang sering diasumsikan. Menurut Simkiss dan Mason (1983) dalam Suryono (2006), bivalvia mempunyai kemampuan untuk mendetoksifikasi logam berat dengan mensintesis Metallothionein. Sepanjang akumulasi logam berat tersebut bersesuaian dengan sintesis Metallothionein maka bivalvia tersebut dapat terus bertahan hidup. Namun ketika akumulasi logam berat dalam tubuh kerang meningkat,

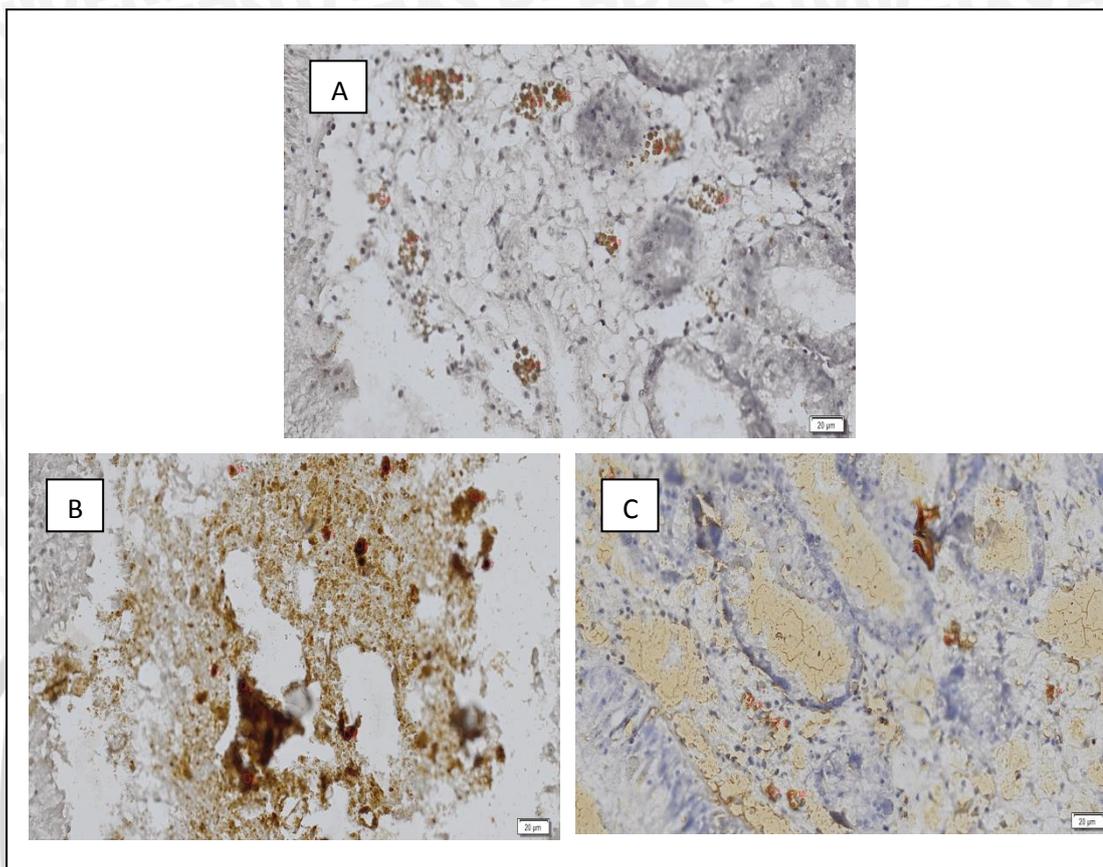
dimungkinkan sintesis metallothionein akan mencapai tingkat maksimum. Hal inilah yang menjadikan bivalvia mampu bertahan pada lingkungan perairan yang tercemar logam berat.

Menurut Hertika *et al.* (2014), kepadatan Metallothionein adalah kuantitas biofisik yang memiliki hubungan langsung dengan penentuan nomor MT per lebar cakupan. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa MT dinyatakan dengan munculnya blok coklat pada insang dan interior jaringan rongga kijing Taiwan. Kecerahan atau kegelapan blok coklat menunjukkan tingkat viskositas MT. Tingkat ini berguna untuk mengukur kepadatan dan intensitas blok coklat. Penelitian menyimpulkan bahwa kepadatan MT dan intensitas kerang taiwan disajikan dalam rongga interior yang lebih tinggi dibandingkan dengan insang. Rata-rata kepadatan MT dan Intensitas meningkat dengan peningkatan dosis paparan. Kenaikan tertinggi ditemukan di $PbNO_3$ dosis paparan 30 ppm, tetapi menurun pada dosis 40 ppm.

4.5.2 Hasil Analisis Intensitas Metallothionein pada Lambung Tiram

Intensitas metallothionein diketahui dengan menggunakan software imageJ pada area 112 dengan lebar 12 dan tinggi 12. Hasil pengamatan intensitas metallothionein pada lambung tiram *Crasostrea cucullata* ditunjukkan pada

Gambar 12 berikut ini



Gambar 12. Intensitas Metallothionein (A) stasiun I (B) stasiun II dan (C) stasiun III

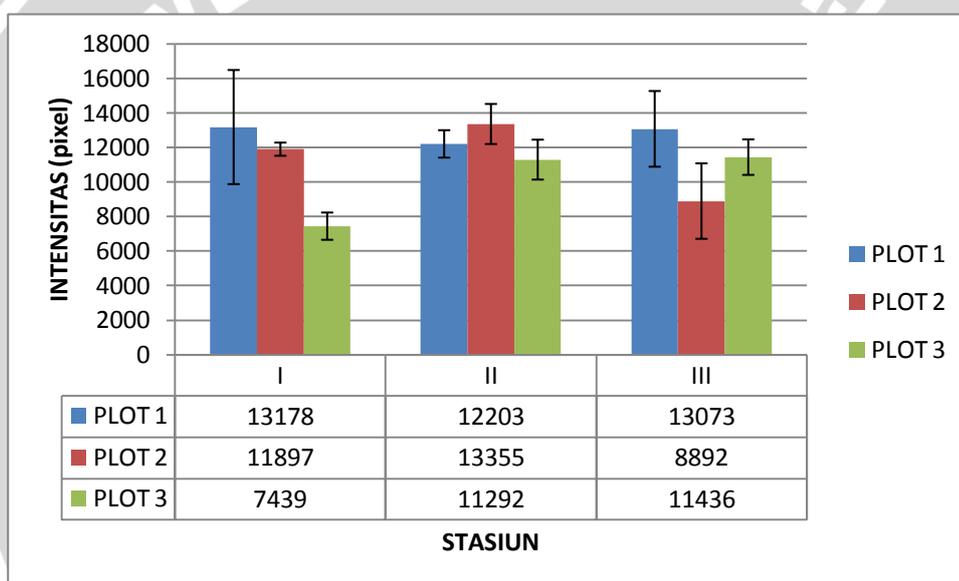
Cara untuk mengetahui nilai intensitas Metallothionein pada masing-masing area disajikan pada **Lampiran 6** dan **Lampiran 7**. Sehingga didapatkan hasil rata-rata intensitas metallothionein pada masing-masing lapang pandang yang ditunjukkan pada **Tabel 2** berikut ini.

Tabel 2. Data hasil analisis rata-rata intensitas Metallothionein

LAPANG PANDANG	INTENSITAS METALLOTHIONEIN (pixel)								
	STASIUN PENELITIAN								
	I			II			III		
1	9831.1	12232	6599	12949	13409	11047	10730	8009	10803
2	13267	11977	7553	11369	12168	12551	13418	11381	10882
3	16437	11481	8166	12292	14488	10277	15073	7288	12623
RERATA	13178.4	11896.7	7439.33	12203.3	13355	11291.7	13073.7	8892.67	11436

Seperti halnya dengan hasil analisis densitas metallothionein pada lambung tiram, hasil penelitian terhadap intensitas Metallothionein menunjukkan bahwa

densitas dan intensitas metallothionein memiliki hubungan yang linear. Intensitas Metallothionein yang ditemukan tertinggi pada stasiun II yang merupakan daerah area berlabuhnya kapal setelah mendaratkan hasil tangkapan serta dekat dengan pemukiman penduduk. Intensitas Metallothionein pada stasiun I berkisar antara 3057 pixel – 19176 pixel, stasiun II berkisar antara 7101 pixel – 59935 pixel dan pada stasiun III berkisar antara 3754 pixel – 19633 pixel. Intensitas warna Metallothionein berbeda-beda pada setiap stasiun tergantung pada tingkat penyerapan logam berat oleh tubuh tiram. Grafik rata-rata intensitas Metallothionein dapat dilihat pada **Gambar 13**.



Gambar 13. Grafik rata-rata intensitas Metallothionein pada Lambung Tiram

Pada grafik rata-rata intensitas Metallothionein didapatkan pada stasiun II rata-rata intensitas Metallothionein pada masing-masing plot perbedaannya tidak terlalu tinggi, sehingga nilai rata-rata intensitas Metallothionein pada stasiun II lebih tinggi dibandingkan stasiun I dan III. Menurut Amiard *et al.*, (2005), bahwa beberapa peneliti menjelaskan bahwa suatu organisme yang hidup pada daerah yang tercemar logam berat mempunyai konsentrasi Metallothionein yang lebih tinggi. Menurut Ringwood *et al.*, (2004) menjelaskan bahwa ada hubungan positif

antara Metallothionein dan polutan logam berat. Kontaminan logam berat dapat mengakibatkan kerusakan sistemik suatu organisme dan mengakibatkan kelebihan produksi Metallothionein.

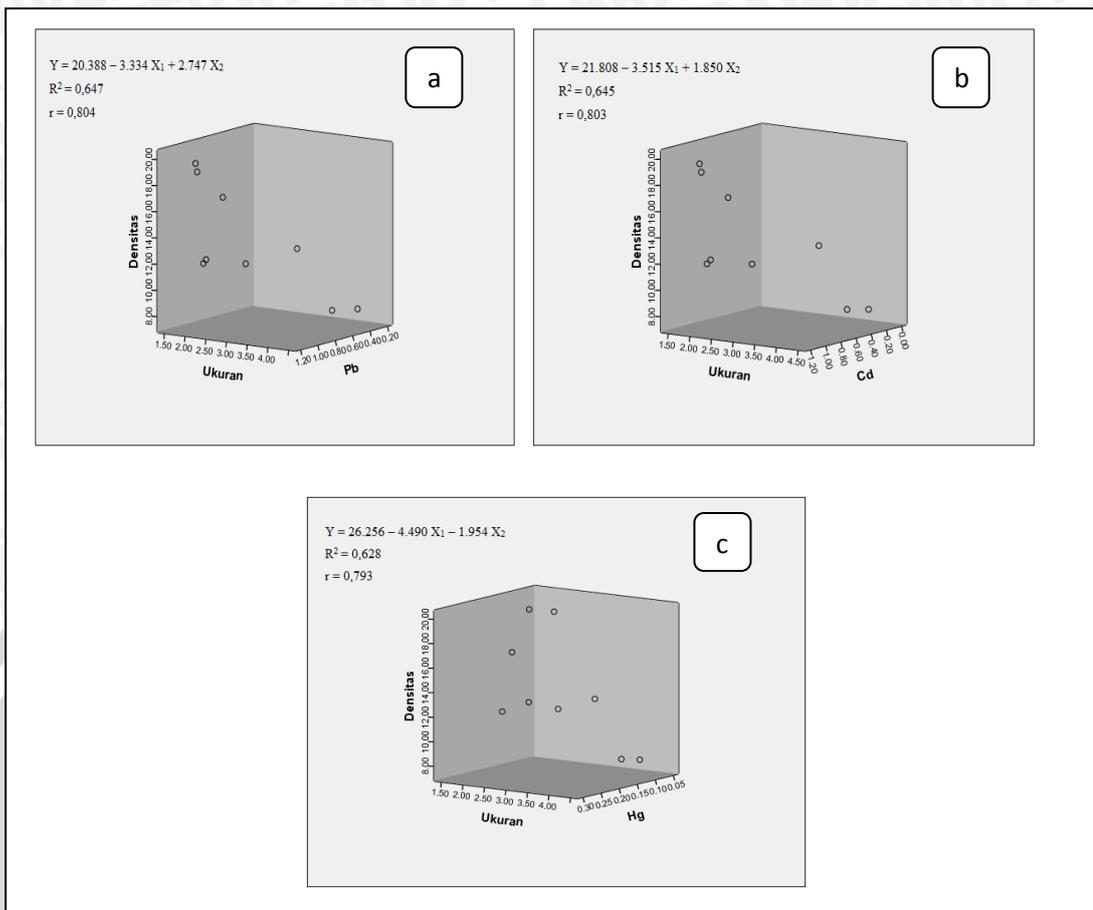
Satuan pixel untuk intensitas Metallothionein dijelaskan oleh Cregger *et al.*, (2006), bahwa pixel merupakan dasar satuan komparasi analisis kuantitatif untuk ekspresi protein dalam penggunaan imunofluorescent untuk mengenali dan sebagai pembeda warna gelap untuk Metallothionein. Algoritma ini digunakan untuk mengukur ekspresi daripada marker yang penting melalui seluler dan subseluler. Informasi variabel melalui (AQUA score) yaitu dapat diketahui melalui intensitas pixel/pixel area dengan nilai yang disesuaikan pada kapasitas suatu gambar sehingga dasar dari rata-rata intensitas dapat diketahui melalui evaluasi dari semua jumlah pixel yang ada pada gambar. Menurut Fazry (2008), citra digital tersusun atas sejumlah tertentu pixel. Setiap pixel pada citra memiliki suatu nilai yang disebut intensitas pixel. Nilai intensitas pixel merupakan nilai yang menentukan derajat dari pixel tersebut.

Pixel adalah elemen terkecil dari sebuah gambar. Satu gambar dapat terdiri dari ribuan bahkan jutaan pixel. Satu pixel tidak mempunyai arti apa-apa karena itu hanyalah satu titik dengan warna tertentu. Satu pixel hanyalah sebuah titik. Sebuah gambar adalah jutaan pixel. Bila terdapat sebuah gambar yang memiliki 3000 x 2000 pixel (3000 pixel kiri ke kanan, 2000 pixel atas ke bawah), maka pada gambar tersebut terdapat total $3000 \times 2000 = 6.000.000$ pixel. Pada digital photography, terdapat dua sistem untuk menentukan warna apa pada pixel tertentu. Sistem tersebut adalah sistem CMYK yang berarti Cyan Magenta Yellow and Black, serta sistem RGB yang berarti Red Green Blue. CMYK banyak dipakai pada percetakan digital dan imaging. Sedangkan RGB adalah standart de facto pada digital photography dan internet (Krisnadi, 2012).

Roesijadi *et al.* (1988) menjelaskan bahwa penyerapan logam berat yang tinggi ada kaitannya dengan meningkatnya aktivitas sistem dalam sel di hepatopankreas kerang. Lebih lanjut juga dijelaskan bahwa tempat utama terjadinya penyerapan ion logam melalui transport aktif dan pasif terjadi di insang kerang selanjutnya akan terdistribusi masuk kedalam jaringan. Lebih lanjut Roesijadi (1994) menjelaskan, Metallothionein (MT) dianggap mempunyai peran sentral dalam regulasi intraseluler logam seperti tembaga, seng dan kadmium. Peningkatan sintesis MT berkaitan dengan peningkatan kapasitas untuk mengikat logam dan perlindungan terhadap toksisitas logam tersebut.

4.6 Analisis Hubungan Densitas Metallothionein, Panjang Tiram dan Logam Berat pada Lambung Tiram

Hasil analisis regresi linier berganda menunjukkan besarnya kandungan logam berat yang terpapar pada lambung tiram mempengaruhi besarnya kandungan Metallothionein yang ada pada lambung tiram. Densitas Metallothionein akan terus meningkat sesuai dengan kenaikan konsentrasi logam berat pada lambung tiram dan juga kenaikan dari panjang tiram itu sendiri. Grafik hubungan antara logam berat, panjang tiram dan densitas Metallothionein pada lambung tiram tersaji pada **Gambar 14**.



Gambar 14. Grafik hubungan (a) densitas Metallothionein, panjang tiram dan logam berat Pb (b) densitas Metallothionein, panjang tiram dan logam berat Cd (c) densitas Metallothionein, panjang tiram dan logam berat Hg

Keterangan gambar (a) $Y = 20.388 - 3.334 X_1 + 2.747 X_2$
 $R^2 = 0.647$
 $r = 0.804$
 (b) $Y = 21.808 - 3.515 X_1 + 1.850 X_2$
 $R^2 = 0.645$
 $r = 0.803$
 (c) $Y = 26.256 - 4.490 X_1 - 1.954 X_2$
 $R^2 = 0.628$
 $r = 0.793$

Hasil analisis regresi densitas Metallothionein, panjang tiram dan logam berat Pb menunjukkan nilai koefisien determinasi pada lambung tiram dinyatakan dengan R^2 sebesar 0.647, dengan koefisien korelasi (r) 0.804, hal ini menunjukkan bahwa hubungan fungsional densitas Metallothionein, panjang tiram dan logam berat Pb pada lambung tiram *Crasostrea cucullata* sebesar

64,7% dengan tingkat kesalahan sebesar 35,3%. Dilihat dari nilai koefisien korelasi (r), maka dapat dikatakan bahwa secara statistik tingkat hubungan densitas Metallothionein, panjang tiram dan kadar logam berat Pb pada tiram *Crasostrea cucullata* tergolong sangat kuat. Menurut Sarwono (2006), bahwa tingkat korelasi tergolong sangat kuat apabila termasuk dalam interval nilai 0.75 – 0.99. Hasil analisis regresi linier berganda sekaligus menunjukkan bahwa densitas Metallothionein dipengaruhi panjang tiram dan kadar logam berat Pb sebesar 64,7%.

Hasil penelitian Herisa (2013), menunjukkan bahwa setelah dilakukan analisis regresi, logam berat Pb dengan MT yang terkandung pada tiram *Crasostrea cucullata* memiliki nilai koefisien determinasi R^2 sebesar 0.9433 dan hubungan fungsional sebesar 94.33 %, dimana kadar Metallothionein akan meningkat sesuai dengan banyaknya logam berat yang masuk kedalam tubuh organisme.

Hasil analisis regresi densitas Metallothionein, panjang tiram dan logam berat Cd menunjukkan nilai koefisien determinasi pada lambung tiram dinyatakan dengan R^2 sebesar 0.645, dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0.803, hal ini menunjukkan bahwa hubungan fungsional densitas Metallothionein, panjang tiram dan logam berat Cd pada lambung tiram *Crasostrea cucullata* sebesar 64,5% dengan tingkat kesalahan sebesar 35,5 %. Dilihat dari nilai koefisien korelasi (r), maka dapat dikatakan bahwa secara statistik tingkat hubungan densitas Metallothionein, panjang tiram dan kadar logam berat Cd pada lambung tiram *Crasostrea cucullata* tergolong sangat kuat. Menurut Sarwono (2006), bahwa tingkat korelasi tergolong sangat kuat apabila termasuk dalam interval nilai 0.75 – 0.99. Hasil analisis regresi sekaligus menunjukkan bahwa densitas Metallothionein dipengaruhi panjang tiram dan kadar logam berat Cd sebesar 64,5 %.

Hasil analisis regresi densitas Metallothionein, panjang tiram dan logam berat Hg menunjukkan nilai koefisien determinasi pada lambung tiram dinyatakan dengan R^2 sebesar 0.628, dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0.793, hal ini menunjukkan bahwa hubungan fungsional densitas Metallothionein, panjang tiram dan logam berat Hg pada lambung tiram *Crasostrea cucullata* sebesar 62,8% dengan tingkat kesalahan sebesar 37,2 %. Dilihat dari nilai koefisien korelasi (r), maka dapat dikatakan bahwa secara statistik tingkat hubungan densitas Metallothionein, panjang tiram dan kadar logam berat Pb pada lambung tiram *Crasostrea cucullata* tergolong sangat kuat. Menurut Sarwono (2006), bahwa tingkat korelasi tergolong sangat kuat apabila termasuk dalam interval nilai 0.75 – 0.99. Hasil analisis regresi sekaligus menunjukkan bahwa densitas Metallothionein dipengaruhi panjang tiram dan kadar logam berat Hg sebesar 62,8 %. Menurut Santosa (2010), Raksa (Hg) memiliki afinitas yang paling kuat terhadap Metallothionein.

