

**ANALISIS HUBUNGAN METALLOTHIONEIN (MT) PADA INSANG TIRAM  
(*Crassostrea cucullata*) DENGAN KADAR Pb, Cd DAN Hg DI PERAIRAN  
PANTAI PRENDUAN, SUMENEP, MADURA.**

**SKRIPSI**

**PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

**Oleh :**

**DIAN AGUSTIN**

**NIM. 115080113111010**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2015**

**ANALISIS HUBUNGAN METALLOTHIONEIN (MT) PADA INSANG TIRAM  
(*Crassostrea cucullata*) DENGAN KADAR Pb, Cd DAN Hg DI PERAIRAN  
PANTAI PRENDUAN, SUMENEP, MADURA.**

**SKRIPSI**

**PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

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

**Oleh :**

**DIAN AGUSTIN**

**NIM. 115080113111010**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2015**

SKRIPSI

HUBUNGAN KADAR METALLOTHIONEIN (MT) PADA INSANG TIRAM  
(*Crassostrea cucullata*) DENGAN KADAR Pb, Cd DAN Hg DI PERAIRAN  
PANTAI PRENDUAN, SUMENEP, MADURA.

Oleh :  
Dian Agustini  
NIM. 115080113111010

Telah dipertahankan didepan penguji  
Pada tanggal 18 Mei 2015  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dosen Penguji I

Ir. Herwati Umi S. MS  
NIP.19520402198003 2 001

Tanggal:

Dosen Penguji II

Prof. Ir. Yenny Risjani, DEA, Ph.D  
NIP.19610523 198703 2 003

Tanggal:

Dosen Pembimbing I

Prof. Dr. Ir. Diana Arfiati, MS  
NIP. 19591230 198503 2002

Tanggal:

Dosen Pembimbing II

Dr. Asus Maizar, S. H., S.Pi, MP  
NIP. 19720529 200312 1 001

Tanggal:

Mengetahui,  
Ketua Jurusan

Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS  
NIP. 19620805 198603 2 001

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.

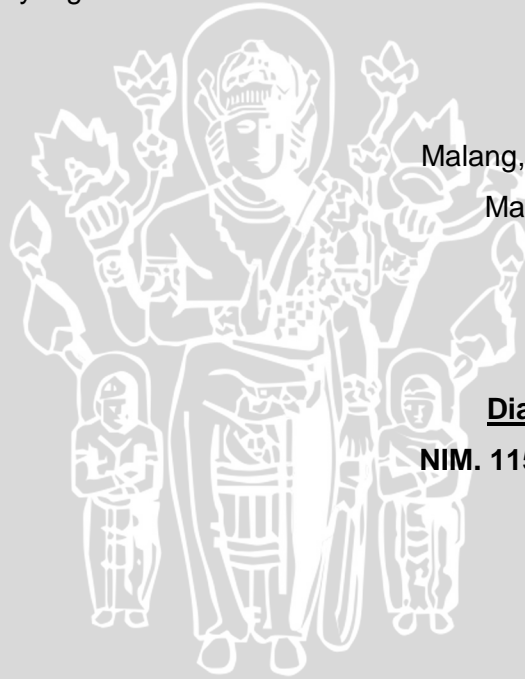
Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan laporan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, 18 Mei 2015

Mahasiswa

Dian Agustin

**NIM. 11508011311010**



## UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyampaikan ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Diana Arfiati, MS selaku dosen pembimbing 1 atas bimbingan serta nasehat yang telah diberikan.
2. Dr. Asus Maizar, S. H., S.Pi, MP selaku dosen pembimbing 2 atas bimbingan serta nasehat yang telah diberikan.
3. Ir. Herwati Umi, MS selaku dosen penguji 1 atas bimbingan serta nasehat yang telah diberikan.
4. Prof. Ir. Yenny Risjani, DEA, Ph.D selaku dosen penguji 2 atas bimbingan serta nasehat yang telah diberikan.
5. Sujud dan terima kasih yang dalam penulis persembahkan kepada bapak dan ibu tercinta, atas dorongan yang kuat, kebijaksanaan dan do'a.
6. Ucapan terima kasih secara khusus penulis sampaikan kepada kakak tercinta, Peni Indrastuti dan Enik Etriani yang selalu memberikan dukungan baik moril maupun materil, serta
7. Teman-teman Penelitian "Tim Madura Bahagia" yang telah berjuang bersama menyelesaikan penelitian ini.
8. Teman-teman MSP yang telah membantu selama proses skripsi.

Malang, 18 Mei 2015

Penulis

## RINGKASAN

**DIAN AGUSTIN.** Laporan Skripsi Analisis Hubungan Metallothionein (MT) pada Insang Tiram (*Crassostrea cucullata*) dengan Kadar Pb, Cd dan Hg di Perairan Pantai Prenduan, Kabupaten Sumenep, Madura. Di Bawah Dosen Pembimbing **Prof. Dr. Ir. Diana Arfiati, MS.** Dan **Dr. Asus Maizar, S.H., S.Pi, MP.**