Kandungan logam berat pada lambung tiram *Crasostrea cucullata* berkaitan dengan ukuran (panjang tiram), dimana semakin besar tiram maka akumulasi logam berat di tubuh tiram juga meningkat. Hubungan regresi linier antara logam berat dan ukuran (panjang) tiram disajikan pada **Lampiran 8**. Menurut Amiard *et al.* (2006) bahwa metabolisme dan ukuran tiram sangat mempengaruhi terhadap kandungan Metallothionein pada tiram tersebut, dimana semakin besar ukuran tiram maka kadar Metallothionein juga semakin tinggi. Tinggi rendahnya kadar MT, khususnya pada biota laut utamanya dipengaruhi oleh logam berat baik yang berasal dari alam maupun dari kontaminasi limbah kegiatan manusia yang masuk kedalam perairan dan selanjutnya ke tubuh biota tersebut. Kualitas air dan kondisi biologi juga turut mempengaruhi kadar MT tersebut. Dalam kondisi biologi yang baik, fisiologi tiram akan mampu mensintesis Metallothionein sesuai dengan banyaknya logam berat yang masuk

ke dalam tubuhnya sehingga logam berat tersebut menjadi *immobile* dan tidak menjadi racun. Begitu juga Carpene *et al.*, (2007), mengatakan salah satu faktor yang berpengaruh terhadap kadar Metallothionein dalam tiram yaitu umur tiram. Semakin besar ukuran tubuhnya (semakin tua) maka kandungan logam berat dalam tubuh juga akan semakin meningkat. Terjadinya peningkatan ini dikarenakan logam berat yang masuk kedalam tubuhnya akan terus diakumulasi (Prasetyo, 2009).

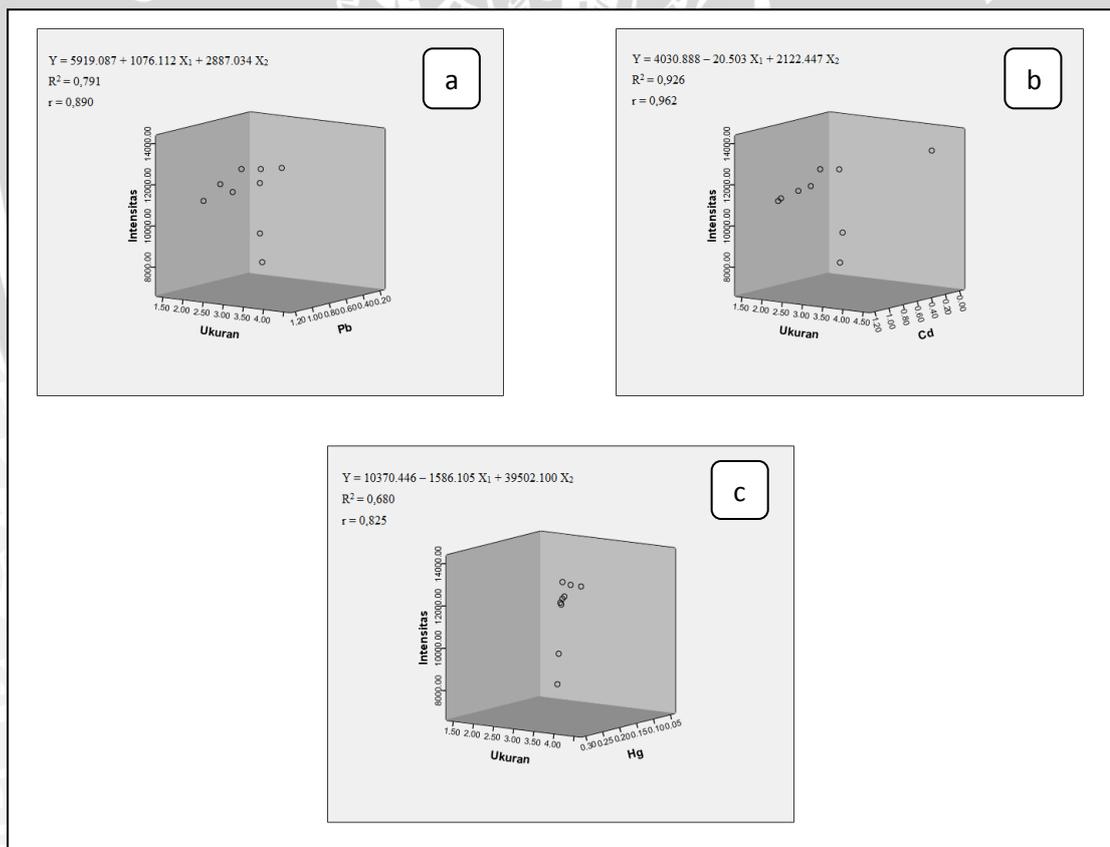
Kandungan densitas Metallothionein berkaitan dengan kadar logam berat pada lambung tiram *Crasostrea cucullata*, dimana semakin tinggi kandungan logam berat pada tiram maka produksi Metallothionein akan meningkat pula. Hubungan regresi linier antara logam berat dan densitas metallothionein disajikan pada **Lampiran 8**. Hasil penelitian Herista (2013) menunjukkan bahwa setelah dilakukan analisis regresi, logam berat Pb dengan MT yang terkandung pada tiram *Crasostrea cucullata* memiliki nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0.9433 dan hubungan fungsional sebesar 94.33%, dimana kadar Metallothionein akan meningkat sesuai dengan banyaknya logam berat yang masuk kedalam tubuh organisme. Menurut Febryanto *et al.*, (2011), semakin tinggi kandungan logam berat (Pb) pada perairan maka akan semakin banyak logam berat yang terakumulasi dalam tubuh organisme.

Menurut Rumahlatu *et al.* (2012), semakin banyak logam berat Cd yang terakumulasi dalam kompartemen tubuh *Deadema setosum* maka semakin banyak sel yang mengalami ekspresi protein MT-1. Kenyataan ini menunjukkan bahwa ekspresi protein MT-1 berkaitan dengan fungsinya sebagai protein pengikat logam berat dan detoksifikasi logam berat. Protein MT diketahui memiliki 2 fungsi utama yaitu detoksifikasi logam berat dan *scavenger* radikal bebas. Hal ini mengindikasikan bahwa MT sebagai protein terlibat dalam metabolisme logam berat yang penting dalam menjalankan fungsi sel suatu

organisme. Karena itu, MT bukan hanya mengikat jumlah logam di dalam sebuah sel, tapi juga mengembalikan kemampuan fungsi protein yang tidak aktif akibat logam kadmium.

4.7 Analisis Hubungan Intensitas Metallothionein, Panjang tiram dan Logam Berat pada Lambung Tiram

Hasil analisis regresi menunjukkan besarnya kandungan logam berat yang terpapar pada lambung tiram mempengaruhi besarnya kandungan Metallothionein yang ada pada lambung tiram. Intensitas Metallothionein akan terus meningkat sesuai dengan kenaikan konsentrasi logam berat pada lambung tiram. Grafik hubungan antara intensitas Metallothionein, panjang tiram dan logam berat pada lambung tiram tersaji pada **Gambar 15**.



Gambar 14. Grafik hubungan (a) logam berat Pb, panjang tiram dan intensitas Metallothionein (b) logam berat Cd, panjang tiram dan intensitas Metallothionein (c) logam berat Hg, panjang tiram dan intensitas Metallothionein

Keterangan gambar (a) $Y = 5919.087 - 1076.112 X_1 + 2887.034 X_2$

$$R^2 = 0.791$$

$$r = 0.890$$

(b) $Y = 4030.888 - 20.503 X_1 + 2122.447 X_2$

$$R^2 = 0.926$$

$$r = 0.962$$

(c) $Y = 10370.446 - 1586.105 X_1 + 39502.100 X_2$

$$R^2 = 0.680$$

$$r = 0.825$$

Hasil analisis regresi intensitas Metallothionein, panjang tiram dan logam berat Pb menunjukkan nilai koefisien determinasi pada lambung tiram dinyatakan dengan R^2 sebesar 0.791, dengan koefisien korelasi (r) 0.89, hal ini menunjukkan bahwa hubungan fungsional intensitas Metallothionein, panjang tiram dan logam berat Pb pada lambung tiram *Crasostrea cucullata* sebesar 79,1% dengan tingkat kesalahan sebesar 20,9%. Dilihat dari nilai koefisien korelasi (r), maka dapat dikatakan bahwa secara statistik tingkat hubungan intensitas Metallothionein, panjang tiram dan kadar logam berat Pb pada lambung tiram *Crasostrea cucullata* tergolong kuat. Menurut Sarwono (2006), bahwa tingkat korelasi tergolong sangat kuat apabila termasuk dalam interval nilai 0.75 – 0.99. Hasil analisis regresi sekaligus menunjukkan bahwa intensitas Metallothionein dipengaruhi panjang tiram dan kadar logam berat Pb sebesar 79,1 %.

Hasil analisis regresi intensitas Metallothionein, panjang tiram dan logam berat Cd menunjukkan nilai koefisien determinasi pada lambung tiram dinyatakan dengan R^2 sebesar 0,926, dengan koefisien korelasi (r) 0.962, hal ini menunjukkan bahwa hubungan fungsional intensitas Metallothionein, panjang tiram dan logam berat Cd pada lambung tiram *Crasostrea cucullata* sebesar 92,6% dengan tingkat kesalahan sebesar 7,4%. Dilihat dari nilai koefisien korelasi (r), maka dapat dikatakan bahwa secara statistik tingkat hubungan intensitas Metallothionein, panjang tiram dan kadar logam berat Pb pada lambung tiram *Crasostrea cucullata* tergolong sangat kuat. Menurut Sarwono

(2006), bahwa tingkat korelasi tergolong sangat kuat apabila termasuk dalam interval nilai 0.75 – 0.99. Hasil analisis regresi sekaligus menunjukkan bahwa intensitas Metallothionein dipengaruhi panjang tiram dan kadar logam berat Cd sebesar 92,6 %.

Hasil analisis regresi intensitas Metallothionein, panjang tiram dan logam berat Hg menunjukkan nilai koefisien determinasi pada lambung tiram dinyatakan dengan R^2 sebesar 0.680, dengan koefisien korelasi (r) 0.825, hal ini menunjukkan bahwa hubungan fungsional intensitas Metallothionein, panjang tiram dan logam berat Hg pada lambung tiram *Crasostrea cucullata* sebesar 68% dengan tingkat kesalahan sebesar 32%. Dilihat dari nilai koefisien korelasi (r), maka dapat dikatakan bahwa secara statistik tingkat hubungan intensitas Metallothionein, panjang tiram dan kadar logam berat Hg pada lambung tiram *Crasostrea cucullata* tergolong sangat kuat. Menurut Sarwono (2006), bahwa tingkat korelasi tergolong sangat kuat apabila termasuk dalam interval nilai 0.75 – 0.99. Hasil analisis regresi sekaligus menunjukkan bahwa intensitas Metallothionein dipengaruhi panjang tiram dan kadar logam berat sebesar 68 %.

Menurut Ross *et al.*, (2002) dalam Amiard *et al.*, (2006), hasil analisis regresi dapat menjelaskan adanya hubungan antara kadar logam berat yang terdapat pada bivalvia dengan kadar metallothionein. Umumnya kadar Metallothionein akan terus meningkat sesuai dengan kenaikan kadar logam berat yang masuk kedalam tubuh bivalvia tersebut. Beberapa peneliti menemukan bahwa organisme yang tinggal pada lingkungan tercemar akan memiliki kandungan Metallothionein yang cenderung tinggi.

Kandungan logam berat pada lambung tiram *Crasostrea cucullata* berkaitan dengan ukuran (panjang tiram), dimana semakin besar tiram maka akumulasi logam berat di tubuh tiram juga meningkat. Hubungan regresi linier antara logam berat dan ukuran (panjang) tiram disajikan pada **Lampiran 8**.

Menurut Amiard *et al.* (2006) bahwa metabolisme dan ukuran tiram sangat mempengaruhi terhadap kandungan Metallothionein pada tiram tersebut, dimana semakin besar ukuran tiram maka kadar Metallothionein juga semakin tinggi. Tinggi rendahnya kadar MT, khususnya pada biota laut utamanya dipengaruhi oleh logam berat baik yang berasal dari alam maupun dari kontaminasi limbah kegiatan manusia yang masuk kedalam perairan dan selanjutnya ke tubuh biota tersebut. Kualitas air dan kondisi biologi juga turut mempengaruhi kadar MT tersebut. Dalam kondisi biologi yang baik, fisiologi tiram akan mampu mensintesis Metallothionein sesuai dengan banyaknya logam berat yang masuk ke dalam tubuhnya sehingga logam berat tersebut menjadi *immobile* dan tidak menjadi racun. Begitu juga Isani dan Carpena (2014), mengatakan salah satu faktor yang berpengaruh terhadap kadar Metallothionein dalam tiram yaitu umur tiram. Semakin besar ukuran tubuhnya (semakin tua) maka kandungan logam berat dalam tubuh juga akan semakin meningkat. Terjadinya peningkatan ini dikarenakan logam berat yang masuk kedalam tubuhnya akan terus diakumulasi (Prasetyo, 2009).

Kandungan intensitas Metallothionein berkaitan dengan kadar logam berat pada lambung tiram *Crasostrea cucullata*, dimana semakin tinggi kandungan logam berat pada tiram maka produksi Metallothionein akan meningkat pula. Hubungan regresi linier antara logam berat dan intensitas Metallothionein disajikan pada **Lampiran 8**. Hasil penelitian Herista (2013) menunjukkan bahwa setelah dilakukan analisis regresi, logam berat Pb dengan MT yang terkandung pada tiram *Crasostrea cucullata* memiliki nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0.9433 dan hubungan fungsional sebesar 94.33%, dimana kadar metallothionein akan meningkat sesuai dengan banyaknya logam berat yang masuk kedalam tubuh organisme. Menurut Febryanto (2011),

semakin tinggi kandungan logam berat (Pb) pada perairan maka akan semakin banyak logam berat yang terakumulasi dalam tubuh organisme.

4.8 Analisis Parameter Kualitas Air

Pada penelitian ini dilakukan pengamatan parameter kualitas air baik secara fisika maupun kimia yang mendukung kehidupan tiram (*Crasostrea cucullata*) di habitatnya yaitu Suhu, pH, kadar oksigen, Salinitas, dan *Total Organic Matter* dan logam berat pada air. Data kualitas air pada penelitian ini disajikan pada **Tabel 3** berikut:

Tabel 3. Data Analisis Kualitas Air

Stasiun	Parameter Kualitas Air				
	Suhu (°)	pH	DO (mg/l)	Salinitas (ppt)	TOM (mg/l)
I	34	9	7,6	30	32,86
II	35	9	6,1	30	50,56
III	35	9	8,7	30	25,28
Standar	30-38*	7-8,5*	≥5*	27-33*	≥20**

Ket : * Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup No 51 Tahun 2004

** Effendi (2003)

4.8.1 Suhu

Berdasarkan hasil pengamatan kualitas air diketahui nilai suhu yang rentangnya tidak jauh berbeda, adapun pada stasiun I sebesar 34°C, pada stasiun II sebesar 35°C dan pada stasiun III sebesar 35°C. suhu yang didapatkan relatif tinggi, hal ini dikarenakan waktu pengukuran suhu di stasiun ini dilakukan pada saat siang hari sehingga intensitas cahaya matahari yang masuk ke

perairan tinggi. Suhu pada stasiun I lebih rendah jika dibandingkan dengan stasiun II dan stasiun III, hal ini disebabkan stasiun I merupakan kawasan mangrove sehingga cahaya matahari yang masuk terhalang oleh mangrove diatas perairan pantai tersebut dan menyebabkan suhu pada perairan tersebut relatif rendah.

Menurut Peraturan Kementerian Lingkungan Hidup No. 51 tahun 2004, kisaran suhu yang aman untuk kehidupan biota laut berkisar antara 30 - 38°C. Peningkatan suhu sebesar 1°C akan meningkatkan konsumsi oksigen sekitar 10% (Effendi, 2003). Kenaikan suhu 2°C diatas suhu rata-rata dapat menimbulkan pengaruh sub lethal dan beberapa kematian, sedangkan kenaikan 4 - 6°C akan menimbulkan kehancuran pada komunitas alami (Zieman dan Ferguson, 1975 *dalam* Supriyadi, 2002). Kisaran suhu yang mampu ditoleransi suhu biota laut yaitu berkisar 20 - 35°C (Rahman,2006). Seperti yang telah dijelaskan di atas, suhu pada perairan pantai Prenduan berkisar antara 34 – 35°C dan termasuk dalam kisaran suhu yang tinggi namun masih dapat ditoleransi tiram untuk kelangsungan hidupnya.

Selain berpengaruh langsung terhadap organisme, suhu juga berpengaruh terhadap kadar logam berat di perairan. Apriadi (2005) menyebutkan bahwa peningkatan suhu dapat menyebabkan penurunan daya larut oksigen terlarut dan juga akan menaikkan daya racun bahan-bahan tertentu khususnya logam berat. Suhu air terutama di lapisan permukaan ditentukan oleh pemanasan matahari yang intensitasnya berubah terhadap waktu, oleh karena itu suhu air laut akan seirama dengan perubahan intensitas penyinaran matahari. Menurut Waldichuk (1974) *dalam* Hutagalung (1984), kenaikan suhu perairan akan menyebabkan tingkat bio-akumulasi semakin besar.

4.8.2 pH

Berdasarkan hasil analisis kualitas air, diperoleh nilai pH pada perairan pantai Prenduan di ketiga stasiun yaitu sebesar 9. Berdasarkan hasil tersebut, pH pada perairan pantai Prenduan masih dapat ditoleransi untuk mendukung kehidupan biota laut. Menurut Kepmen LH No. 51 Tahun 2004, pH yang aman untuk kehidupan biota laut berkisar antara 7 – 8,5.

Konsentrasi pH tersebut mempengaruhi logam berat di perairan. Menurut Sarjono (2009) dalam Faisal (2010), nilai pH memiliki hubungan yang erat dengan sifat kelarutan logam berat. Pada pH rendah, ion bebas logam berat dilepaskan ke dalam kolom air. Selain hal tersebut, pH juga mempengaruhi toksisitas suatu senyawa kimia. Secara umum logam berat akan meningkat toksisitasnya pada pH rendah, sedangkan pada pH tinggi logam berat akan mengalami pengendapan. Sitorus (2011) menambahkan bahwa semakin tinggi tingkat keasaman (pH), maka kelarutan logam berat semakin menurun dalam air dan sedimen dasar perairan, sehingga mengurangi peluang logam berat masuk ke dalam tubuh kerang.

4.8.3 Dissolved Oksigen (DO)

Selain suhu dan pH, faktor lain yang juga mempengaruhi kelangsungan hidup tiram adalah Dissolved oxygen (DO). Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai DO berkisar antara 6,1 – 8,7 mg/l. Pada stasiun I nilai DO sebesar 7,6 mg/l, pada stasiun II nilai DO sebesar 6,1 mg/l dan pada stasiun III nilai DO sebesar 8,7 mg/l. Kandungan oksigen terlarut tertinggi terdapat pada stasiun III, hal ini disebabkan karena letak stasiun III berada di sekitar kandang peternakan ayam yang dekat dengan tembok pemecah ombak/gelombang sehingga pergerakan massa air/arus lebih tinggi, hal itulah yang menyebabkan difusi oksigen dari udara ke kolom perairan pada stasiun III lebih besar dibandingkan

dengan kedua stasiun lainnya. Sedangkan nilai DO terendah terdapat pada stasiun II, hal ini disebabkan karena letak stasiun II berada di dekat permukiman penduduk yang banyak terdapat limbah, sehingga oksigen terlarut di kawasan ini banyak digunakan oleh bakteri untuk mendekomposisikan bahan-bahan organik dari limbah tersebut. Salmin (2005) mengatakan bahwa sumber utama oksigen dalam suatu perairan berasal dari suatu proses difusi dari udara bebas dan hasil fotosintesis organisme yang hidup dalam perairan tersebut. Menurut Effendi (2003), dekomposisi bahan organik dan oksidasi bahan anorganik dapat mengurangi kadar oksigen terlarut di perairan hingga mencapai nol (anaerob).

Berdasarkan hasil analisis oksigen terlarut (*DO/Dissolved Oxygen*), dapat disimpulkan bahwa kisaran konsentrasi oksigen terlarut di perairan pantai Prenduan sebesar 6,1 – 8,7 mg/L berada pada kondisi optimal untuk mendukung kehidupan biota laut, hal ini sesuai dengan Kepmen LH No. 51 Tahun 2004 yang menyebutkan bahwa baku mutu oksigen terlarut untuk kehidupan biota laut yaitu diatas 5 mg/L. Selain berpengaruh terhadap biota perairan, oksigen terlarut juga berpengaruh terhadap toksisitas suatu logam berat di perairan. Menurut Effendi (2003), dengan meningkatnya kadar oksigen terlarut dan kesadahan akan mengurangi toksisitas timbal (Pb) terhadap organisme akuatik.