---

Keberadaan logam berat di perairan laut dapat berasal dari berbagai sumber, antara lain dari kegiatan pertambangan, rumah tangga, limbah pertanian, buangan industri, perikanan, dan perkapalan. Keberadaan logam berat dapat mengganggu ekosistem perairan apabila jumlahnya melebihi ambang batas yang ditentukan. Karena sifatnya yang non-degradable. Desa Prenduan memiliki berbagai kegiatan industri dan aktivitas perikanan yang berpotensi menjadi sumber pencemar logam berat bagi perairan. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan oktober 2014 – januari 2015 yang bertujuan untuk mengetahui hubungan Metallothionein (MT) pada insang tiram *Crassostrea cucullata* dengan kadar Pb, Cd dan Hg di perairan pantai Prenduan, Kabupaten Sumenep, Jawa Timur. Metode yang digunakan adalah survei dengan penjelasan deskriptif pada beberapa titik pengambilan sampel dari 3 stasiun pengamatan. Stasiun 1 di tentukan di kawasan mangrove, stasiun 2 area perikanan pantai dan pemukiman penduduk dan stasiun 3 area peternakan ayam. Sampel tiram *C. cucullata* di ambil dari tiap stasiun dan di analisa kadar metallothioneinya menggunakan teknik ELISA (*enzym-linked immunosorbent assay*), di ukur kadar logam berat di insang dan air, serta beberapa fisika dan kimia air. Perairan Pantai Prenduan mengandung logam berat Pb, Cd dan Hg telah melebihi nilai ambang batas yang ditetapkan menurut PP No. 82 Tahun 2001. Tiram *Crassostrea cucullata* mengakumulasi logam berat Pb 0,35-0,76 mg/l, Cd 0,09-0,15 mg/l, Hg 0,07-0,15 mg/l, kadar logam berat Pb, Cd dan Hg yang terkandung dalam insang tiram masih di bawah ambang batas yang telah ditetapkan oleh Dirjen POM No. 03725/B/SK/VII/89. Kadar Metallothionein (MT) pada insang Tiram *Crassostrea cucullata* berkisar 900-5500 ng/ml. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ukuran tiram dan akumulasi logam berat merupakan faktor yang dapat mempengaruhi produksi metallothionein pada tubuh tiram. Hubungan ukuran tiram dan kadar logam berat Pb, Cd, Hg terhadap kadar metallothionein berkorelasi positif, semakin besar ukuran tiram semakin tinggi akumulasi logam beratnya produksi MT semakin meningkat. Metallothionein hanya mampu di produksi oleh tiram yang masih sehat. Sehingga perlu dijaga agar pantai Prenduan terhidar dari beban pencemar yang dapat mengakibatkan kerusakan insang tiram.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kehadirat Allah SWT, karena berkat rahmat dan hidayah Nya lah saya dapat menyelesaikan Laporan Skripsi yang berjudul “Analisis Hubungan Metallothionein (MT) pada Insang Tiram (*Crassostrea cucullata*) dengan Kadar Pb, Cd dan Hg di Perairan Pantai Prenduan, Sumenep, Madura ”. Dalam penyusunan Laporan Penelitian Skripsi ini tentunya tidak sedikit hambatan yang saya hadapi. Namun penulis menyadari bahwa dalam penyusunan Laporan Penelitian Skripsi ini berjalan dengan baik atas bantuan, dorongan dan bimbingan dari orang tua maupun dosen–dosen Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.

Sangat disadari bahwa dengan kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki penulis, walaupun telah dikerahkan segala kemampuan untuk lebih teliti, tetapi masih dirasakan banyak kekurangtepatan, oleh karena itu penulis mengharapkan saran yang membangun agar tulisan ini bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, 18 Mei 2015

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN .....	ii
PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iii
RINGKASAN.....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI .....	vi
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN .....	x
<b>1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.4 Kegunaan .....	4
1.5 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>6</b>
2.1 Tiram.....	6
2.1.1 Biologi Tiram .....	6
2.1.2 Anatomi Tiram.....	7
2.1.3 Klasifikasi <i>Crassostrea cucullata</i> .....	8
2.1.4 Kebiasaan Makan Tiram .....	9
2.1.5 Mekanisme Penyerapan Makanan Oleh Tiram.....	10
2.2 Logam Berat .....	11
2.2.1 Timbal (Pb) .....	12
2.2.2 Kadmium (Cd).....	14
2.2.3 Merkuri (Hg).....	15
2.2.4 Mekanisme Penyerapan Logam di Tiram .....	15
2.3 Metallothionein .....	17
2.4 Pengikatan Logam Berat Oleh Metallothionein .....	17
2.5 Pengamatan Metallothionein dengan Metode ELISA .....	18
2.6 Kondisi Fisika dan Kimia Air .....	19
2.6.1 Suhu .....	19
2.6.2 Derajat Keasaman (pH/Potential Hydrogen).....	20
2.6.3 Oksigen Terlarut (DO/ <i>Dissolved Oxygen</i> ).....	21
2.6.4 Salinitas .....	22
2.6.5 Total Bahan Organik (TOM/ <i>Total Organic Matter</i> ) .....	23



<b>3. MATERI DAN METODE .....</b>	<b>24</b>
3.1 Materi Penelitian.....	24
3.2 Alat dan Bahan.....	24
3.3 Metode Penelitian.....	24
3.4 Penentuan Stasiun .....	26
3.5 Metode Analisis Kualitas Air .....	26
3.5.1 Suhu .....	26
3.5.2 pH ( <i>potensial Hydrogen</i> ) .....	27
3.5.3 Salinitas .....	27
3.5.4 Oksigen Terlarut ( <i>DO/Dissolved Oxygen</i> ) .....	27
3.5.5 Total Bahan Organik ( <i>TOM/Total Organic Matter</i> ).....	28
3.6 Prosedur Pengukuran Ukuran Tiram.....	29
3.7 Pengujian Kadar Logam Berat Pb, Cd dan Hg pada Air dan Insang Tiram <i>C. cucullata</i> .....	30
3.8 Prosedur Pengujian Kadar Metallothionein pada Insang Tiram .....	31
3.9 Analisis Data .....	34
<b>4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>36</b>
4.1 Gambaran Umum Perairan Pantai Prenduan.....	36
4.2 Deskripsi Stasiun Pengamatan .....	37
4.2.1 Stasiun 1 .....	37
4.2.2 Stasiun 2 .....	37
4.2.3 Stasiun 3 .....	38
4.3 Sebaran Ukuran Sampel Tiram .....	39
4.4 Logam Berat Pb, Cd dan Hg pada Perairan .....	41
4.5 Logam Berat Pb, Cd dan Hg pada Insang Tiram .....	46
4.6 Kandungan Metallothionein pada Insang Tiram.....	51
4.7 Hubungan Kadar Logam Berat Pb, Cd dan Hg, Ukuran dan Metallothionein pada Insang Tiram.....	54
4.8 Parameter Kualitas Air .....	60
4.8.1 Suhu .....	61
4.8.2 Derajat Keasamaan (pH/potensial Hydrogen) .....	61
4.8.3 Salinitas .....	62
4.8.4 Oksigen Terlarut ( <i>DO/Dissolved Oxygen</i> ) .....	63
4.8.5 Bahan Organik Total ( <i>TOM/Total Organic Matter</i> ).....	64
<b>5. PENUTUP .....</b>	<b>65</b>
5.1 Kesimpulan .....	65
5.2 Saran .....	65
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>66</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>75</b>