4.8.4 Salinitas

Berdasarkan hasil analisis kualitas air, diperoleh nilai salinitas pada perairan pantai Prenduan di ketiga stasiun yaitu sebesar 30 ppt. Jika dilihat dari hasil pengamatan, nilai salinitas dari ketiga stasiun sama, hal ini disebabkan karena ketiga stasiun pengambilan sampel masih berada pada satu garis pantai yang sama. Salinitas pada perairan pantai Prenduan di ketiga stasiun sebesar 30 ppt dan termasuk dalam nilai salinitas yang dapat mendukung kehidupan biota di dalamnya. Hal ini sesuai dengan Kepmen LH No.51/2004, nilai salinitas yang

baik untuk mendukung kehidupan biota laut adalah ≤ 34 . Sundari (2002) menyatakan bahwa kisaran salinitas yang mendukung kehidupan bivalvia pada suatu perairan berkisar antara 30 – 35 ppt.

Selain berpengaruh terhadap biota perairan, salinitas juga berpengaruh terhadap logam berat di suatu perairan. Mance (1987) dalam Wulandari (2010) menyatakan bahwa salinitas yang tinggi menyebabkan peningkatan pembentukan ion klorida, yang berakibat pada penurunan konsentrasi ion logam berat pada perairan karena bereaksinya ion logam tersebut dengan ion klorida.

4.8.5 Total organic matter (TOM)

Bahan Organik Total (TOM) merupakan keseluruhan bahan organik yang belum atau akan mengalami proses dekomposisi. Bahan organik merupakan sumber makanan bagi biota laut khususnya tiram. Berdasarkan hasil analisis kualitas air, nilai bahan organik total (TOM/*Total Organic Matter*) perairan pantai Prenduan berkisar antara 25,28 – 32,86 mg/L. Nilai TOM pada stasiun I sebesar 32,86 mg/L, pada stasiun II sebesar 26,54 mg/L dan pada stasiun III sebesar 25,28 mg/L. Berdasarkan hasil tersebut dapat dilihat bahwa nilai TOM tertinggi terdapat pada stasiun I, hal ini disebabkan karena letak stasiun I berada di kawasan mangrove dimana pada kawasan mangrove banyak terdapat seresah-seresah tumbuhan mangrove, sehingga nilai TOM pada kawasan ini lebih tinggi daripada di kedua stasiun lainnya. Bahan organik total atau "*Total Organic Matter*" (TOM) menggambarkan kandungan bahan organik total suatu perairan yang terdiri dari bahan organik terlarut, tersuspensi (*particulate*) dan koloid (Hariyadi *et al.*, 1992).

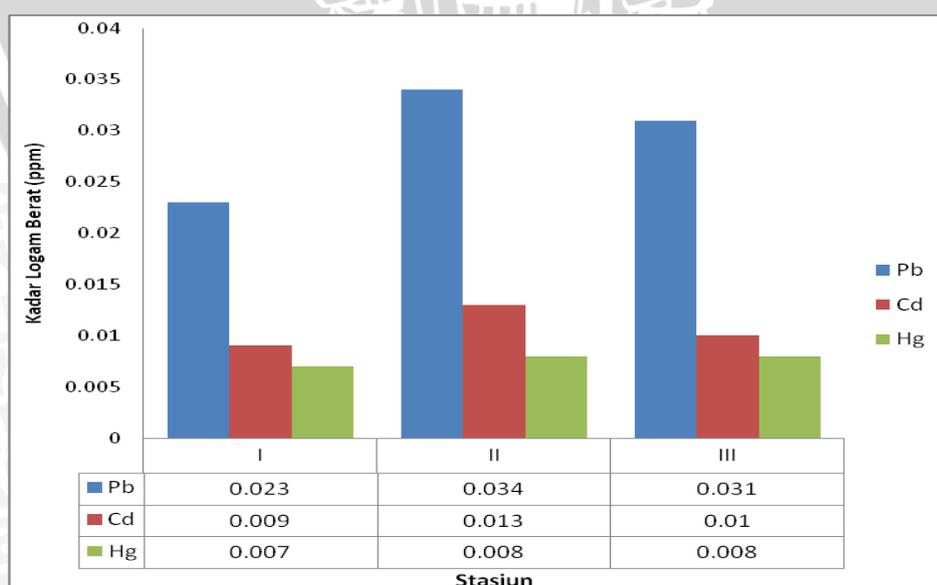
Bahan organik tersebut dapat dijadikan cadangan makanan bagi organisme perairan, terutama bagi organisme yang hidup di dasar perairan

(Zahidin, 2008). Konsentrasi bahan organik di air laut bervariasi pada umumnya konsentrasi sangat tinggi pada daerah pesisir dan muara sungai (Supriyadi, 2002). Banyaknya suplai bahan organik yang masuk ke dalam perairan sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain limpasan atau besarnya debit sungai, luas daerah tangkapan hujan, curah hujan, dan intensitas penggunaan bahan organik (N dan P) di daratan serta penduduk yang berada di sekitar daerah aliran sungai (Faizal *et al.*, 2011).

4.8.6 Analisa Logam berat di Air

Analisa logam berat Pb, Cd dan Hg dilakukan di Laboratorium Lingkungan Kimia Dasar Fakultas MIPA. Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa perairan pantai Prenduan mengandung logam berat Pb, Cd dan Hg dengan konsentrasi yang berbeda-beda di setiap stasiun pengamatan (data kandungan logam berat dapat dilihat pada **Lampiran 3**).

Kadar logam berat Pb pada stasiun I, II dan III lebih tinggi dibandingkan dengan Cd maupun Hg. Grafik kandungan logam berat Pb, Cd dan Hg di air laut pada tiga stasiun disajikan pada **Gambar 15**.



Gambar 15. Kadar Logam Berat Pb, Cd dan Hg di Air Laut pada Tiga Stasiun

Grafik pada **Gambar 15** diatas menunjukkan bahwa pada stasiun I, II dan III logam berat Pb paling tinggi dibandingkan logam berat Cd dan Hg. Berdasarkan grafik di atas, kadar logam berat Pb di perairan pantai Prenduan pada stasiun I sebesar 0,023 ppm, pada stasiun II sebesar 0,034 ppm dan pada stasiun III sebesar 0,031 ppm. Dari hasil tersebut dapat dilihat bahwa kadar Pb tertinggi terdapat pada stasiun II dan kadar Pb terendah terdapat pada stasiun I. Tingginya kadar Pb di stasiun II disebabkan karena banyaknya masukan limbah padat maupun cair domestik yang dibuang langsung ke perairan, sedangkan tingginya Pb di laut sendiri berasal dari buangan sisa bahan bakar kapal motor, cat kapal dan wisata bahari, mengingat di semua stasiun banyak terdapat kapal nelayan yang bersandar. Menurut Palar (2012), sumber Pb dapat berasal dari buangan gas kendaraan bermotor, Pb yang merupakan hasil samping dari pembakaran ini berasal dari senyawa tetrametil-Pb dan tetraetil-Pb yang selalu ditambahkan dalam bahan bakar kendaraan bermotor dan berfungsi sebagai anti ketuk (*anti-knock*) pada mesin-mesin kendaraan. Murtini dan Peranginangin (2006) menambahkan bahwa timbal (Pb) yang masuk ke dalam perairan melalui pengendapan dan jatuhnya debu yang mengandung Pb dari hasil pembakaran bensin, erosi dan limbah industri. Menurut Siaka (2008), pada umumnya cat anti korosi pada kapal motor mengandung timbal (Pb). Secara keseluruhan, kadar logam berat Pb pada perairan pantai Prenduan di tiga stasiun berkisar antara 0,023 – 0,031 ppm, hal ini menunjukkan bahwa kadar logam berat Pb di perairan pantai Prenduan masih dalam kisaran normal batas yang telah ditetapkan oleh Peraturan Pemerintah No. 82 Tahun 2001 yaitu sebesar 0,075 ppm.

Kadar logam berat Cd di perairan pantai Prenduan pada stasiun I sebesar 0,009 ppm, pada stasiun II sebesar 0,013 ppm dan pada stasiun III sebesar 0,01 ppm. Dari hasil tersebut dapat dilihat bahwa kadar Cd tertinggi terdapat pada stasiun II dan kadar Cd terendah terdapat pada stasiun I. Tingginya kadar Cd di

stasiun II disebabkan karena pada lokasi ini terdapat limbah pengecatan kapal nelayan yang digunakan untuk perawatan kapal dari korosif. Pada semua stasiun banyak kapal nelayan yang bersandar, terutama pada stasiun II yang terdapat beberapa kapal yang sedang diperbaiki dan diperbarui catnya. Hal ini sesuai dengan pendapat Eckenfelder (1989) dalam Effendi (2003) yang menyatakan bahwa kadmium (Cd) banyak digunakan dalam industri pelapisan logam, peralatan elektronik, pelumas, baterai, dan lain-lain. Sembel (2011) dalam penelitiannya melaporkan bahwa nilai rata-rata konsentrasi Cadmium (Cd) di Estuari Sungai Belau adalah 0.015 mg/L. Tingginya konsentrasi tersebut disebabkan oleh aktivitas manusia melalui limbah kota dan *docking* kapal yang berada di sekitar sungai. Secara keseluruhan, kadar logam berat Cd pada perairan pantai Prenduan di tiga stasiun berkisar antara 0,009 – 0,013 ppm, hal ini menunjukkan bahwa kadar logam berat Cd di perairan pantai Prenduan masih dalam ambang batas normal yang diperbolehkan untuk kepentingan biota laut. Menurut Kementrian Negara Kependudukan dan Lingkungan Hidup No. 02 Tahun 1988, nilai ambang batas Cd untuk kepentingan biota laut tidak boleh lebih dari 0,015 ppm.

Kadar logam berat Hg di perairan pantai Prenduan pada stasiun I sebesar 0,07 ppm, pada stasiun II sebesar 0,08 ppm dan pada stasiun III sebesar 0,08 ppm. Dari hasil tersebut dapat dilihat bahwa kadar Cd pada stasiun I lebih kecil daripada stasiun II dan III. Tingginya kadar Hg di stasiun II dan III disebabkan karena pada lokasi ini merupakan tempat yang dekat dengan pemukiman penduduk, sehingga berpotensi tercemar limbah dari rumah tangga, selain itu banyak terdapat aktivitas nelayan yang melakukan pergantian oli dan melakukan pengecatan pada kapal motor mereka sehingga dapat menghasilkan limbah logam berat Hg. Hal ini sesuai dengan yang disampaikan oleh Eckenfelder (1989) dalam Effendi (2003) bahwa senyawa merkuri banyak digunakan dalam

pembuatan cat, senyawa anti karat, komponen listrik, ekstraksi emas dan perak, baterai dan juga elektronik. Menurut Sarjono (2009), merkuri merupakan salah satu limbah yang banyak dihasilkan dari aktivitas manusia seperti pembakaran bahan bakar fosil dan produksi baja, semen serta fosfat. Dalam lingkup industri, pemakaian utama merkuri adalah pabrik alkalklor, industri bubuk kayu dan pabrik perlengkapan listrik. Selain itu, limbah pertanian, pencampuran logam, katalis pada pertambangan, kedokteran gigi, obat-obatan dan laboratorium sebagian besar dibuang ke laut sehingga menyumbang banyak limbah merkuri di perairan. Menurut Neustadt and Pieczenik (2007), selain berasal dari limbah industri, merkuri juga berasal dari tanah sekitar perairan pantai melalui *leaching* khususnya yang diakibatkan oleh aktivitas pertambangan. Secara keseluruhan, kadar logam berat Hg pada perairan pantai Prenduan di tiga stasiun berkisar antara 0,07 – 0,08 ppm, hal ini menunjukkan bahwa kadar logam berat Hg di perairan pantai Prenduan telah melewati ambang batas yang diperbolehkan untuk kepentingan biota laut. Menurut Peraturan Pemerintah No. 82 Tahun 2001, nilai ambang batas Hg untuk kepentingan biota laut tidak boleh lebih dari 0,002 ppm. Begitu pula jika dibandingkan dengan Kepmen LH No. 51 Tahun 2004 tentang baku mutu air laut untuk biota laut, nilai ambang batas Hg untuk kepentingan biota laut tidak boleh lebih dari 0,001 ppm.

Berdasarkan hasil yang diperoleh, dapat diketahui bahwa kadar logam berat tertinggi pada perairan pantai Prenduan pada ketiga stasiun yaitu Pb, kemudian Cd, dan yang terakhir adalah Hg. Tingginya kadar logam berat Timbal (Pb) pada perairan pantai Prenduan diduga karena semakin banyaknya pemakaian Pb oleh masyarakat di sekitar pantai, khususnya penggunaan pelumas pada kapal-kapal nelayan yang mengandung banyak logam berat Pb. Semakin bertambahnya jumlah kapal-kapal bermotor diduga turut berpengaruh terhadap peningkatan konsentrasi logam berat Pb di perairan pantai Prenduan.

Berdasarkan pembahasan di atas, kadar logam berat Pb dan Cd masih berada dibawah ambang batas normal, sedangkan logam berat Hg pada perairan pantai Prenduan telah melewati ambang batas yang ditetapkan. Hal ini akan sangat membahayakan bagi biota laut maupun masyarakat pesisir karena logam-logam berat yang terlarut dalam badan perairan pada konsentrasi tertentu akan menjadi sumber racun bagi ekosistem suatu perairan.



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat diambil kesimpulan bahwa hasil analisis regresi linier berganda menunjukkan besarnya peningkatan densitas dan rata-rata intensitas Metallothionein sesuai dengan kenaikan konsentrasi logam berat dan panjang tiram *Crasostrea cucullata*.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, keberadaan logam berat yang sudah melebihi nilai baku mutu dikarenakan kontribusi limbah masyarakat dan industri yang dibuang setiap harinya. Diharapkan, penelitian ini dapat dijadikan sebagai alat deteksi dini dalam monitoring dan manajemen kawasan Perairan Prenduan, Kabupaten Sumenep, Jawa Timur.

DAFTAR PUSTAKA

- Adbulgani, N., Aunurrohim dan A.W. Indarto. 2008. **Konsentrasi Kadmium (Cd) pada Kerang Hijau (*Perna viridis*) di Surabaya dan Madura.** Jurnal Biologi Fakultas MIPA. ITS. Surabaya.
- Amiard, C. J., C. Amiard-Triquet, S. Barka, J. Pellerin, P.S. Rainbow. 2006. **Metallothioneins in aquatic invertebrates : Their role in metal detoxification and their use as biomarkers.** *Journal Aquatic Toxicology*. 76 : 160–202.
- Angell, C. L. 1986. **The Biology and Culture of Tropical Oysters.** International Center for Living Aquatic Resource Management.
- Apriadi, D. 2005. **Kandungan Logam Berat Hg, Pb dan Cr pada Air, Sedimen dan Kerang Hijau (*Perna viridis* L.) di Perairan Kamal Muara, Teluk Jakarta.** Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Barret, E. M. 1963. **The California Oyster Industry. The Resources Agency Of California Department Of Fish And Game: Fish Bulletin 123.** http://content.cdlib.org/view?docId=kt629004n3&brand=calisphere&doc.view=entire_text. Diakses tanggal 30 September 2014 pukul 19.00 WIB.
- Carpene E., Giulia A., and Gloria I. 2007. **Metallothionein function and structural characteristics.** *Journal of trace elements in medicine and biology* 21 S1 : 35-39.
- Cheney, D., 2007. **Effect of Age and Tissue Weight on the Cadmium Concentration in Pacific Oysters (*Crassostrea gigas*).** *Journals of Shellfish Research*.1.
- Cherkasov, A.S., S. Grewal, I.M. Sokolova. 2007. **Combined effects of temperature and cadmium exposure on haemocyte apoptosis and cadmium accumulation in the eastern oyster *Crassostrea virginica* (Gmelin).** *Journal of Thermal Biology*. 32 : 162–170.
- Couillard Yves, Peter G.C., Campbell and Andre Tessier. 1993. **Response of Metallothionein concentration in a freshwater bivalve (*Anodonta grandis*) along an environmental cadmium gradient.** *American society of limnology and oceanography* 38 (2) :299-313.
- Darmono. 1995. **Logam dalam Sistem Makhluk hidup.** Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.

Desouky, M. M. A. 2012. **Metallothionein is up-regulated in molluscan responses to cadmium, but not aluminum, exposure.** *The Journal of Basic & Applied Zoology*. 65 : 139-143.

Dinas Pengelola Data Elektronik Propinsi Jawa Timur. 2001. **Potensi Jawa Timur.** <http://www.jatimprov.go.id/> diakses pada tanggal 22 September 2014 pukul 19.23 WIB

Edward. 2008. **Pengamatan Kadar Merkuri di Perairan Teluk KAO (Halmahera) dan Perairan Anggai (Pulau Obi) Maluku Utara.** Maluku Tenggara.

Effendi, E.. 2010. **Bahan Prosiding: Aplikasi Larutan Amonia untuk Meningkatkan Motilitas Spermatozoa dan Pembuahan Telur Tiram Mutiara (*Pinctada maxima*).** Diakses dari docstoc.com pada tanggal 30 September 2014 pukul 11.18 WIB.

Effendi, H. 2003. **Telaah Kualitas Air :Bagi Pengelolaan Sumberdaya dan Lingkungan Perairan.** Penerbit Kanisius. Yogyakarta.

Faisal N.A., M.,. 2010. **Analisis Hubungan Kandungan Logam Berat Timbal pada Perairan, Fitoplankton dan Sedimen dengan Timbal pada Insang dan Lambung Kijing Taiwan.** Universitas Brawijaya. Malang.

Faizal, A., J.Jompa, N.Nessa dan C. Rani. 2011. **Dinamika Spasio-Temporal Tingkat Kesuburan Perairan di Kepulauan Spermonde, Sulawesi Utara.** FKIP. Universitas Hassanudin: Makassar.

Farabi, Makhyan J., 2012. **Teknik ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay).** <http://makhyanjibril.blogspot.com/2012/03/teknik-elisa-enzyme-linked.html>. Diakses pada tanggal 22 September 2014 Pukul 21.00 WIB

Fazry, L. 2008. **Komresi Citra Fraktal.** FMIPA. UI. Jakarta

Fitrianti R. 2003. **Distribusi Spatial Kerang Tahu (*Meretrix meretrix* Linnaeus 1758) pada Kondisi Air Surut di Perairan Marunda, Teluk Jakarta.** Skripsi. IPB Bogor.

Fuller, S.L.H. 1974. **Clams and Mussel (Mollusca Bivalvia).** 215-272. In C.W. Hart and Samuel L.H. Fuller (eds). *Pollution Ecology of Fresh Water Invertebrates*. Academic Press, New york.

Galtsoff, P. S. 1964. **The American Oyster (*Crassostrea virginica*).** Fishery Bulletin of The Fish and Wildlife Service. Vol 64: 489 p.

Hariyadi, S., I. N. N. Suryadiputra dan B. Widigo. 1992. **Limnologi Penuntun Praktikum dan Metoda Analisa Kualitas Air**. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Herista, D.S 2012. **Analisis Kandungan Metallothionein pada Insang Tiram (*Crasostrea cuculata*) dari Perairan yang Mengandung Logam Berat Pb, Cd dan Hg di Pelabuhan Pantai Mayangan Probolinggo, Jawa Timur**. Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang.

Hertika, A.M.S., Marsoedi., Diana. A., dan Soemarno. 2014. **Density and Intensity of METallothionein in Gill and Interior Cavity of Taiwan Mussels (*Anodonta woodiana*) after Exposure to Lead (Pb) at Sub-Chronic Level Using Immunohistochemical Technique**. *Journal of Natural Science Research*. Vol 4 (6).

Hutabarat, S, & S. M. Evans, 1985. **Pengantar Oseanografi**. Jakarta: Universitas Indonesia Press.

Hutagalung, H.P 1984. **Mengenal AAS (Absorbansi atomic Spectrofotometer)**. Pawarta Oceana 3 : 17-18 LON-LIPI. Jakarta

Hynes, H.B.N. 1978. **The Ecology of Running Waters**. University of Toroto press.

Insafitri, 2010. **Keanekaragaman, keseragaman dan dominasi bivalvia di area buangan lumpur lapindo muara sungai porong**. Jurnal kelautan, 3(1) : 54-59.

Inswiasri., Lubis, A., Tugaswaty, A.T., 1995. **Kandungan Logam Berat Kadmium dalam Biota Laut Jenis Kerang-Kerangan dari teluk Jakarta**. *Majalah Cermin Dunia Kedokteran*. 103.