DAFTAR TABEL

Tabel

Halaman

1. Data Kualitas Air Laut..... 60



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bagan Alur Perumusan Masalah .....	4
2. Bentuk Umum Tiram.....	7
3. Metallothionein yang mengikat Cd.....	18
4. Bagian-bagian sisi cangkang bivalvia .....	30
5. Area Hutan Mangrove (Stasiun 1) .....	37
6. Area Perikanan Pantai dan Pemukiman (Stasiun 2).....	38
7. Area Peternakan Ayam (Stasiun 3) .....	39
8. Grafik Rata-Rata Sebaran Ukuran Sampel Tiram.....	39
9. Grafik Rata-Rata Kadar Logam Berat Pb, Cd dan Hg di Air.....	41
10. Grafik Kadar Logam Berat (Hg, Cd, Pb) pada Insang Tiram .....	47
11. Grafik Nilai Rata-Rata Kadar Metallothionein Pada Insang Tiram.....	51
12. Grafik hubungan ukuran tiram dan kadar logam berat Pb , Cd dan Hg terhadap kadar metalothionein pada insang tiram <i>C. cucullata</i> .....	55

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat dan Bahan Penelitian .....	75
2. Tiram <i>Crassostrea cucullata</i>	
a. Tiram <i>Crassostrea cucullata</i> .....	76
b. Pengukuran pada tiram <i>Crassostrea cucullata</i> .....	76
3. Data Ukuran Sampel Tiram <i>Crassostrea cucullata</i> .....	77
4. Data Logam Berat di Air .....	77
5. Data Logam Berat pada Tiram <i>Crassostrea cucullata</i> .....	78
6. Data Kadar Metallothionein (MT) pada Tiram .....	79
7. Hubungan Ukuran Tiram dan Kadar Logam Berat Pb Terhadap Kadar Metallothionein pada Insang Tiram <i>C. Cucullata</i> .....	80
8. Hubungan Ukuran Tiram dan Kadar Logam Berat Cd Terhadap Kadar Metallothionein pada Insang Tiram <i>C. Cucullata</i> .....	81
9. Hubungan Ukuran Tiram dan Kadar Logam Berat Hg Terhadap Kadar Metallothionein pada Insang Tiram <i>C. Cucullata</i> .....	82
10. Peta dan Denah Lokasi Penelitian.....	83
a. Peta Lokasi Pantai Preduan .....	83
b. Denah Lokasi Pnatai Preduan .....	84

## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Aktivitas manusia dalam memanfaatkan kawasan pesisir sering kali menghasilkan limbah atau bahan pencemar yang dapat membahayakan kehidupan di perairan laut. Semakin bertambahnya aktivitas manusia di berbagai sektor kehidupan, akan meningkatkan tekanan terhadap lingkungan perairan, sehingga pada suatu saat dapat melampaui keseimbangan air laut, sehingga perairan menjadi tercemar (Haryoto, 2004; Wiryawan, *et al.*, 1999).

Aktivitas manusia yang berada di sekitar perairan pantai Prenduan adalah aktivitas perikanan yang meliputi penangkapan yang menggunakan kapal bermotor dan pengolahan serta pencucian hasil tangkapan, pemukiman dan peternakan. Semua aktivitas tersebut akan menghasilkan limbah yang jika dibuang keperairan akan mengakibatkan perubahan kualitas perairan pantai serta dapat mengakibatkan pencemaran perairan pantai. Jika limbah tersebut mengandung logam berat maka diperairan juga akan terdeteksi. Pencemaran logam berat pada dasarnya terjadi karena terbawa oleh air, udara dan aktivitas manusia. Apabila air telah tercemar oleh komponen-komponen anorganik, maka kemungkinan juga mengandung berbagai logam berat. Walaupun jumlah Logam berat kecil namun tingkat keracunan dapat tinggi karena sifatnya yang tidak terdegradasi di lingkungan dan mudah terakumulasi dalam jaringan tubuh makhluk hidup (Fardiaz, 1992).

Logam berat merupakan salah satu bahan pencemar berbahaya karena sifatnya yang tidak mudah diuraikan. Logam berat juga akan mengendap di dasar perairan yang mempunyai waktu tinggal (*residence time*) sampai ribuan tahun. Logam berat akan terkonsentrasi ke dalam tubuh makhluk hidup dengan proses bioakumulasi dan biomagnifikasi melalui beberapa jalan yaitu: melalui

saluran pernapasan, saluran makanan dan melalui kulit (Darmono, 2001). Diantara semua logam berat, Hg dan Cd menduduki urutan pertama dan kedua, tingkat racunnya dan makin menurun untuk logam berat lainnya, yaitu perak (Ag), nikel (Ni), timbal (Pb), kromium (Cr), timah (Sn) dan seng (Zn) (Waldichuk, 1974). Selain itu, menurut Laws (1993), berdasarkan kegunaannya golongan logam berat yang sama sekali belum diketahui manfaatnya bagi organisme perairan antara lain Hg, Cd dan Pb. Ditinjau dari aspek kesehatan masyarakat Hg, Cd dan Pb termasuk logam berat yang paling berbahaya untuk organisme laut, toksisitas Cu dan Ag akan meningkat dengan adanya Hg (Bryan, 1985 dalam Palar, 1994).

Pencemaran logam berat di perairan memerlukan adanya kegiatan pemantauan tingkat akumulasinya pada organisme laut. Untuk penelitian kontaminasi logam berat dari organisme yang menetap, spesies bivalvia secara khusus telah digunakan sebagai organisme indikator biologi karena sifatnya yang *filter feeder* dan mempunyai toleransi yang besar terhadap tekanan ekologis yang tinggi (Hasim, 2003; Apriadi, 2005).

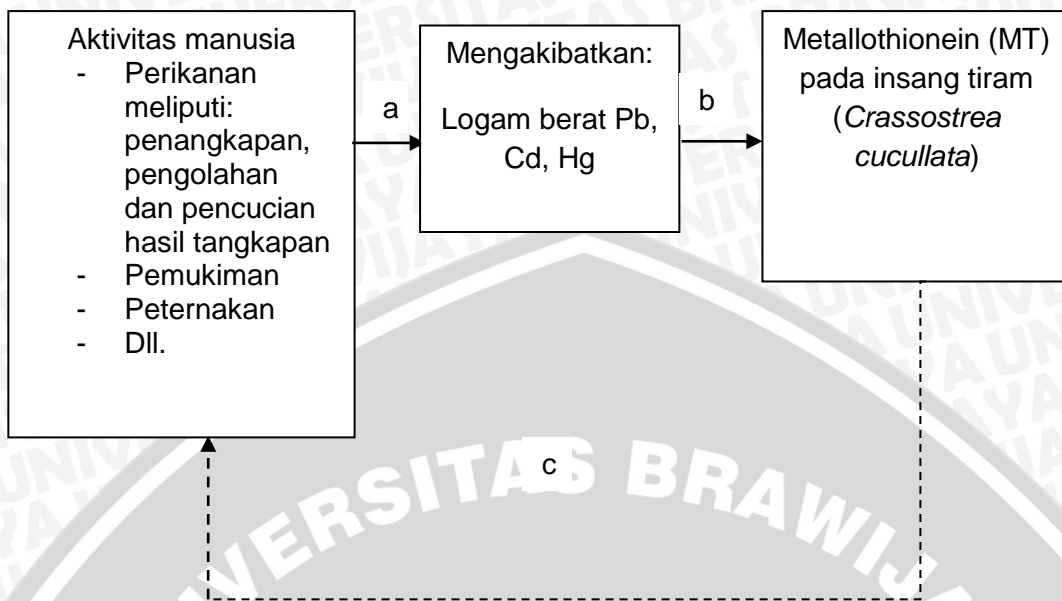
Tiram yang tergolong dalam kelas bivalvia merupakan organisme *filter feeder* yang efektif untuk mengurangi konsentrasi logam berat karena mempunyai kemampuan mengakumulasi zat tersebut di tubuhnya jauh di atas dari yang terkandung di perairan sekitarnya (Wulandari, 2011; Fajri, 2001). Logam berat yang diserap oleh tubuh hewan perairan kebanyakan dalam bentuk ion melalui insang dan saluran pencernaan. Logam dapat tertimbun dalam jaringan terutama di hati dan ginjal (Nurtoni *et al.*, 1984).

Tiram dapat mengakumulasi logam berat dari konsentrasi yang ada di air laut. Keberadaan tiram telah banyak digunakan sebagai indikator pencemaran logam dalam ekosistem laut. Metallothionein yang terdapat dalam tiram digunakan sebagai biomarker yang baik terhadap paparan logam berat. Metallothionein berperan penting terhadap pertahanan detoksifikasi logam non-

esensial seperti timbal, kadmium dan merkuri (Carpene, *et al.*, 2007). Oleh karena itu diperlukan informasi mengenai kandungan metallothionein pada insang tiram (*Crassostrea cucullata*) yang terpapar logam berat Pb, Cd, Hg di perairan pantai Prenduan. Dengan menganalisis kandungan metallothionein yang terdapat pada tubuh tiram, diharapkan dapat mengetahui tingkat pencemaran logam berat Pb, Cd, Hg yang terdapat di perairan pantai Prenduan, Kabupaten Sumenep.

## 1.2 Rumusan Masalah

Aktivitas manusia di sekitar perairan pantai Prenduan Sumenep Madura seperti aktivitas perikanan yang meliputi penangkapan dan pengolahan hasil tangkapan, pemukiman dan peternakan menghasilkan limbah yang jika dibuang ke dalam perairan dapat mempengaruhi konsentrasi logam esensial dan non esensial serta mempengaruhi perubahan faktor fisika dan kimia air. Perubahan kualitas air dan konsentrasi logam berat Pb, Cd, Hg di perairan akan mempengaruhi kandungan metallothionein (MT) pada tubuh organisme sebagai protein pengikat logam berat. Kandungan metallothionein (MT) dapat dijadikan biomarker pencemaran logam berat Pb, Cd, Hg yang nantinya diharapkan dapat dijadikan acuan dalam mengendalikan aktivitas manusia di perairan pantai Prenduan, Sumenep. Untuk lebih jelasnya rumusan masalah dalam penelitian ini dapat di lihat pada gambar 1.



**Gambar 1.** Bagan Alur Perumusan Masalah

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui hubungan antara kadar metallothionein (MT) pada insang tiram *C. cucullata* dengan ukuran tiram dan kadar logam berat Pb, Cd dan Hg pada insang tiram *C. cucullata* di perairan Pantai Prenduan, Kabupaten Sumenep, Madura.