Izwady. 2006. **Pengaruh faktor-faktor persekitaran terhadap pertumbuhan dan kemandirian tiram komersil, (*Crasostrea iredalei* Faustino 1932) di kawasan peternakan tiram di Kg. Telaga nenas, perak**. Tesis. Universitaas sains Malaysia.

Keputusan Menteri Negara dan Lingkungan Hidup. 2004. **Baku Mutu Air Laut untuk Biota Laut**. Jakarta.

Krisnadi. 2012. **Pixel, Megapixel dan RGB**. MK Photography. Media. Jakarta

Kristanto, P. 2002. **Ekologi Industri**. Andi Offset: Yogyakarta.

Larasati. 2010. **Prosedur tetap Pengecatan Imunohistokimia p53**. Cancer chemoprevention research center. Fakultas Farmasi UGM. Yogyakarta.

- Lasut, M. T. 2002. **Metallothionein' : suatu parameter kunci yang penting dalam penetapan baku mutu air laut (BMAL) Indonesia.** *Jurnal Ekoton.* 2 (1) : 61-68.
- Laws, E. A. 1993. **Aquatic Pollution an Introductory Text.** Third Edition. Canada (US): J Wiley. 611 hlm.
- Lu, F.C. 2006. **Toksologi Dasar Asas, Organ Sasaran dan Penelitian Resiko.** Penerbit UI Press. Jakarta.
- Muhaemin, M. 2005. **Kemampuan pengikatan metaloprotein asam amino methionine terhadap Pb pada *Dunaliella salina*.** Tesis IPB. Bogor.
- Muntha, M. 2001. **Teknik Pembuatan Preparat Histopatologi dari Jaringan Hewan dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (H&E).** Balai Penelitian Veteriner. Temu Teknis Fungsional Non Peneliti.
- Murthy, S., Geetha Bali, S.K. Sarangi. 2011. **Effect of lead on metallothionein concentration in Lead-Resistant Bacteria bacillus cereus isolated from industrial effluent.** *African journal of biotechnology* Vol 10 (71) pp 15966-15972.
- Murtini, J. T. dan R. Peranginangin. 2006. **Kandungan Logam Berat pada Kerang Kepah (*Meritrix meritrix*) dan Air Laut di Perairan Banjarmasin.** *Jurnal Perikanan.* Vol. VIII (2): 177 – 184.
- Naik, G., and G. Gowda. 2013. **Influence of environmental factors on oysters: A Review.** *International Journal of Advanced Scientific and Technical Research Issue 3. 2* : 341-354.
- Nateewathana, A. 1995. **Taxonomic Account of Comercial and Edible Molluscs, excluding Cephalopods, of Thailand Phuket Marine Biology Center Special publication no. 15: 93-116.** Dalam : Hylleberg J and Ayyakannu K (eds.). Proceedings of the fifth workshop of the tropical marine mollusk programme (TMMP) at Sam ratulangi university, manado and hasanuddin university, ujung pandang, 12-23 september 1994.
- Neustadt, J., dan S. Pieczenik. 2007. **Heavy Metal Toxicity – with Emphasis on Mercury (Research Review).** *Integrative Medicine.* Vol 6(2). Pp: 26-32
- Nurtoni, R., Perangin-rangin, dan Tampubolon. 1984. **Penelitian Mutu kerang hijau rebus yang disimpan pada suhu rendah.** Laporan penelitian teknologi perikanan. Balai penelitian teknologi perikanan : Jakarta.
- Nybakken, J.W. 1998. **Biologi Laut, Suatu Pendekatan Ekologis.** Gramedia. Jakarta.

Otchere, F. A. 2003. **Heavy Metals concentration and Burden in The Bivalves (*Anadara(senilia) senilis*, *Crassostrea tulipa* and *Perna perna*) from Lagoons in Ghana : Modelto Describe of Accumulation/ Excretion. *African Journal of Biotechnology*. 2 (9) : 280-287.**

Palar, H. 1994. **Pencemaran & toksikologi Logam Berat**. PT. Rineka Cipta. Jakarta

Paramita, 2011. **Analisis Kompartemen Kandungan Logam Berat Timbal (Pb) pada Ikan Bandeng (*Chanos chanos*) di Tambak Tradisional Desa Banjar Panji, Kecamatan Tanggulangin, Kabupaten Sidoarjo**. Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang.

Pemerintah Kabupaten Sumenep. 2014. **Monografi Kabupaten**. Madura.

Pennak, R.W. 1978. **Freswater Invertebrates of the United States**. Second ed.

Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 8 Tahun 2001 **Tentang Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air**. Jakarta

Prasetyo, A. D. 2009. **Penentuan Kandungan Logam (Hg, Pb dan Cd) dengan Penambahan Bahan Pengawet dan Waktu Perendaman yang Berbeda pada Kerang Hijau (*Perna viridis* L.) di Perairan Muara Kamal, Teluk Jakarta**. Skripsi. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta.

Quillin M.L., Matthews B.W., 2000. **Akurat Perhitungan Kepadatan Protein**. *Acta Crystallogr, D Biol. Crystallogr* 56 : 791-794

Rachmawaty, 2011. **Indeks keanekaragaman makrozoobentos sebagai bioindikator tingkat pencemaran di muara Sungai Jeneberang**. *Jurnal Bionature*. 12 (2) : 103-109.

Rahman, A. 2006 **Kandungan Logam Berat Timbal (Pb) dan Kadmium (Cd) pada Beberapa Jenis Krustasea di Pantai Batakan dan Takisung Kabupaten Tanah Laut Kalimantan Selatan**. *BIOSCIENTIAE*. 3 (2): 93-101

Rakhmanda, A. 2011. **Estimasi populasi gastropoda di Sungai Tambak Bayan Yogyakarta**. *Jurnal Ekologi Perairan*. (1) : 1-7.

Ramakritinan, C.M., R. Chandurvelan, and A. K. Kumaraguru. 2012. **Acute Toxicity of Metals : Cu, Pb, Cd, Hg dan Zn on Marine Molluscs, *Cerithedia cingulata* G., and *Modiolus philippinarum* H**. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*. Vol 41(2). pp:141-145

- Ramon, M., dan Ricardson, C.A. 1992. **Age Determination and Shell Growth of *Chamelea gallina* (Bivalvia : Veneridae) in the Western Mediterran.** *Marine Ecology Progress Series*. Vol 89. Pp:15-23
- Ramos-Vara, JA. 2005. **Technical Aspects of Immunohistochemistry.** *Vet Pathol* 42 (4) : 405 – 426. Doi:10.1354/vp.42-4-405. PMID 16006601
- Rantam, F.A. 2003. **Metode imunologi.** Airlangga University Press. Surabaya 145-155.
- Ricomarsen. 2010. **Intoksikasi Logam Berat. Marsen's-Opinion and Sciences.htm.wordpress.com.** diakses pada tanggal 22 November 2012.
- Ringwood, H., J. Hoguet, C. Keppler and M. Gielazyn. 2004. **Linkages Between Cellular Biomarker Responses and Reproductive Success in Oysters – *Crasostrea virginica*.** *Marine Environmental Res.*, 58 :151 – 155
- Robert dan Alex Jobin. 2000. **Anatomi Tiram.** [http://www. Assateague.com/nt-bival](http://www.Assateague.com/nt-bival). Html. Diakses tanggal 22 September 2014 pukul 21.00 WIB.
- Roesijadi, G. 1994. **Metallothionein Introduction as a Measure of Response to Metal Exposure in Aquatic Animal.** *Environ Health Perspect* 102 (Suppl 12): 91-96.
- Rudiyanti, S. 2009. **Biokonsentrasi Kerang Darah (*Anadara granosa* Linn) Terhadap Logam Berat Cadmium (Cd) yang Terkandung dalam Media Pemeliharaan yang Berasal dari Perairan Kaliwungu, Kendal.** Artikel. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Rumahlatu, D., A. D. Corebima, M. Amin, F. Rachman. 2012. **Kadmium dan efeknya terhadap ekspresi protein metallothionein pada deadema setosum (Echinoidea; Echinodermata).** *Jurnal Penelitian Perikanan*. 1 (1) : 26-35.
- Saeni, M.S. 2003. **Biologi Air Limbah.** Program Pascasarjana IPB, Bogor.
- Salmin. 2005. **Oksigen terlarut (DO) dan kebutuhan oksigen biologi (BOD) sebagai salah satu indikator untuk menentukan kualitas perairan.** *Oseana*, Volume XXX. Nomor 3: 21 – 26.
- Sambaz. 2010. **Budidaya Tiram Mutiara.** [Zaldibiaksambas.files.wordpress.com/2010/10/ tiram-mutiara.pdf](http://Zaldibiaksambas.files.wordpress.com/2010/10/tiram-mutiara.pdf).diakses 25 November 2012.
- Santosa, S. 2010. **Peran Metallothionein pada autism.** Fakultas Kedokteran. Universitas Kristen Maranatha. JKM. Vol 2 (2) : 23-30

Sarjono, A. 2009. **Analisis Kandungan Logam Berat Cd, Pb dan Hg pada Air dan Sedimen di Perairan Kamal Muara, Jakarta Utara**. IPB. Bogor

Sarwono, J., 2006. **Metode Penelitian Kuantitatif dan Kualitatif**. Penerbit Rineka Cipta. Jakarta

Sembel, Luky. 2011. **Analisis Logam Berat Pb, Cd dan Cr Berdasarkan Tingkat Salinitas di Estuari Sungai Belau Teluk Lampung**. Fakultas Peternakan Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Negeri Papua. Papua.

Siaka, I. M. 2008. **Korelasi Antara Kedalaman Sedimen di Pelabuhan Benoa dan Konsentrasi Logam Berat Pb dan Cu**. *Jurnal Kimia*. 2 (2): 61 – 70.

Sitorus, Hasan. 2011. **Analisis Beberapa Parameter Lingkungan Perairan Yang Mempengaruhi Akumulasi Logam Berat Timbal Dalam Tubuh Kerang Darah Di Perairan Pesisir Timur Sumatera Utara**. *VISI*. 19 (1): 374-385.

SNI, 1990. **Metode Pengukuran Kualitas Air**. Dinas Pekerjaan Umum. Jakarta

Subarijanti, Umi Herawati. 1990. **Limnology**. Diktat Kuliah Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya Malang.

Suharyanto MA dan Sudrajat A. 1996. **Penggunaan Tiga Jenis Kerang sebagai Biofilter pada Pemeliharaan Udang Windu (*Penaeus monodon*) dalam Skala Laboratorium**. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*. Balai Penelitian Perikanan Budidaya Pantai, Maros no. 2(1): 31-38.

Suhendrayatna. 2001. **Bioremoval Logam Berat dengan Menggunakan Microorganism : Suatu Kajian Kepustakaan (Heavy Metal Bioremoval by Microorganism : A Literature Study**.

Sundari, E. S. 2002. **Komposisi dan Penyebaran Bivalvia pada Hutan Mangrove Teluk Hurun Kecamatan Padang Cermin Kabupaten Lampung Selatan Provinsi Lampung**. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Suprpto. 2011. **Metode Analisis Parameter Kualitas Air untuk Budidaya Udang**. Shrimp Club Indonesia.

Supriyadi, Dedy Sutendy. 2002. **Kondisi Perairan Muara Berdasarkan Parameter Fisika dan Kimia di Muara Bengawan Solo Ujung Pangkah Kabupaten Gresik, Jawa Timur**. Skripsi. Institut Pertanian Bogor: Bogor.

Supriyantini E., Ambanyanto, I. Widowati. 2007. **Pengaruh pemberian pakan alami *Tetraselmis chuii* dan *Skeletonema costatum* terhadap**

kandungan asam lemak omega 6 (asam arakhidonat) pada kerang totok *Polymesoda erosa*. *Jurnal Pasir Laut*. 3(1) : 46-60.

Surakhmad, W. 1998. **Pengantar Penelitian Ilmiah Dasar Metode Teknik**. Torsito Press. Bandung.

Suryadiputra, I. N. 1995. **Pengolahan air limbah dengan metode biologi**. Fakultas perikanan dan ilmu kelautan. Institut pertanian bogor. Bogor.

Suryono, C. Adhi. 2006. **Bioakumulasi Logam Berat Melalui Sitem Jaringan Makanan dan Lingkungan pada Kerang Bulu Anadara inflata**. *Jurnal Ilmu Kelautan*. Vol 11(1) : 19-22.

Syazili, A. 2011. **Biologi tiram**. <http://www.bumi-ilmu.htm.wordpress.com>. Diakses pada tanggal 22 september 2014.

Wardhani, E. 2009. **Identifikasi pencemaran logam berat raksa di Sungai Itarum Hulu Jawa Barat**. *Jurnal Teknik Kimia Indonesia*. 8 (1) : 17-23.

Wulandari, E. 2010. **Analisis Kandungan Logam Berat Timbal (Pb) dan Karakteristik Haemocyte Tiram (*saccostrea glomerata*) dari Perairan Pelabuhan Perikanan Nusantara Prigi Trenggalek, Jawa Timur**. Universitas Brawijaya. Malang

Yasuda, Y. 2000. **Environmental change in eurasia. Monsoon**. Vol 1(1), pp: 1-133.

Yudha, I. G., 2008. **Analisis Kandungan Logam Berat Pada Biota Laut di Wilayah Pesisir Kota Bandar Lampung**. Laporan Penelitian. Fakultas Pertanian Universitas Lampung.

Yuliana, F., M. S. Yusuf, dan W. Prayogo. 2013. **Zonasi dan Kepadatan Komunitas Intertidal di Daerah pasang Surut, Pesisir Batu Hijau, Sumbawa**. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. 5 (2) : 409-416.

Zahidin, M. 2008. **Kajian Kualitas Air di Muara Sungai Pekalongan Ditinjau dari Indeks Keanekaragaman Makrobenthos dan Indeks Saprobitas Plankton**. Tesis. Universitas Diponegoro: Semarang.

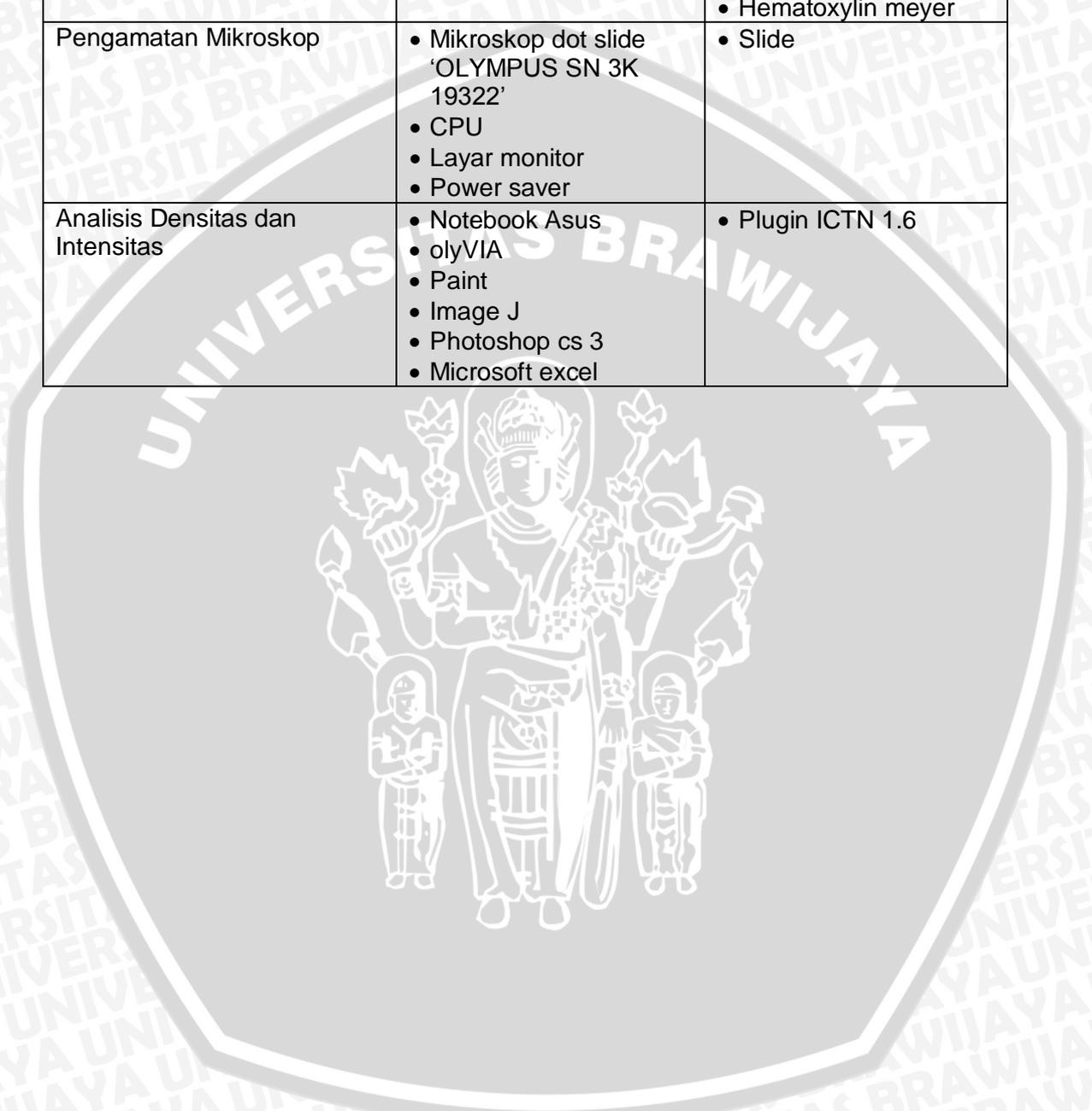
Zipcodezoo, 2013. **Klasifikasi *Crassostrea cucullata* org**. Diakses tanggal 22 september 2014, pukul 13.00 WIB.

LAMPIRAN

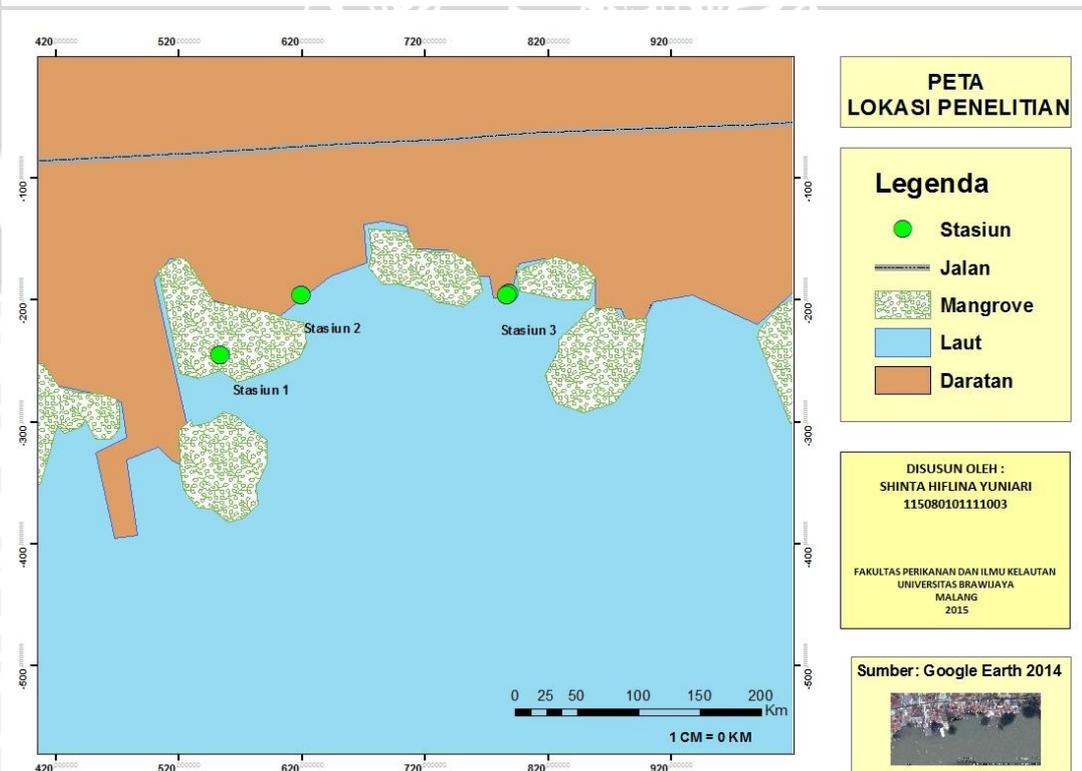
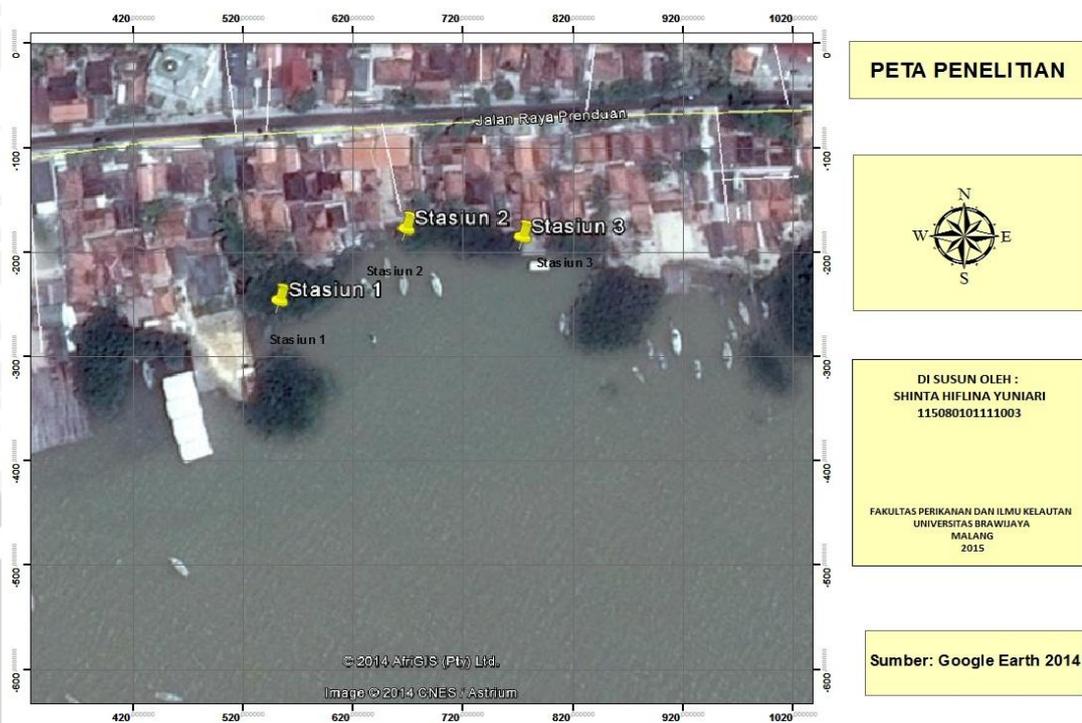
LAMPIRAN 1. Alat dan Bahan Penelitian

PROSEDUR	ALAT	BAHAN
Pengukuran Kualitas Air <ul style="list-style-type: none"> - Suhu - Oksigen Terlarut - pH - Salinitas - Logam Berat 	<ul style="list-style-type: none"> • Thermometer Hg • Pipet Volume • Bola Hisap • Pipet Tetes • Botol Winkler • Kotak standart pH • Refraktometer • Lampu Elektroda Pb • Timbangan Sartorius • Oven • Hot Plate • Beaker Glass • Labu Ukur • AAS 	<ul style="list-style-type: none"> • Air sampel • MnSO₄ • H₂SO₄ • Na₂S₂O₃ • Amylum • NaOH + KI • pH paper • Tissue • Tiram <i>Crassostrea cucullata</i> • (HNO₃:HCl) 1:1 sebanyak ± 10-15 ml • Kertas saring • Aquades • Larutan standart
Pengambilan Organ	<ul style="list-style-type: none"> • Sectio set • Cool box • Botol sampel 	<ul style="list-style-type: none"> • Formalin 10% • Insang tiram (<i>Crassostrea cucullata</i>)
Prosedur Histopatologi	<ul style="list-style-type: none"> • Tissue cassette • Tissue Tex Processor • Microtome • Water bath • Pinset • Inkubator • Keranjang khusus • Pisau • Mesin vakum • Cetakan • Bunsen • Freezer • Objek glass • Objek glass box 	<ul style="list-style-type: none"> • Jaringan hewan yang telah difiksasi formalin 10% • Paraffin cair • Kertas label • Alkohol 90%, 80%, 70% • Alkohol absolut • Xylol • Spritus
Pewarnaan Imunohistokimia	<ul style="list-style-type: none"> • Pipet tetes • Lemari pendingin • Timer • Pipet volumetrik (micropipette) 	<ul style="list-style-type: none"> • Sampel • PBS (<i>Phosphate Buffer Saline</i>) • 3 CDTA • Na-sitrat • H₂O₂ 0,3% • Sitrat 1% in PBS • Antibodi metallothionein • 2nd AB in PBS (1:200) • Detection antibody

		<ul style="list-style-type: none"> • Aquadest • DAB (<i>diamino Benzidine</i>)(male fresh) (1:46) • D2H2O • Air kran • Hematoxylin meyer
Pengamatan Mikroskop	<ul style="list-style-type: none"> • Mikroskop dot slide 'OLYMPUS SN 3K 19322' • CPU • Layar monitor • Power saver 	<ul style="list-style-type: none"> • Slide
Analisis Densitas dan Intensitas	<ul style="list-style-type: none"> • Notebook Asus • olyVIA • Paint • Image J • Photoshop cs 3 • Microsoft excel 	<ul style="list-style-type: none"> • Plugin ICTN 1.6

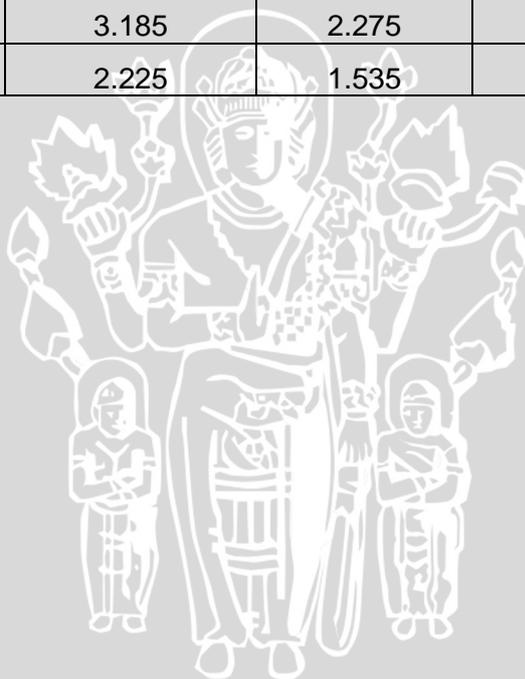


Lampiran 2. Peta Lokasi Pengambilan Sampel



Lampiran 3. Sebaran ukuran Tiram

STASIUN	PANJANG (cm)	LEBAR (cm)	TINGGI (cm)
I	4.175	2.265	0.925
	2.645	1.865	0.665
	2.155	1.325	0.945
II	2.955	1.925	0.825
	3.975	1.685	0.945
	3.015	1.359	0.945
III	3.655	2.295	1.165
	3.185	2.275	1.130
	2.225	1.535	0.465



Lampiran 4. Data Logam Berat di Air dan Lambung Tiram *Crasostrea cuculata*

a. Data Logam Berat di Air

Stasiun	Logam Berat		
	Pb (ppm)	Cd (ppm)	Hg (ppm)
I	0,023	0,009	0,007
II	0,034	0,013	0,008
III	0,031	0,010	0,008

b. Data Logam Berat di Lambung Tiram *Crasostrea cuculata*

STASIUN	LOKASI	KANDUNGAN LOGAM BERAT		
		Pb (ppm)	Cd (ppm)	Hg (ppm)
I	1	1,062	0,556	0,063
	2	1,124	1,125	0,128
	3	1,123	1,125	0,064
II	1	1,266	0,762	0,084
	2	1,125	1,126	0,255
	3	1,125	1,125	0,224
III	1	0,924	0,695	0,073
	2	1,126	1,124	0,192
	3	1,124	1,123	0,159

LAMPIRAN 5. Jumlah dan Densitas Metallothionein

a. Jumlah metallothionein

LAPANG PANDANG	JUMLAH METALLOTHIONEIN								
	STASIUN PENELITIAN								
	I			II			III		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	532	748	1149	618	1186	1345	340	779	946
2	571	869	754	1046	877	1229	675	1170	573
3	444	869	564	779	1836	1200	581	1498	886

b. Densitas Metallothionein

LAPANG PANDANG	DENSITAS METALLOTHIONEIN (MT/ μm^2)								
	STASIUN PENELITIAN								
	I			II			III		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	0.00807	0.01135	0.01743	0.00938	0.018	0.02041	0.00516	0.01182	0.01435
2	0.00866	0.01319	0.01144	0.01587	0.01331	0.01865	0.01024	0.01775	0.00869
3	0.00674	0.01319	0.00856	0.01182	0.02786	0.01821	0.00882	0.02273	0.01344
RERATA	0.00782	0.01257	0.01248	0.01236	0.01972	0.01909	0.00807	0.01743	0.01216

$$\text{Rumus : Densitas (MT}/\mu\text{m}^2) = \frac{\text{jumlah Metallothionein}}{\text{luas Lapang Pandang}}$$

Keterangan :

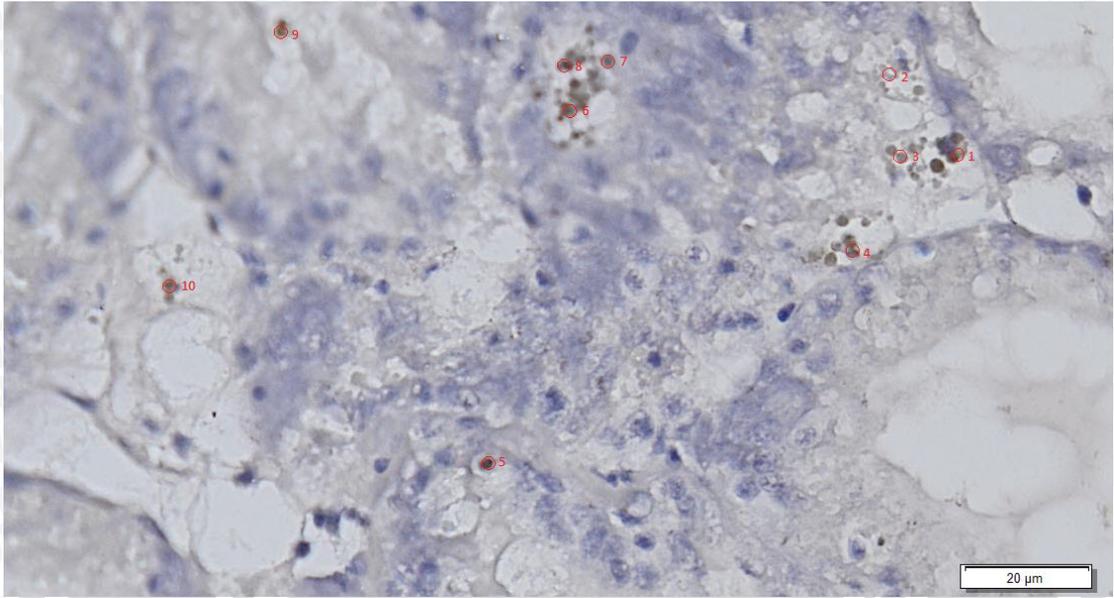
Panjang (p) = 350 μm

Lebar (l) = 188.3 μm

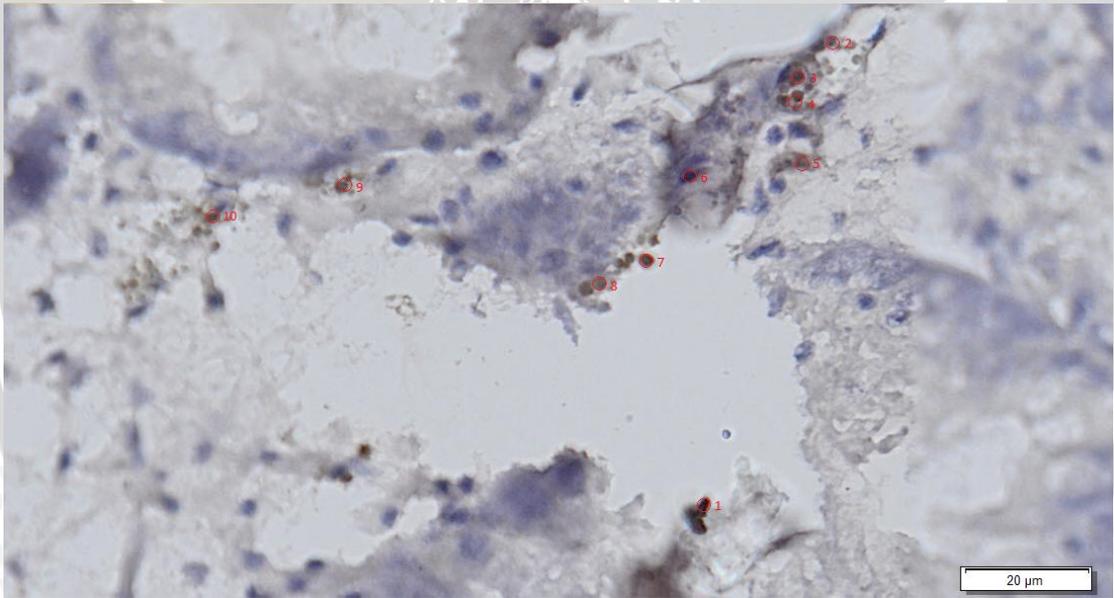
Luas (L) = 65905 μm^2

Lampiran 6. Gambar Densitas dan Intensitas Metallothionein pada Area 112 dengan lebar 12 dan tinggi 12

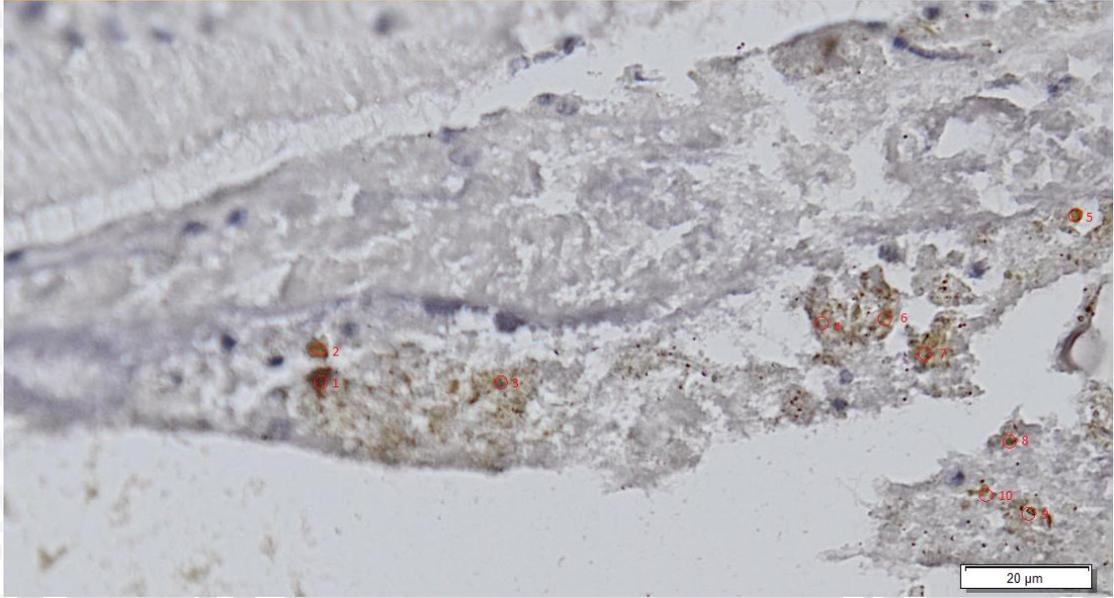
- 1) Stasiun 1, Plot 1 dan lapang pandang 1



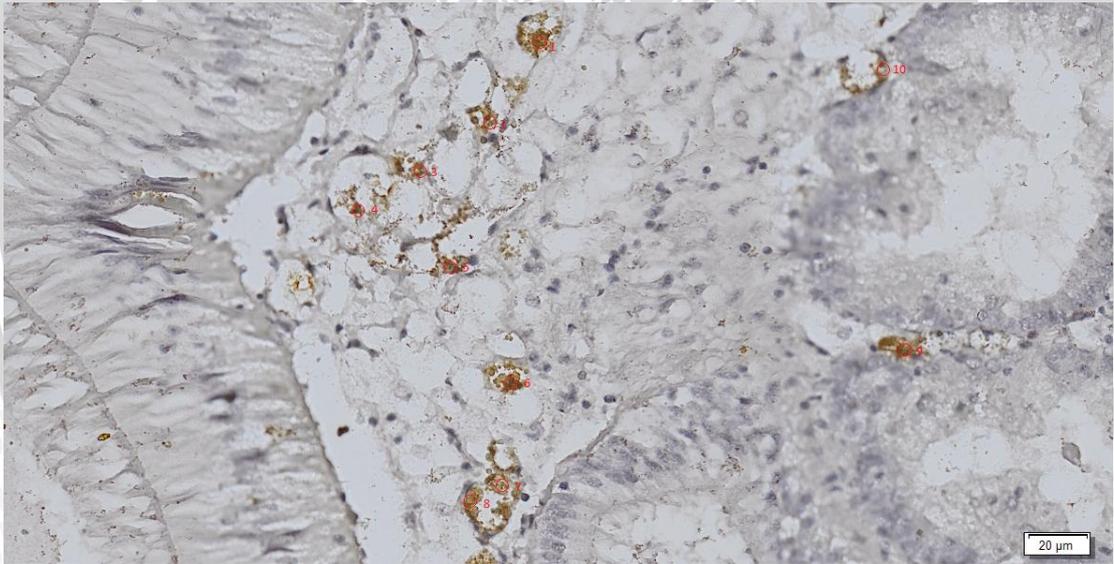
2) Stasiun 1, Plot 1 dan lapang pandang 2



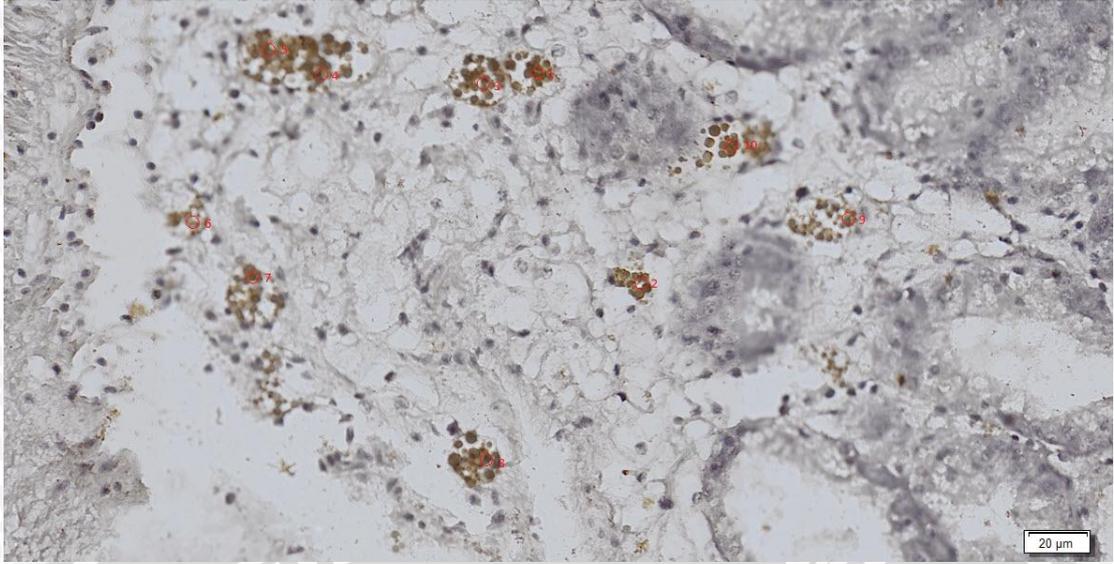
3) Stasiun 1, Plot 1 dan lapang pandang 3