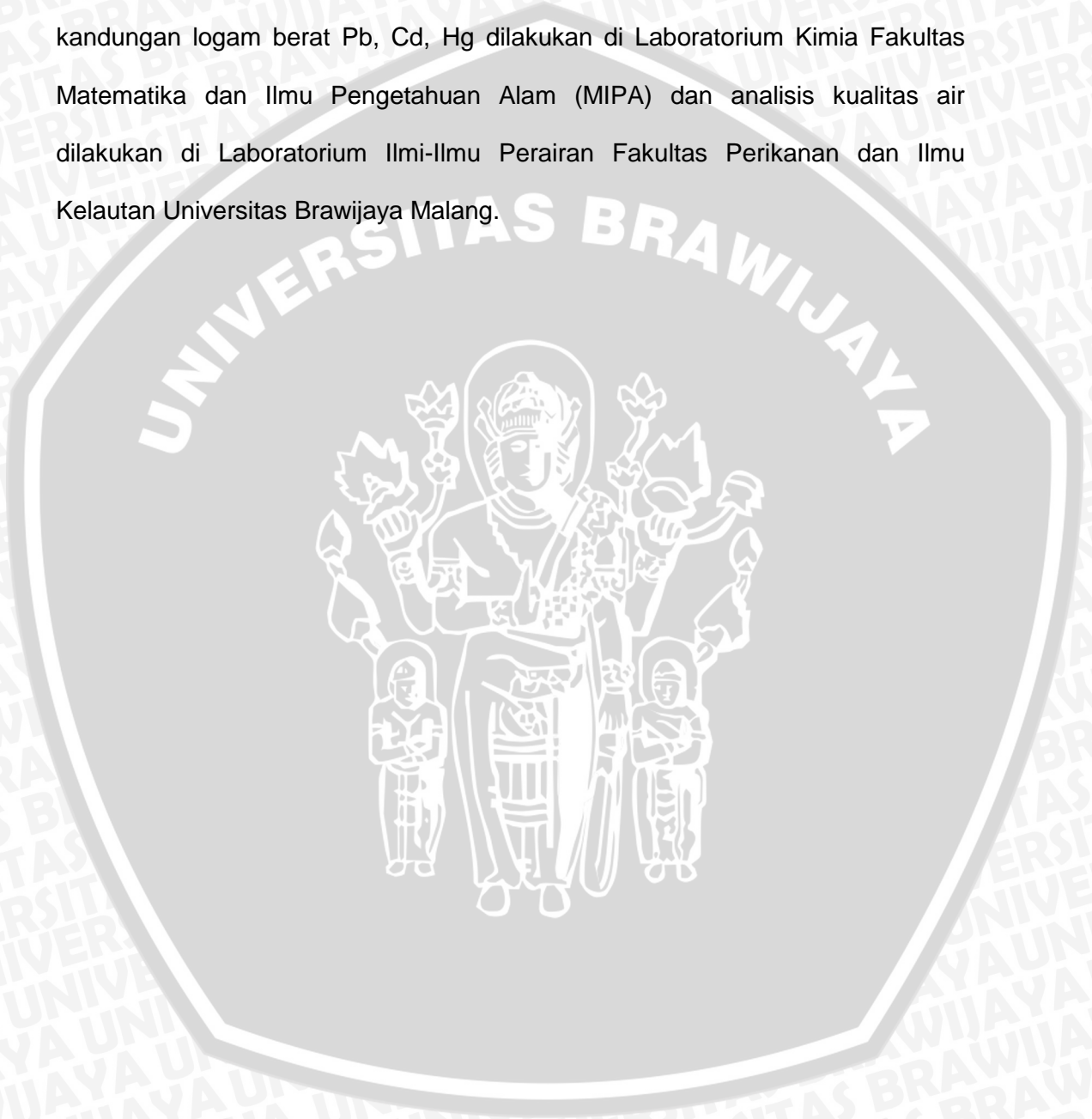
### 1.4 Kegunaan

Kegunaan dari penelitian ini adalah memberikan informasi terkait hubungan antara kadar metallothionein pada insang tiram *C. cucullata* dengan ukuran tiram dan kadar logam berat Pb, Cd, Hg di Perairan Pantai Prenduan, hubungan kadar metallothionein tersebut dapat digunakan sebagai bahan acuan untuk pengelolaan dan pemanfaatan perairan pantai Prenduan. Dapat digunakan sebagai bahan rujukan bagi ilmu pengetahuan, di samping itu untuk mengetahui kadar metallothionein pada insang tiram.



### 1.5 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober 2014 sampai Januari 2015 di perairan Pantai Prenduan, Kabupaten Sumenep. Sedangkan analisis kandungan metallothionein dilakukan di Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran, analisis kandungan logam berat Pb, Cd, Hg dilakukan di Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) dan analisis kualitas air dilakukan di Laboratorium Ilmi-Ilmu Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang.



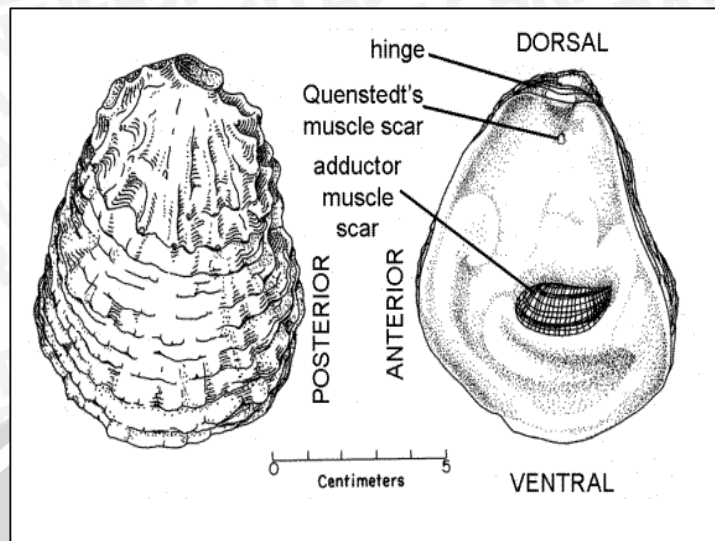
## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tiram

#### 2.1.1 Biologi Tiram

Tiram termasuk kedalam jenis kerang laut yang hidup dengan cara menempelkan cangkang pada permukaan substrat yang keras dengan menggunakan semen (Musthafia, 2001). Perbedaan tiram dengan kerang yaitu pada cangkang dan tempat hidupnya. Tiram hidup menempel pada substrat yang lebih keras kayu atau batu (Sugiarti *et. al.*, 2002; Arfiati, 2007), sedangkan kerang relatif dapat bergerak dan hidup di pasir atau masuk ke dalam pasir di dasar perairan. Menurut Irianto, *et al.* (1994), umumnya tiram ditemui menempel pada batu dan tiang-tiang pelabuhan, keramba, dan pada akar-akar pohon di daerah pantai yang terkena pengaruh pasang surut air laut. Spesies *Crassostrea* sp. hidup berkelompok dan saling menempel satu sama lain serta melekat pada akar mangrove. Ukuran maksimum tiram sebesar 4 cm, tetapi dapat mencapai 6-8 cm (Izwady, 2006 dalam Asriyanti, 2012).