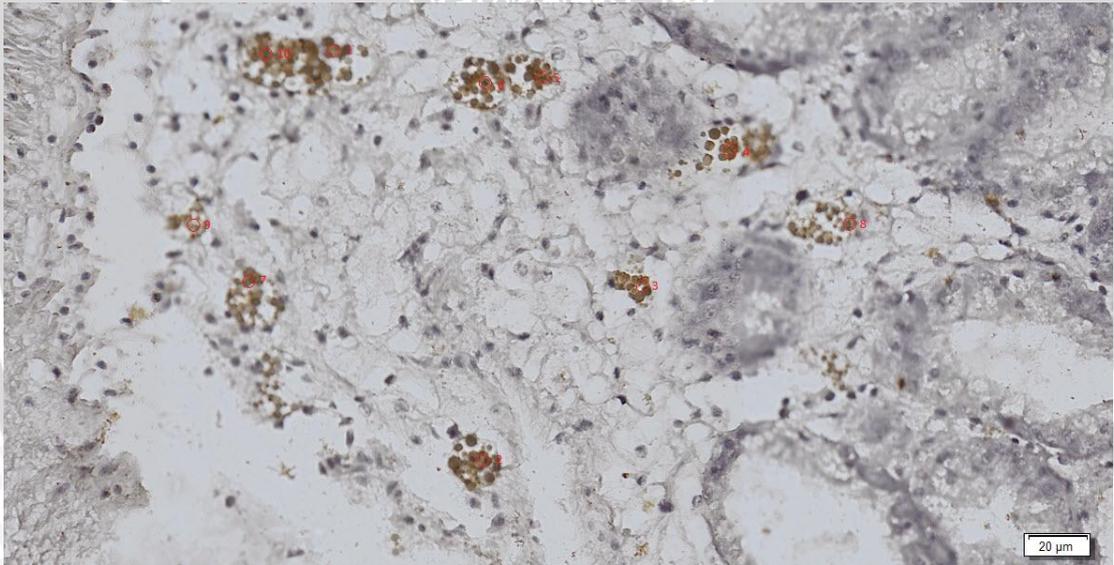
4) Stasiun 1, Plot 2 dan lapang pandang 1



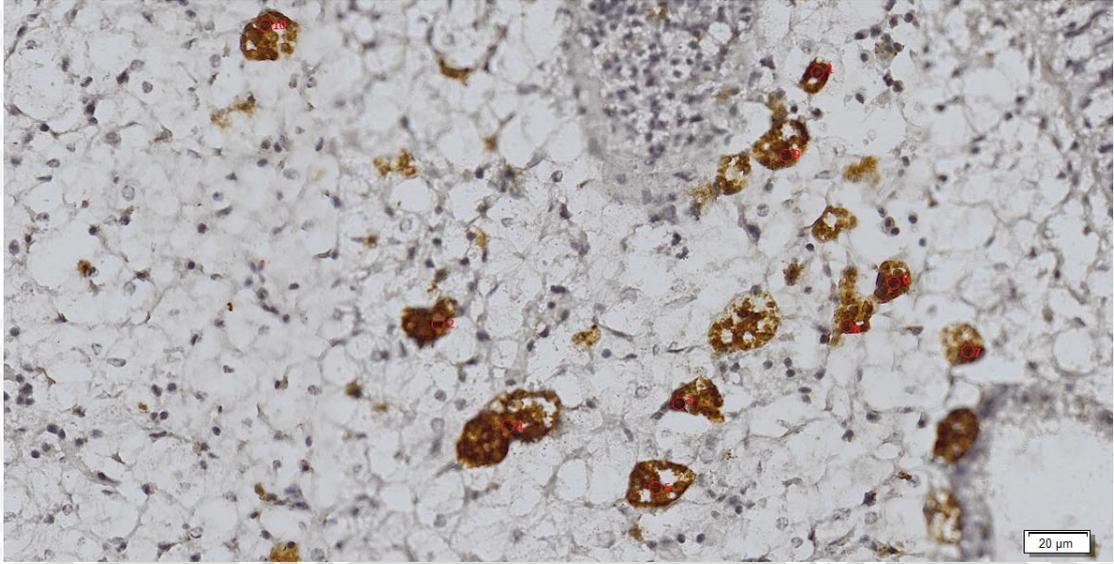
5) Stasiun 1, Plot 2 dan lapang pandang 2



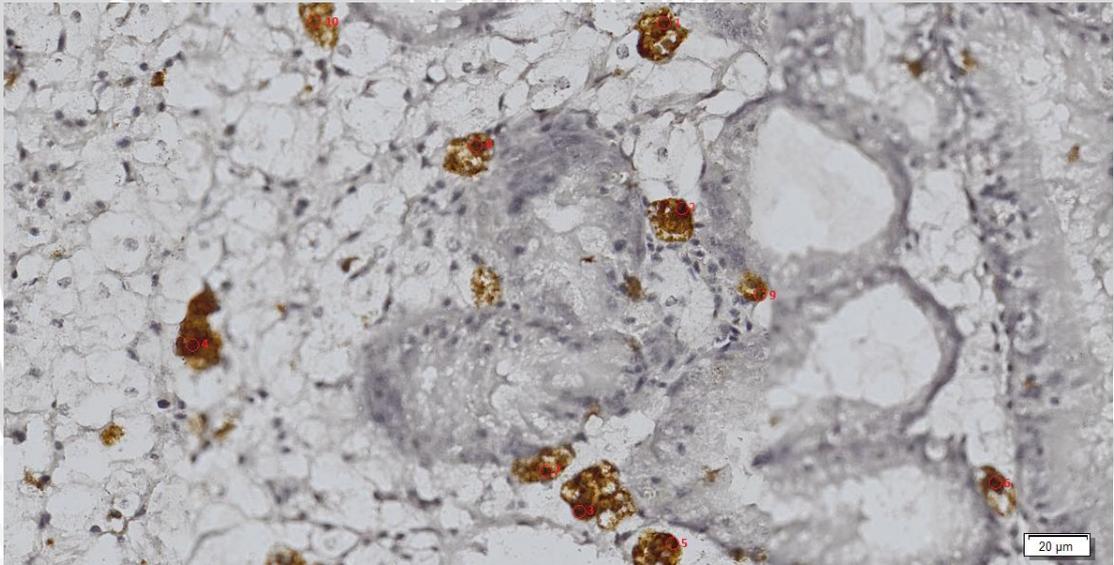
6) Stasiun 1, Plot 2 dan lapang pandang 3



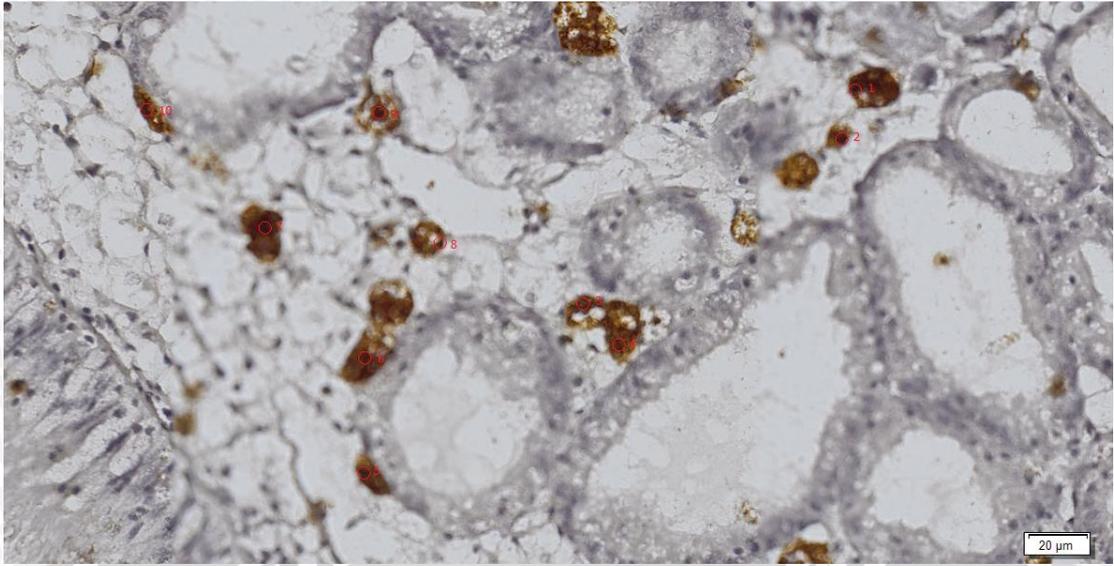
7) Stasiun 1, Plot 3 dan lapang pandang 1



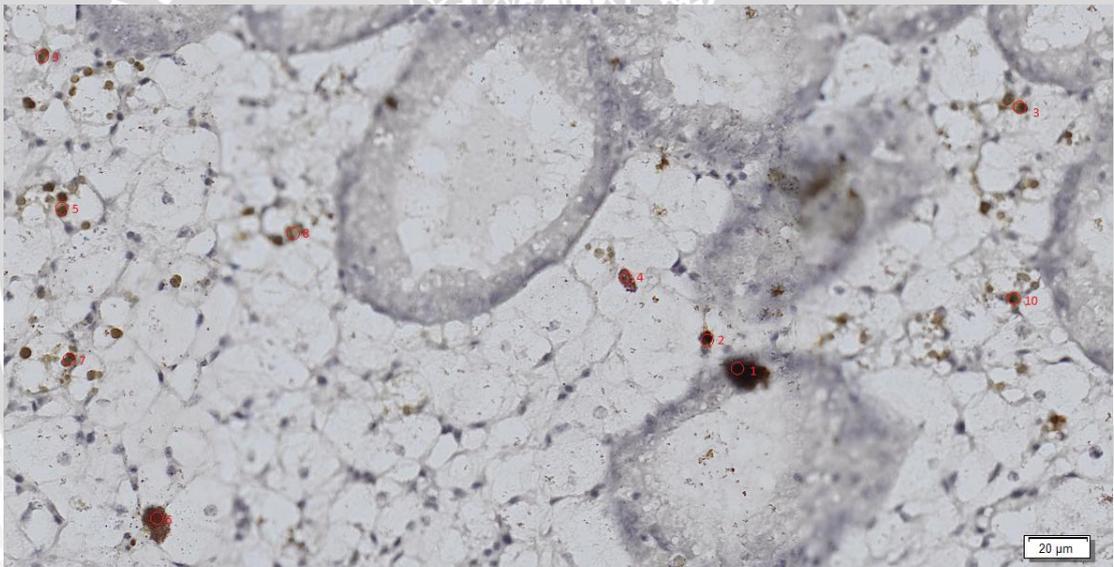
8) Stasiun 1, Plot 3 dan lapang pandang 2



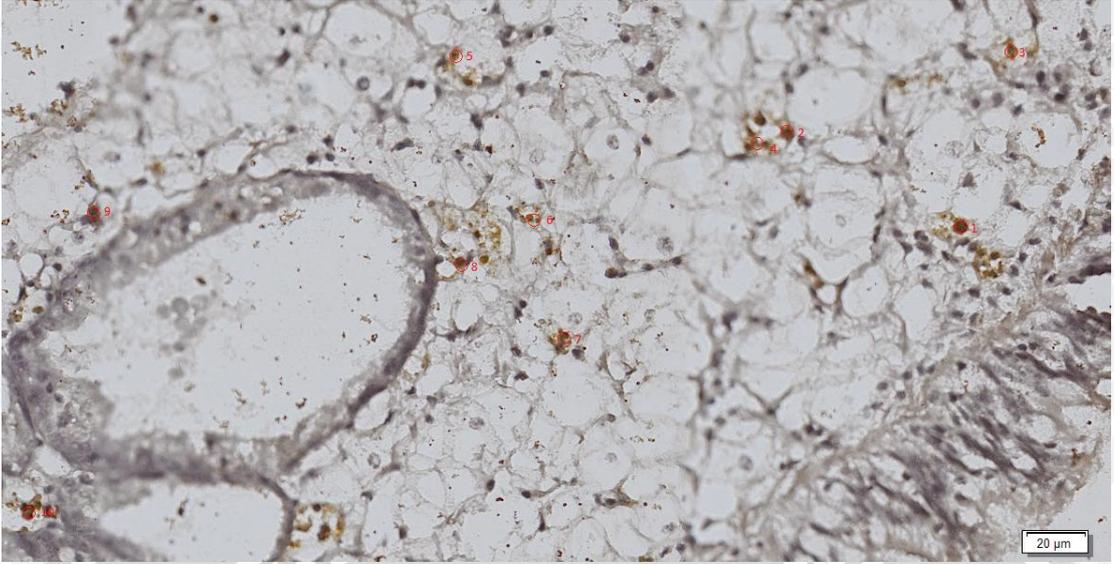
9) Stasiun 1, Plot 3 dan lapang pandang 3



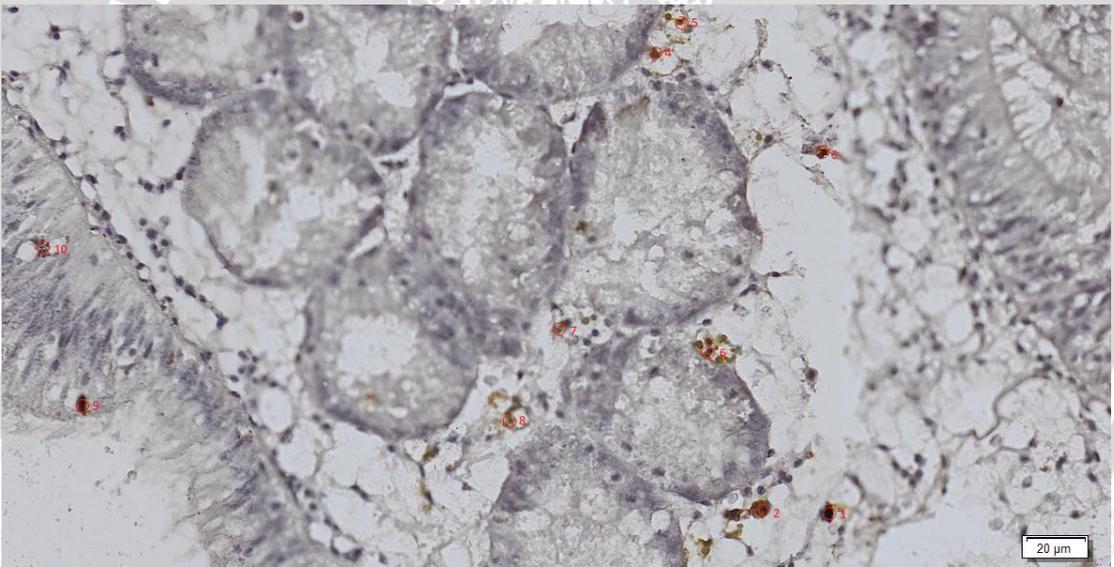
10) Stasiun 2, Plot 1 dan lapang pandang 1



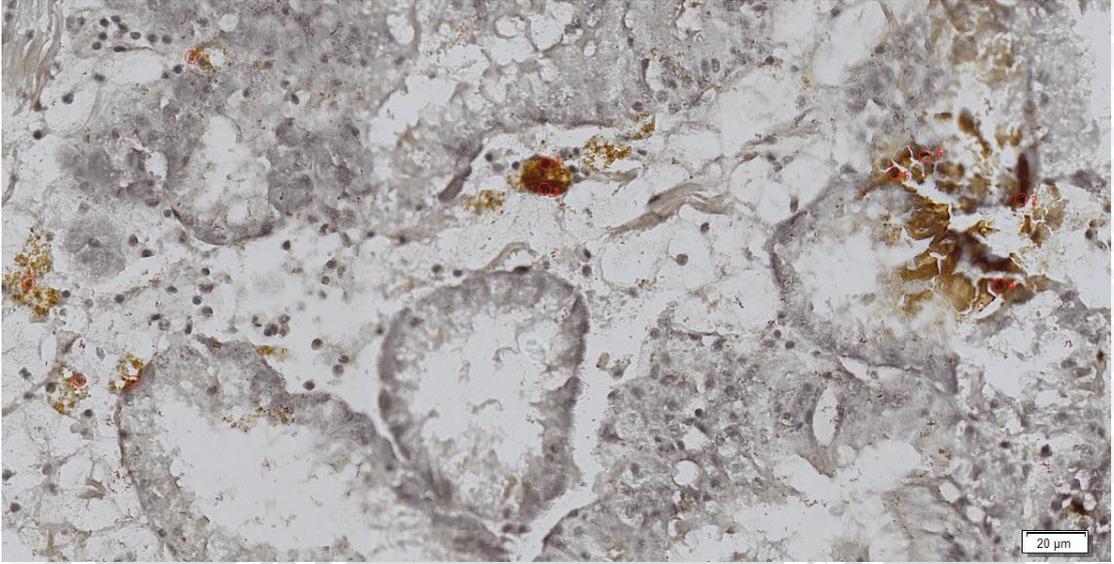
11) Stasiun 2, Plot 1 dan lapang pandang 2



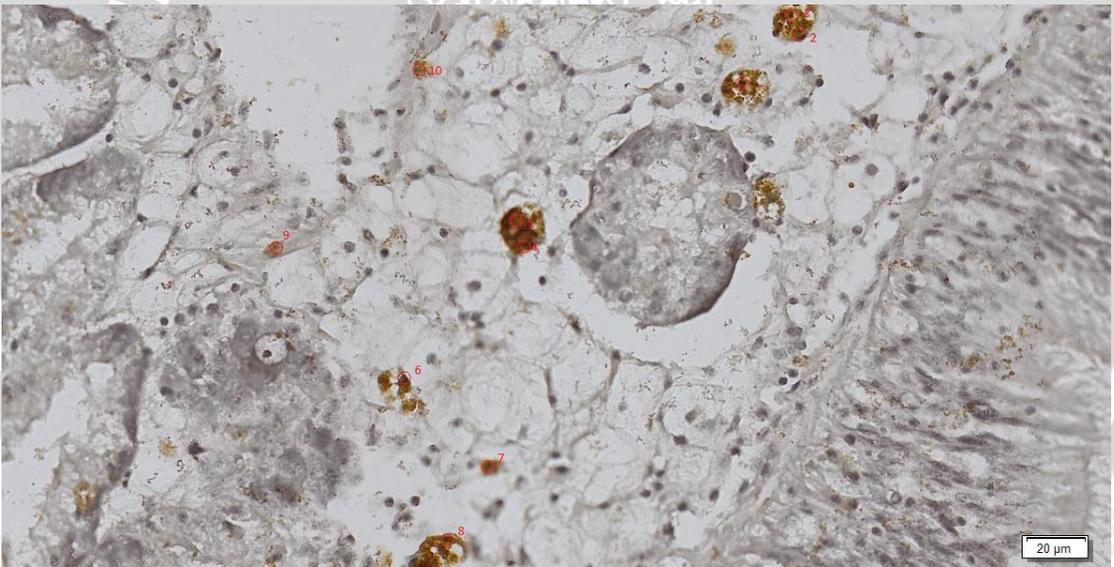
12) Stasiun 2, Plot 1 dan lapang pandang 3