Tiram memiliki cangkang yang sedikit tidak beraturan dibandingkan dengan cangkang kerang yang memiliki ukuran yang sama pada kedua belah cangkang tersebut. Cangkang tiram terdiri dari dua macam, yaitu bagian mangkok yang relatif lebih cekung dan bagian tutup yang mendatar. Bagian mangkok disebut cangkang kiri atau cangkang bawah dan merupakan bagian yang menempel pada substrat, sedangkan cangkang kanan atau cangkang atas merupakan bagian tutup dengan bentuk yang relatif datar. Pada cangkang tiram terdapat membran semacam kulit yang menempel disebut mantel (Quayle dan Newkirk, 1989 dalam Wulandari, 2011). Bentuk umum tiram dapat dilihat pada gambar 2.



**Gambar 2.** Bentuk umum Tiram (Galtsoff, 1964)

### 2.1.2 Anatomi Tiram

Menurut Galtsoff (1964), tiram tergolong dalam Pelecypoda (kerang-kerangan) dan biasa disebut oyster. Ciri umum tiram yaitu memiliki 2 buah cangkang serta mempunyai insang yang relatif besar sebagai alat untuk bernafas dan menyerap makanan. Bentuk cangkang tiram, khususnya pada genus *Crassostrea* dipengaruhi oleh tempat hidupnya. Tiram yang tinggal pada substrat yang lunak dan berlumpur cenderung berkelompok, ramping atau langsing dengan hiasan garis-garis tubuh yang jarang. Sedangkan yang hidup pada perairan dengan arus agak kuat bentuknya lebih membulat (radial).

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 monomeri, 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 terhisap ke dalam tubuh dan jika dalam tubuhnya terdapat kotoran maka mantel akan menyebarkan kotoran itu keluar (Syazili, 2011).

### 2.1.3 Klasifikasi *Crassostrea cucullata*

Berikut ini adalah klasifikasi dari tiram *Crassostrea cucullata* menurut Zipcodezoo.com (2013),

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

#### 2.1.4 Kebiasaan Makan Tiram

Menurut Suryono (2006), tiram mendapatkan makanan dengan cara menyaring partikel dari perairan termasuk didalamnya mikroalga. Makanan tiram yang berupa mikroalga tersebut masuk kedalam rongga mulut setelah melalui penyaringan dengan cilia yang terdapat pada labial palp sehingga air yang mengandung makanan terbawa masuk kedalam rongga mantel. Kelangsungan hidup dan pertumbuhan tiram sangat dipengaruhi oleh kelimpahan pakan yang ada. Kondisi perairan pesisir yang tercemar, dengan banyaknya buangan limbah dari aliran sungai yang masuk ke dalam perairan mengandung logam berat seperti Pb, Cu dan Hg serta logam berat lainnya. Kondisi ini berpengaruh bagi mikroalga dan tiram itu sendiri, karena tiram merupakan bioakumulasi bagi logam berat. Sehingga kandungan logam berat tersebut semakin meningkat dalam tubuh tiram. Tentunya dengan semakin meningkatnya kandungan logam berat dalam tubuh baik yang masuk melalui rantai makanan (*food chain*) atau secara kontak langsung dengan jaringan akan menyebabkan tiram terganggu dalam melakukan filtrasi makanan, maka tiram akan mengalami penurunan dalam pertumbuhan bahkan mengalami kematian.

Tiram dalam hidupnya menetap pada substrat sehingga untuk mendapatkan makanannya tiram menggunakan insang yang dilengkapi oleh silia, dimana alat ini berfungsi untuk menarik bahan terlarut dalam air bersamaan dengan masuknya air ke dalam mulutnya (Nontji, 2002). Parenrengi *et al.* (1998) menambahkan bahwa makanan tiram berasal dari semua bahan yang tersuspensi di dalam air sehingga sumber makanannya tidak hanya dari jenis fitoplankton tetapi juga dari jenis bakteri, jamur dan zat organik. Hal serupa juga disampaikan oleh Pramusyawardhani *et al.* (2014) yang menyatakan bahwa tiram merupakan salah satu jenis bivalvia yang bergerak sangat lambat, bersifat menetap pada daerah partikular di dasar perairan dan makan dengan cara

menyaring partikel-partikel di dalam air atau yang biasa disebut dengan *filter feeder*. Hal inilah yang menyebabkan tiram dapat mengakumulasi logam lebih besar dari hewan air lainnya sehingga biota ini dapat digunakan untuk memonitoring pencemaran logam berat pada suatu perairan. Logam berat yang terakumulasi pada tubuh tiram dapat menyebabkan keracunan dan lambat laun dapat menyebabkan kematian.

### 2.1.5 Mekanisme Penyerapan Makanan Oleh Tiram

Menurut Galtsoff (1964), makanan yang sudah sampai di mulut akan masuk ke oesophagus diteruskan ke lambung. Makanan akan dipecah-pecah dalam proses pencernaan kemudian yang tercerna didalam 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 didalam lambung dan crystallin sac selain dipecah-pecah juga dibantu oleh enzim yang ada di dalamnya. Sesudah itu makanan akan masuk ke usus, partikel makanan yang sudah tercerna akan didorong oleh silia untuk di masukkan ke dalam vakuola dari sel-sel digestiv kemudian diaktifkan oleh enzim dan diedarkan ke sel-sel lain.

Menurut Lackey (1952) dan Coe (1947) dalam 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 terjatoh dalam lendir dan setelah itu "ditangkap" 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.