13) Stasiun 2, Plot 2 dan lapang pandang 1

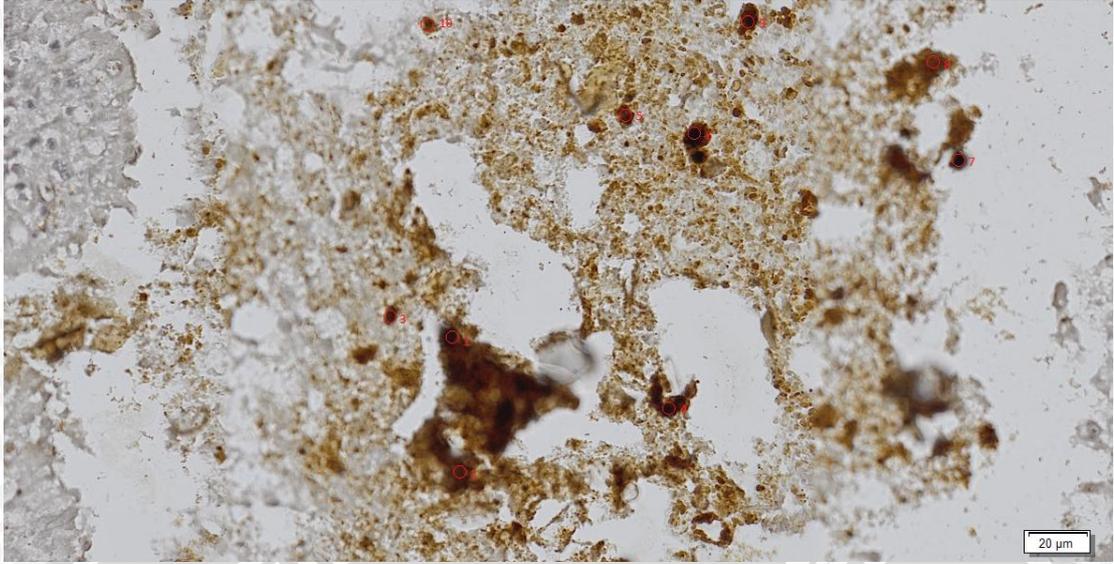


14) Stasiun 2, Plot 2 dan lapang pandang 2

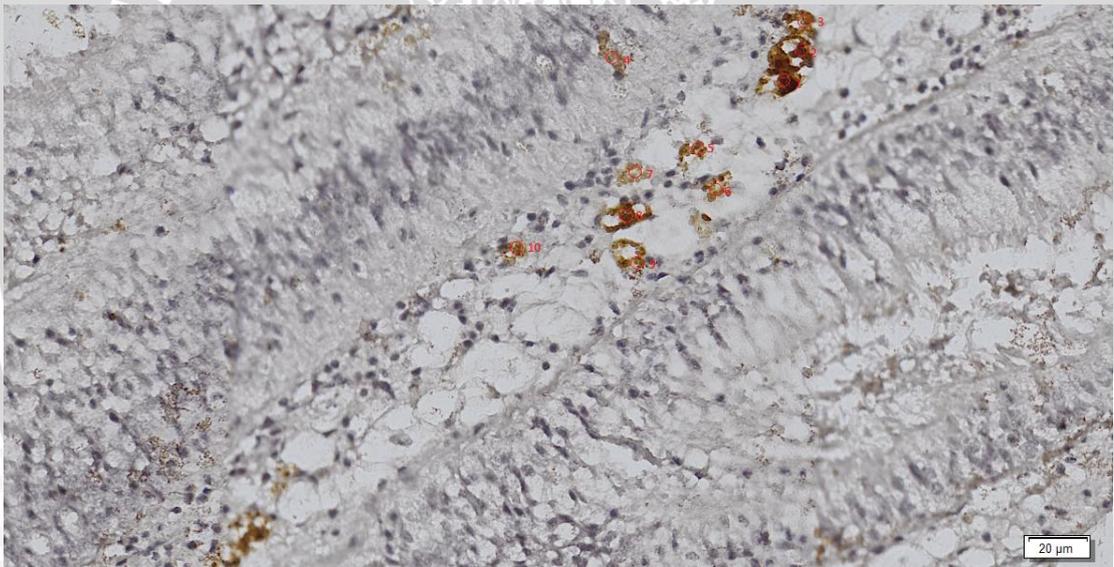


15) Stasiun 2, Plot 2 dan lapang pandang 3

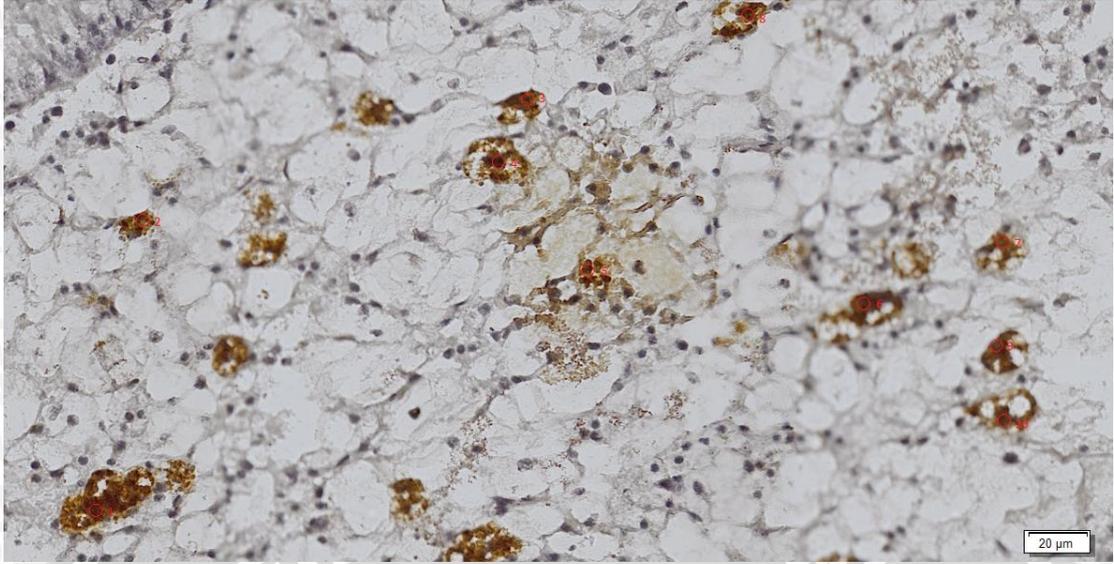




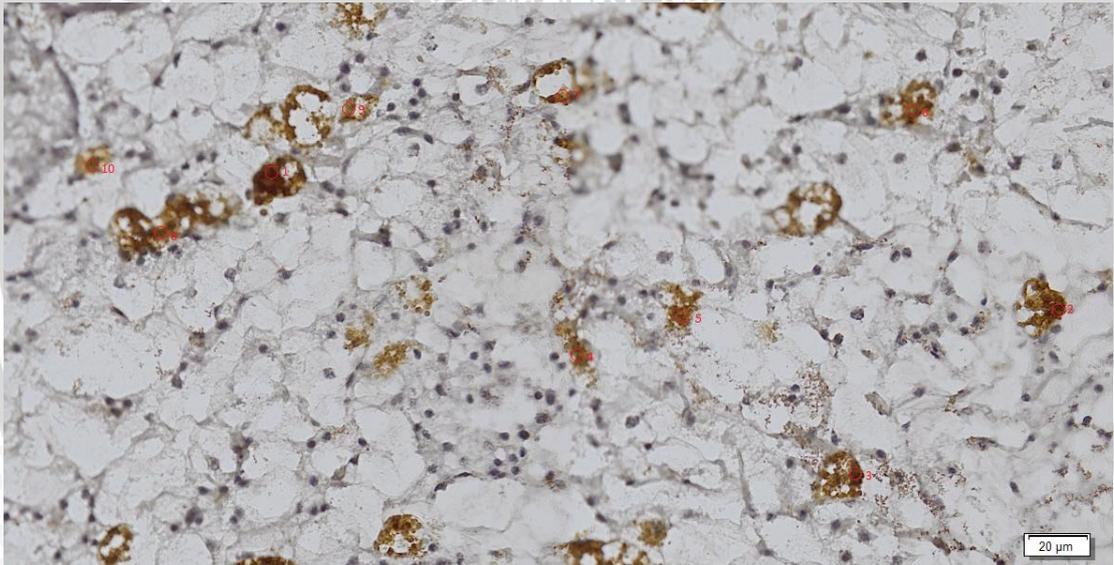
16) Stasiun 2, Plot 3 dan lapang pandang 1



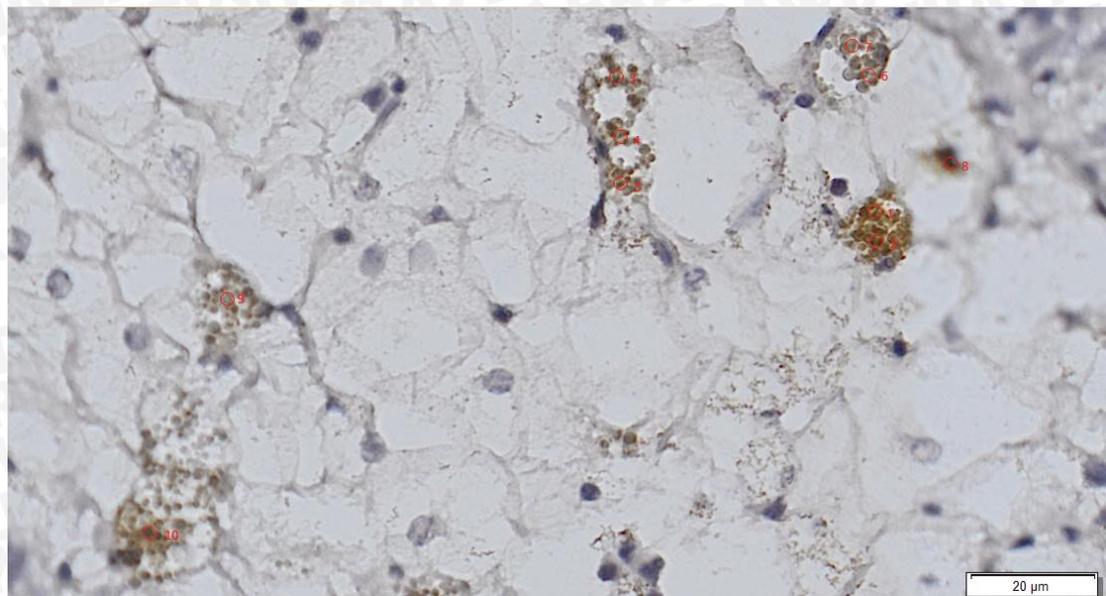
17) Stasiun 2, Plot 3 dan lapang pandang 2



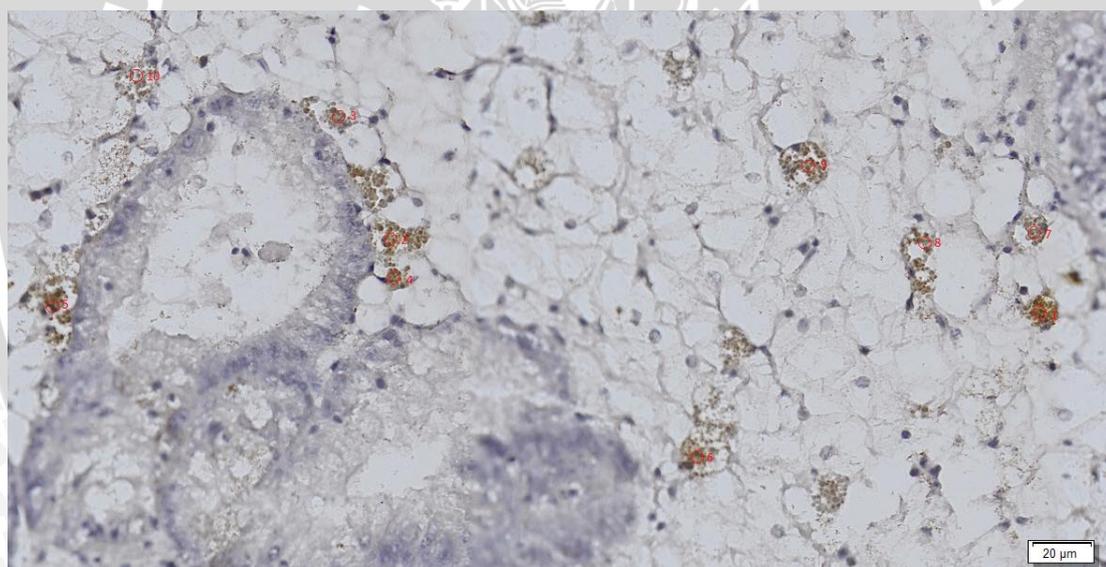
18) Stasiun 2, Plot 3 dan lapang pandang 3



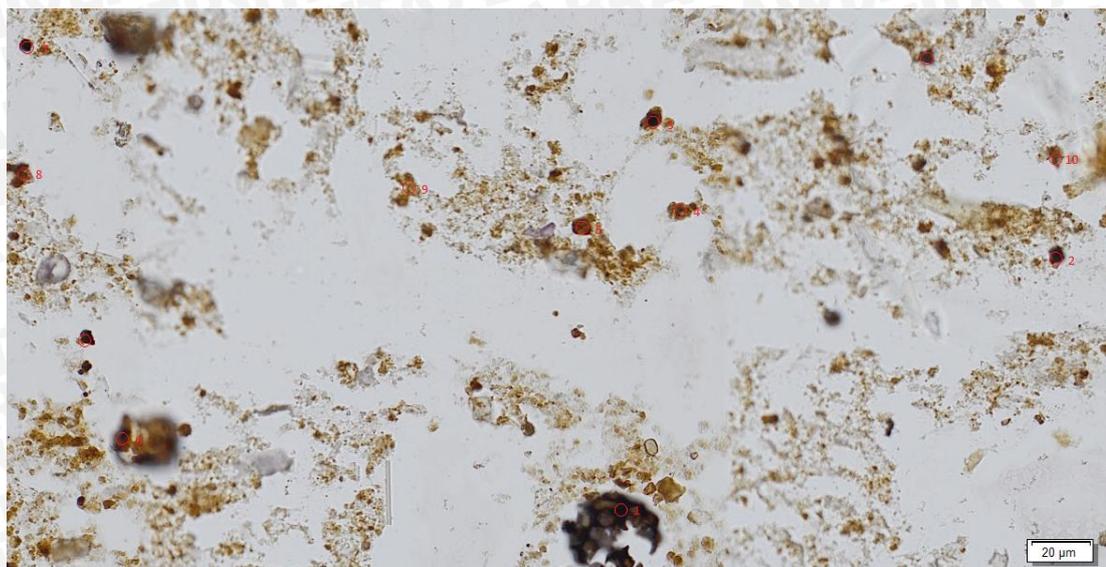
19) Stasiun 3, Plot 1 dan lapang pandang 1



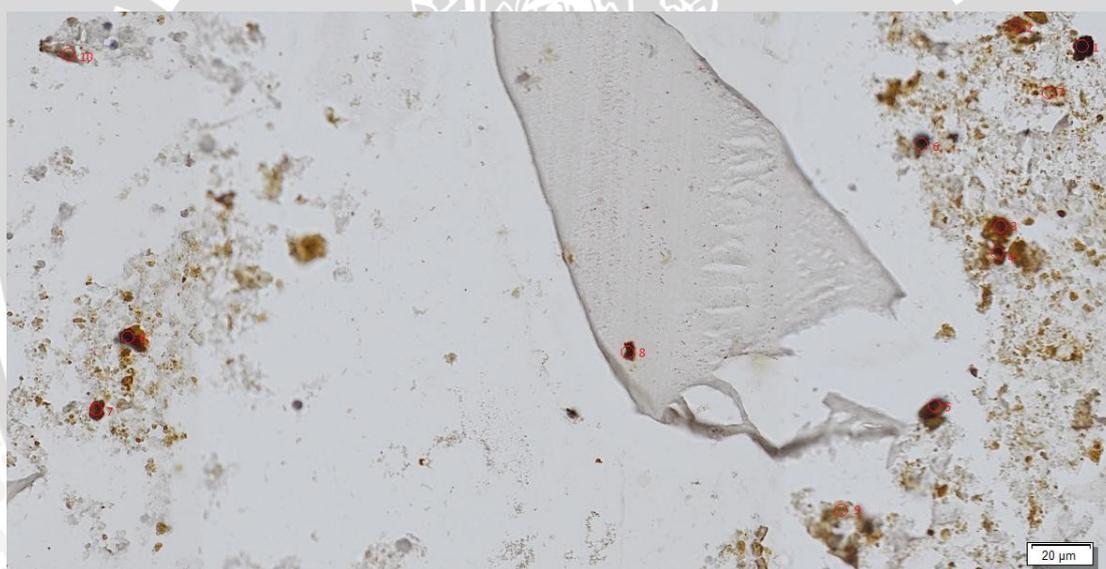
20) Stasiun 3, Plot 1 dan lapang pandang 2



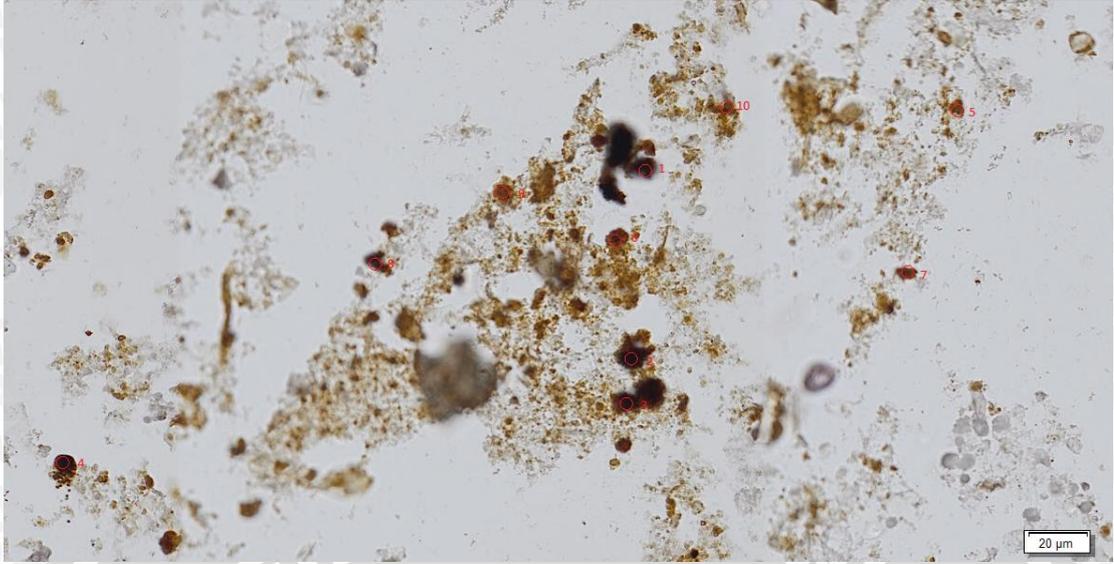
21) Stasiun 3, Plot 1 dan lapang pandang 3



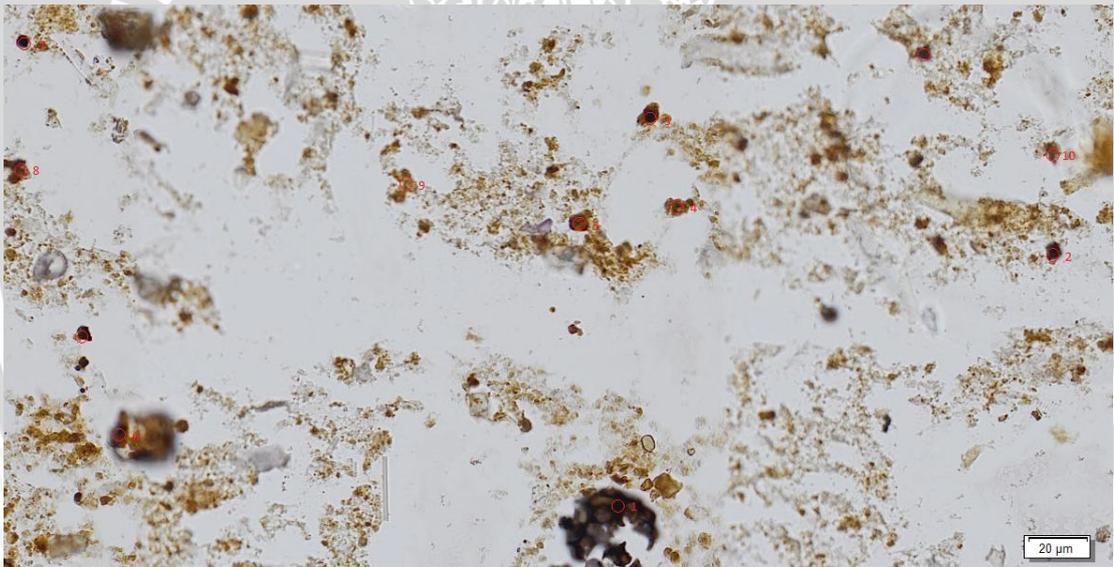
22) Stasiun 3, Plot 2 dan lapang pandang 1



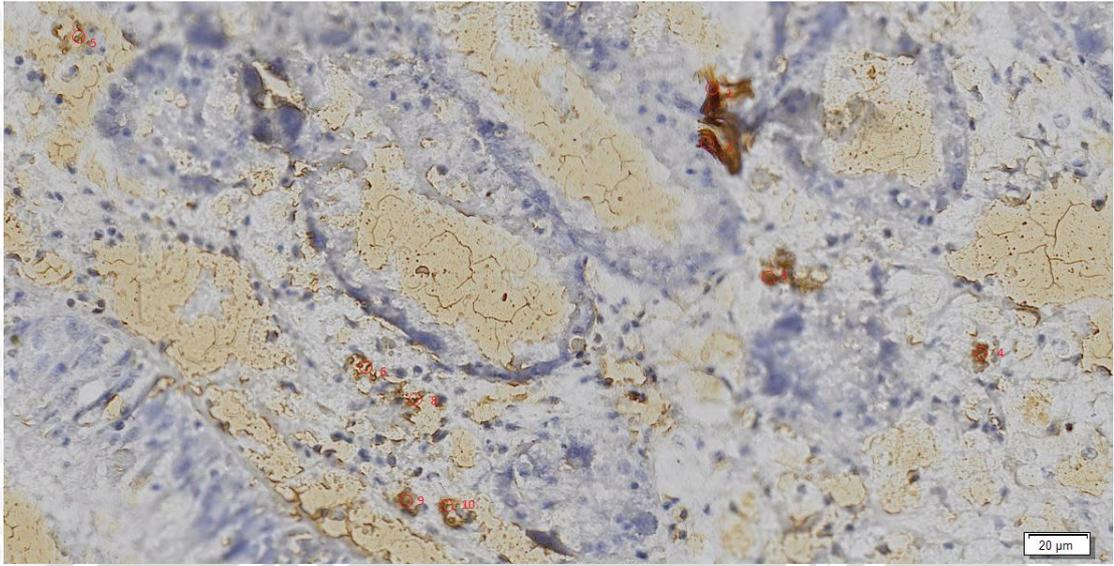
23) Stasiun 3, Plot 2 dan lapang pandang 2



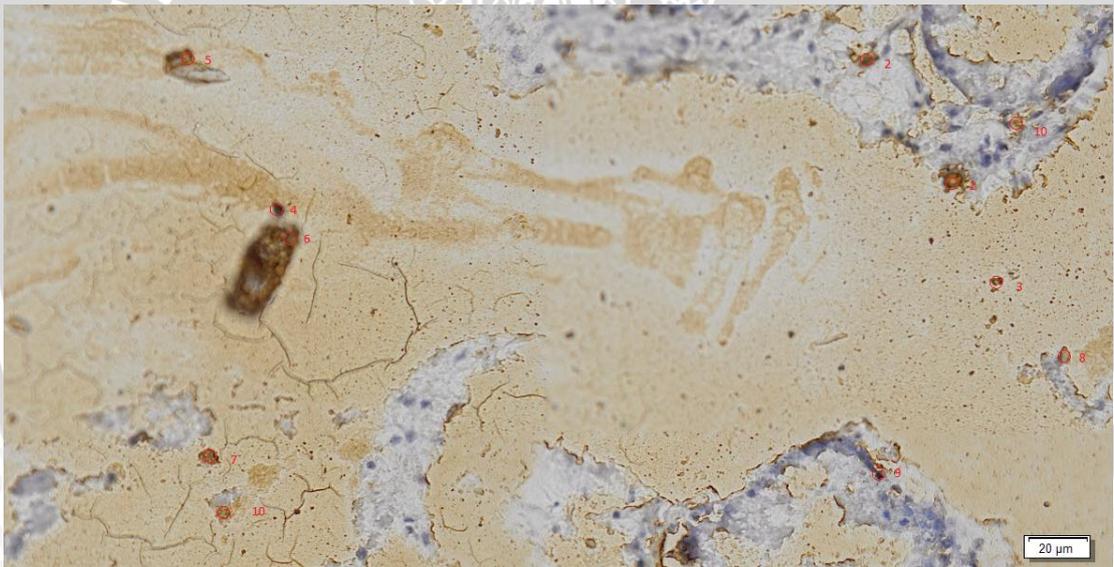
24) Stasiun 3, Plot 2 dan lapang pandang 3



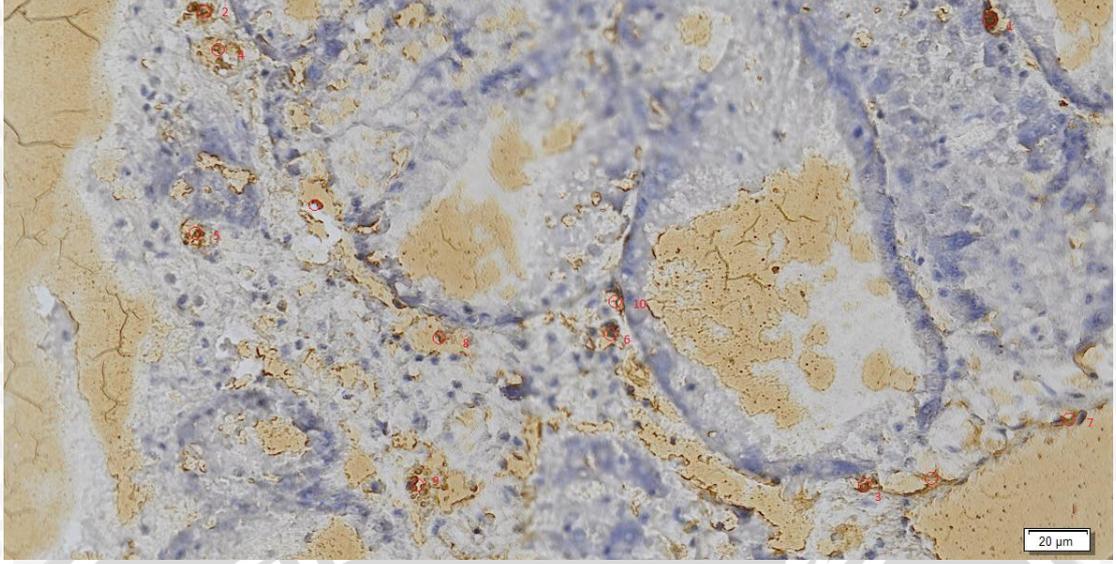
25) Stasiun 3, Plot 3 dan lapang pandang 1



26) Stasiun 3, Plot 3 dan lapang pandang 2



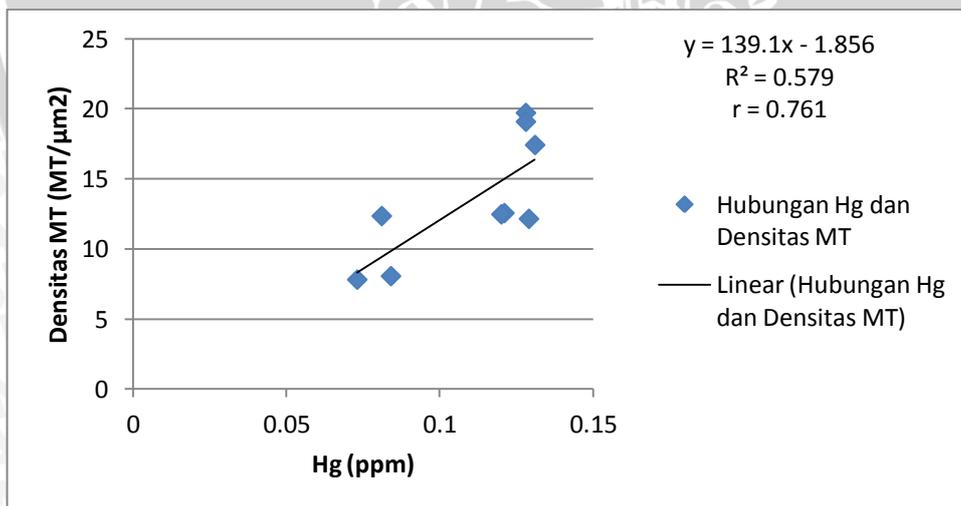
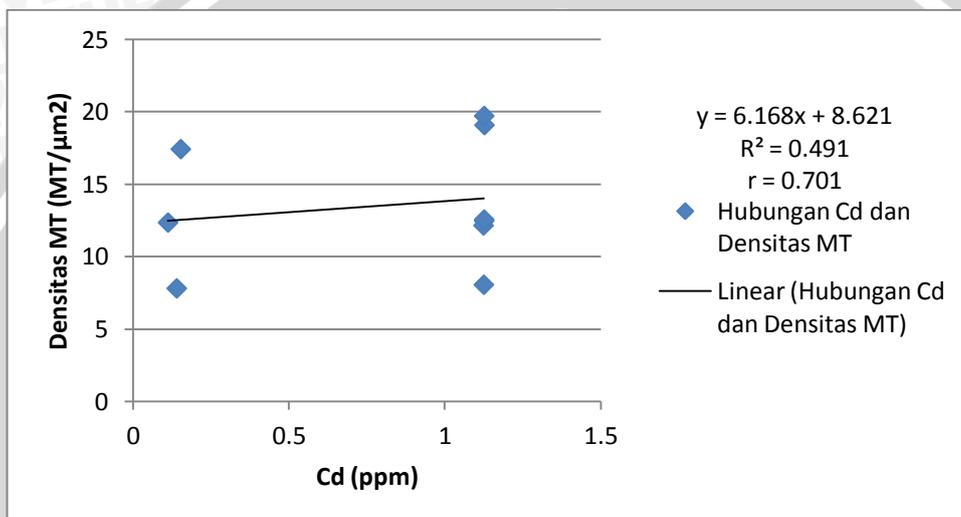
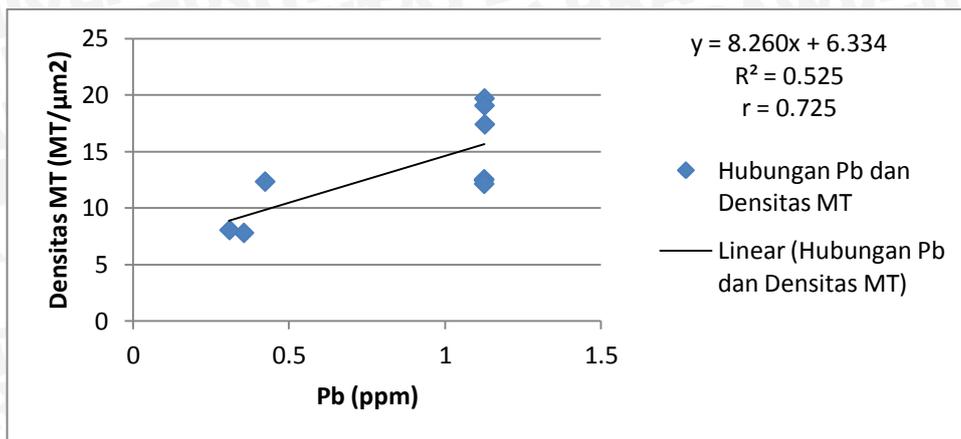
27) Stasiun 1, Plot 3 dan lapang pandang 3

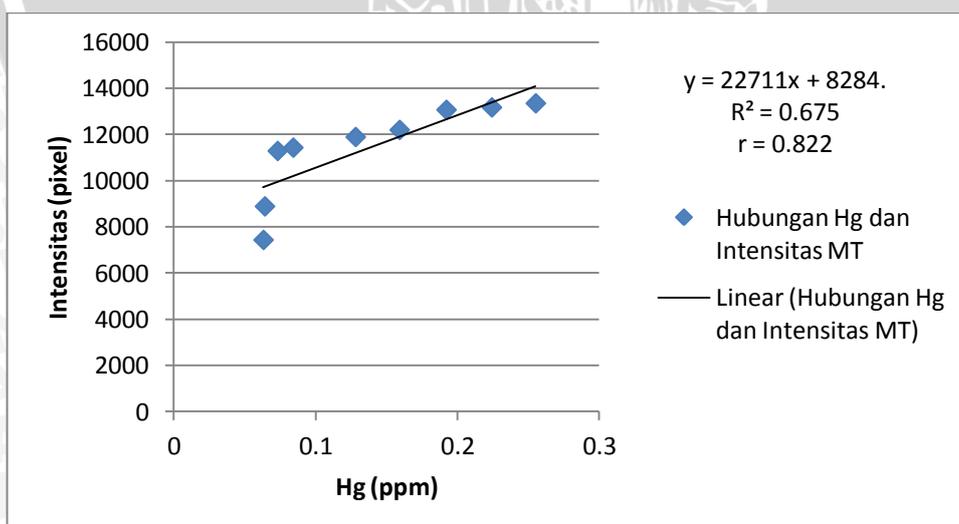
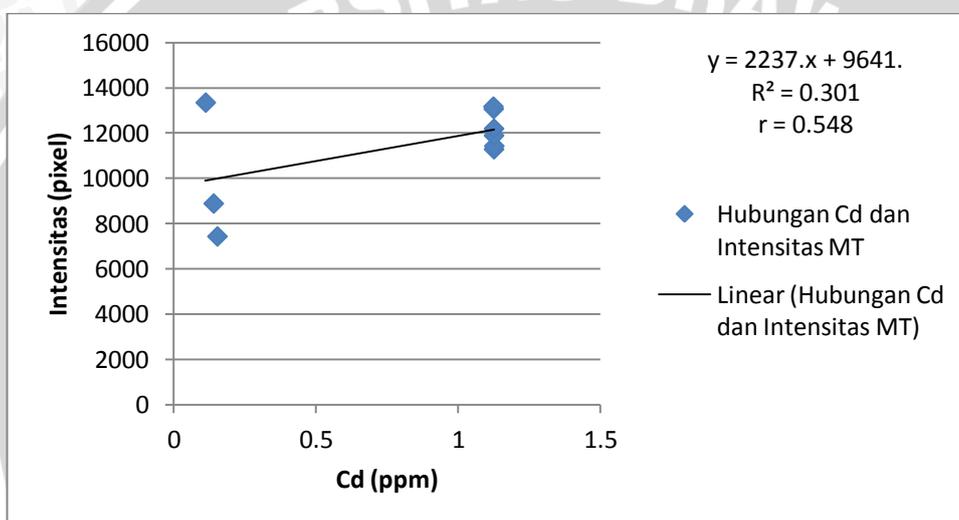
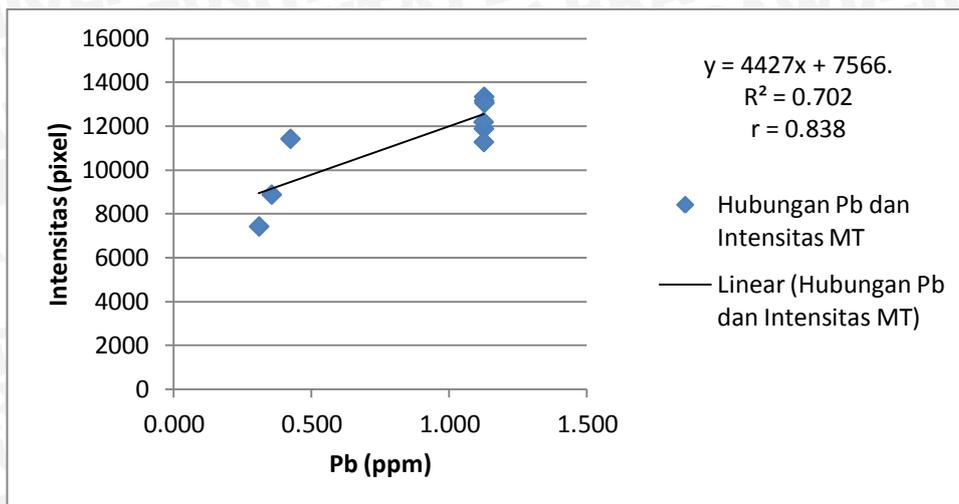


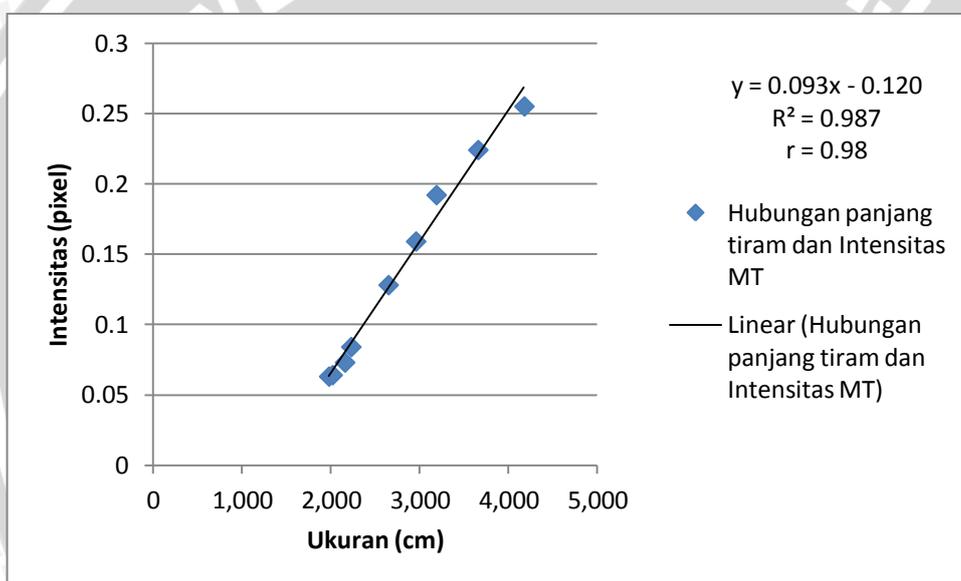
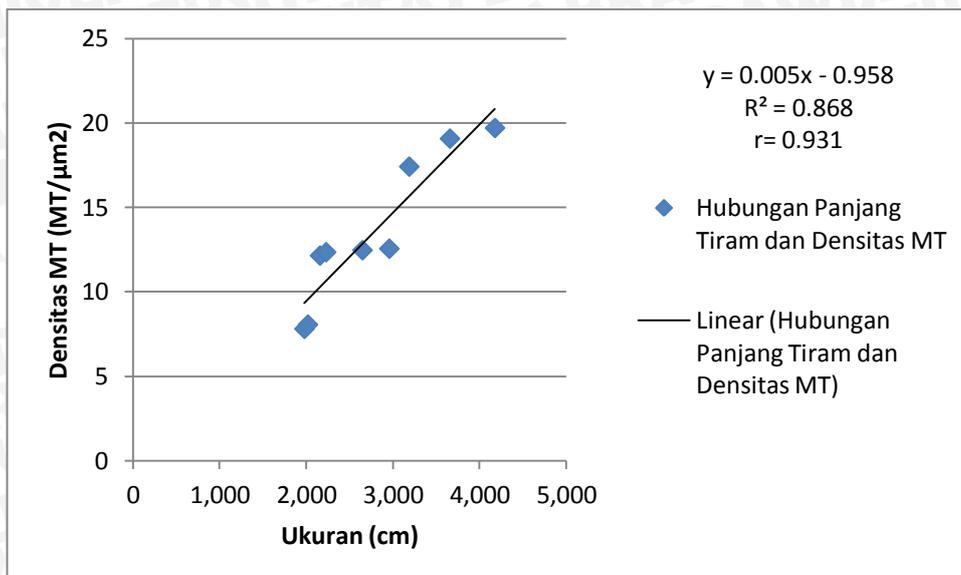
Lampiran 7. Data intensitas metallothionein

LAPANG PANDANG	DATA INTENSITAS METALLOTHIONEIN (pixel)								
	STASIUN PENELITIAN								
	I			II			III		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	17053	10075	5530	10069	14670	11227	13797	7188	6812
	14623	15581	7112	59935	14458	13639	19633	9810	11599
	15698	12484	6025	10533	13162	10628	14969	8199	16225
	15522	12267	5685	59580	12475	12392	16840	10222	14740
	17262	11236	5233	58384	13150	10860	15361	5577	17749
	15567	9027	5385	59543	13364	10510	14890	11477	10605
	15304	15380	6757	58604	11882	10078	12782	5375	5695
	16444	12862	7435	11327	15370	7101	15469	5926	9451
	18780	10358	7322	57665	12782	14722	12704	4619	5611
	14058	13053	9511	13852	12776	9313	9856	11703	4548
RERATA	16031.1	12232.3	6599.5	39949.2	13408.9	11047	14630.1	8009.6	10303.5
2	3057	10048	6482	16901	9078	12825	10513	7692	10611
	16239	9572	6519	38727	10907	8905	15044	11746	11011
	10357	12037	5790	39371	10357	10285	14301	14261	8709
	10085	10116	5775	36897	11715	8772	13668	10107	14243
	14309	14309	9500	11656	16407	8666	13984	11190	9286
	13430	12933	5000	13483	12054	15243	12136	6754	9793
	14392	10256	12195	39637	12000	14461	15990	11262	11092
	17244	11735	7475	12280	8769	16457	14176	15839	10710
	16130	15696	7931	38423	16708	13845	11787	13834	14760
	17430	13070	8862	16315	13685	16052	12587	11130	8605
RERATA	13267.3	11977.2	7552.9	26369	12168	12551.1	13418.6	11381.5	10882
3	13990	12875	5993	48515	15965	9908	15586	3787	10945
	18266	12908	4989	15115	17893	9842	13383	4345	15953
	19176	9686	9527	49901	14806	9918	14312	5162	11410
	15686	9902	13593	12869	13615	8853	16516	14128	11924
	15634	14021	6277	13409	11653	12145	17795	6704	16139
	11480	9763	6747	10162	10676	12239	9250	3754	11191
	18419	12326	6373	12394	13289	11816	16399	8992	13845
	14707	11713	8404	14891	15344	8973	18536	8047	7084
	18576	9917	7664	12216	14756	9182	13706	8782	14513
	18437	11703	12093	13454	16881	9897	15254	9186	13228
RERATA	16437.1	11481.4	8166	12292.6	15352	10277.3	15073.7	7288.7	12623.2

Lampiran 8. Grafik regresi







Lampiran 9. Foto Tiram *Crasostrea cucullata*