Barnes (1968), menyatakan bahwa proses penyaringan pada bivalvia masuk melalui sifon inkuren dan tersaring di insang. Penyusun utama lapisan membran insang adalah epitel pipih selapis dan berhubungan langsung dengan sistem pembuluh, dan diduga logam berat yang masuk bersamaan dengan partikel makanan yang mengalami difusi melalui membran insang dan terbawa aliran darah. Insang bivalvia, termasuk *P. viridis* mempunyai mucus atau lendir yang penyusun utamanya adalah glikoprotein. Sehingga diduga logam tersebut terikat menjadi metallothienin karena penyusun utamanya adalah sistein yaitu protein yang tergolong dalam gugus sulfidril (-SH) yang mampu mengikat logam. Oleh karena sifat mucus insang yang mengalami regenerasi, maka logam berat (termasuk kadmium) yang telah terikat pada mucus insang turut terlepas dari tubuhnya (Overnell dan Sparla, 1990).

## 2.2 Logam Berat

Logam Berat menurut Connel dan Miller (2006), adalah unsur logam dengan berat molekul yang tinggi, memiliki densitas lebih dari  $5 \text{ gr/cm}^3$  dan mempunyai nilai atom lebih besar dari 21 serta terletak di bagian tengah pada daftar periodik. Selain itu, logam berat memiliki karakter yang lunak, berkilau, mempunyai daya hantar panas dan listrik yang tinggi serta bersifat kimiawi, yaitu sebagai dasar pembentukan reaksi dengan asam.

Pada dasarnya, logam berat masih termasuk golongan logam dengan kriteria-kriteria yang sama dengan logam-logam lainnya hanya saja perbedaannya terletak pada pengaruh yang dihasilkan. Bila logam berat masuk atau diberikan ke dalam tubuh organisme hidup akan berguna. Semua logam berat dapat dikatakan sebagai bahan beracun yang akan meracuni makhluk hidup. Ada pula logam-logam yang dibutuhkan tubuh meskipun dalam jumlah yang sangat kecil (logam esensial) dimana apabila kebutuhan yang sangat kecil

tersebut tidak terpenuhi dapat berakibat fatal terhadap kelangsungan makhluk hidup. Bila logam-logam esensial yang masuk ke dalam tubuh dalam jumlah yang berlebihan, maka berubah fungsi menjadi racun (Fardiaz, 1992).

Sanusi (2006), juga mengemukakan bahwa logam berat di perairan terdiri atas logam berat esensial dan non esensial. Logam berat yang sering mencemari lingkungan atau non esensial adalah Hg, Zn, Cd, As, dan Pb. Selain itu, terdapat juga logam berat bersifat esensial karena dibutuhkan dalam pembentukan haemosianin dalam darah dan sistem enzimatik, misalnya Cr, Ni, Cu, dan Zn.

### 2.2.1 Timbal (Pb)

Timbal atau timah hitam yang disimbolkan dengan Pb adalah sejenis logam lunak berwarna coklat dengan nomor atom 82, berat atom 207,19, titik cair 327,5° C, titik didih 1725° C dan berat jenis 11,4 gr/ml (Reilly, 1991). Logam ini mudah dimurnikan sehingga banyak digunakan oleh manusia pada berbagai kegiatan misalnya pertambangan, industri dan rumah tangga. Pada pertambangan timbal berbentuk senyawa sulfida (PbS) (Apriadi, 2005).

Menurut Yalynskaya dan Lopotun (1994), kelarutan Pb dalam air media sangat tergantung pada kondisi pH, konsentrasi klorida dan suhu air. Jika 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. 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.



Timbal (Pb) secara alami banyak ditemukan dan tersebar luas pada bebatuan dan lapisan kerak bumi. Di perairan logam Pb ditemukan dalam bentuk  $Pb^{2+}$ ,  $PbOH^+$ ,  $PbHCO_3$ ,  $PbSO_4$  dan  $PbCO_3$  (Rohilan, 1992).  $Pb^{2+}$  di perairan bersifat stabil dan lebih mendominasi dibandingkan dengan  $Pb^{4+}$  (GESAMP, 1985). Masuknya logam Pb ke dalam perairan dapat melalui proses pengendapan yang berasal dari aktivitas di darat seperti industri, rumah tangga dan erosi, jatuhnya partikel-partikel dari sisa proses pembakaran yang mengandung tetraetil Pb, air buangan dari pertambangan bijih timah hitam dan buangan sisa industri baterai (Palar, 1994).

Penggunaan Pb dalam industri adalah untuk produksi baterai kendaraan bermotor, tinta, cat, logam, dan kabel listrik. Dampak terkonsentrasi Pb pada jaringan tubuh biota laut dapat mempengaruhi kerja enzim-enzim dan fungsi protein (Razak, 1986). Logam berat timbal (Pb) berbahaya karena bersifat biomagnifikasi, yaitu dapat terakumulasi dan tinggal di dalam jaringan tubuh organisme dalam jangka waktu yang lama sebagai racun yang terakumulasi (Darmono, 1995).

Logam Pb bersifat toksik pada manusia dan dapat menyebabkan keracunan akut dan kronis. Keracunan akut biasanya ditandai dengan rasa terbakar pada mulut, adanya rangsangan pada sistem gastrointestinal yang disertai dengan diare. Sedangkan gejala kronis umumnya ditandai dengan mual, anemia, sakit di sekitar mulut, dan dapat menyebabkan kelumpuhan (Darmono, 2001). Fardiaz (1992) menambahkan bahwa daya racun dari logam ini disebabkan terjadi penghambatan proses kerja enzim oleh ion-ion  $Pb^{2+}$ . Penghambatan tersebut menyebabkan terganggunya pembentukan hemoglobin darah. Hal ini disebabkan adanya bentuk ikatan yang kuat (ikatan kovalen) antara ion-ion  $Pb^{2+}$  dengan gugus sulphur di dalam asam-asam amino.

### 2.2.2 Kadmium (Cd)

Kadmium (Cd) termasuk dalam kelompok logam golongan Transition Metal pada Tabel Periodik unsur kimia. Kadmium memiliki berat atom 112.41 g/mol dengan titik cair 321°C dan titik didih 765°C serta berwarna putih keperakan menyerupai aluminium. Kadmium tergolong dalam logam berat dan memiliki afinitas yang tinggi terhadap sulfhidril dan kelarutannya akan meningkat dalam lemak. Kadmium akan mengalami hidrolisis, teradsorpsi oleh padatan tersuspensi dan membentuk ikatan kompleks dengan bahan organik di perairan alami yang bersifat basa. Pada kadar 0.01-0.1 mg/l  $\text{CdCl}_2$  dapat mereduksi ATP, klorofil dan mengurangi konsumsi  $\text{O}_2$  oleh fitoplankton (Sanusi, 2006).

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).

Toksisitas kadmium meningkat dengan menurunnya kadar oksigen dan kesadahan, serta meningkatnya pH dan suhu. Sedangkan toksisitas kadmium akan turun pada salinitas dengan kondisi isotonis dengan cairan tubuh hewan bersangkutan. Laws (1993), menyatakan bahwa sifat racun Cd terhadap ikan yang hidup dalam air laut berkisar antara 10-100 kali lebih rendah dari pada dalam air tawar yang memiliki tingkat kesadahan lebih rendah.

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).

### 2.2.3 Merkuri (Hg)

Merkuri merupakan logam berat bernomor atom 80 dengan berat atom 200,59, titik didih 356.9°C dan massa jenis 13.6 gr/ml (Reilly, 1991). 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).

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).

### 2.2.4 Mekanisme Penyerapan Logam di Tiram

Menurut Darmono (2001), logam masuk ke dalam jaringan tubuh makhluk hidup melalui beberapa jalan, yaitu melalui saluran pernafasan, pencernaan dan penetrasi melalui kulit. Absorpsi logam melalui saluran pernafasan biasanya cukup besar, baik pada hewan air yang masuk melalui insang maupun hewan

darat yang masuk melalui debu di udara ke saluran pernafasan. Absorpsi melalui saluran pencernaan hanya beberapa persen saja tetapi jumlah logam yang masuk melalui saluran pencernaan biasanya cukup besar walaupun absorpsinya relatif kecil. Dalam tubuh hewan, logam diabsorpsi oleh darah, berikatan dengan protein darah yang kemudian didistribusikan ke seluruh jaringan tubuh. Akumulasi logam yang tertinggi biasanya dalam organ detoksifikasi (hati) dan ekskresi (ginjal). Di dalam kedua jaringan tersebut biasanya logam juga berkaitan dengan berbagai jenis protein enzim maupun protein lain yang disebut metaloenzim (Connel dan Miller, 2006).

Proses penyaringan pada bivalvia masuk melalui sifon inkuren dan tersaring di insang. Penyusun utama lapisan membran insang adalah epitel pipih selapis dan berhubungan langsung dengan sistem pembuluh, dan diduga logam berat yang masuk bersamaan dengan partikel makanan mengalami difusi melalui membran insang dan terbawa aliran darah (Barnes, 1968).

Insang bivalvia, termasuk *P. viridis* mempunyai mucus atau lendir yang penyusun utamanya adalah glikoprotein. Sehingga diduga logam tersebut terikat menjadi metallothienin karena penyusun utamanya adalah sistein yaitu protein yang tergolong dalam gugus sulfidril (-SH) yang mampu mengikat logam. Oleh karena sifat mucus insang yang mengalami regenerasi, maka logam berat (termasuk kadmium) yang telah terikat pada mucus insang turut terlepas dari tubuhnya (Overnell dan Sparla, 1990).

Masih terkait dengan mekanisme filter-feeder, aliran air laut akan berlanjut menuju ke labial palp dimana pada bagian tersebut akan melalui beberapa proses penyaringan dengan cilia-cilia. Partikel yang berukuran kecil akan lolos, sementara yang berukuran besar akan dikeluarkan kembali melalui sifon-inkuren dalam bentuk pseudofeces (Pechenik, 2000 dalam Abdulgani 2010).

### 2.3 Metallothionein

Metallothioneins (MTs) telah banyak dipertimbangkan untuk digunakan sebagai biomarker tertentu karena potensi MT mencerminkan keberadaan logam berat polusi. Induksi dari MT meningkat setelah paparan logam berat dalam organisme (Wu dan Chen, 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).

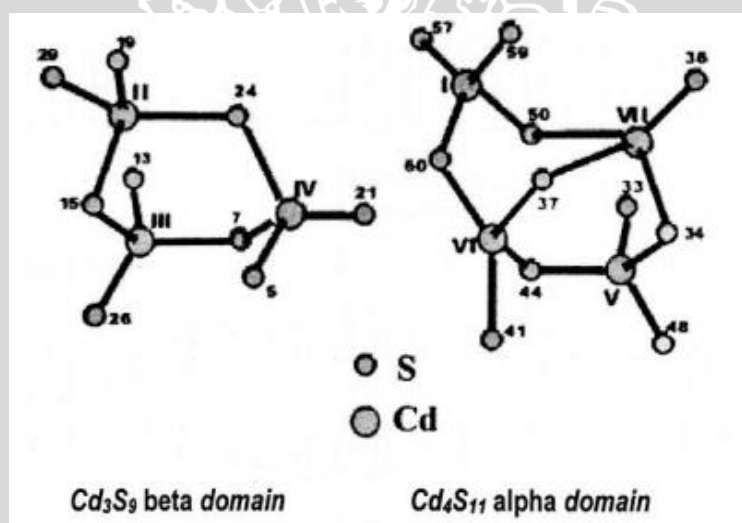
Metallothionein (MT) merupakan peptida dengan berat molekul yang rendah dengan konten sistein tinggi. Dalam invertebrata air, MT berperan penting dalam detoksifikasi logam dan sering disebut sebagai biomarker yang berguna untuk logam beracun (Desouky, 2012). Tiram diakui memiliki kapasitas konsentrasi penyerapan logam berat yang terdapat pada lingkungan perairan. Logam berat yang dihasilkan berkaitan dengan keberadaan detoksifikasi yang efektif yang melibatkan mekanisme perangkap untuk logam berat yang masuk dengan ligan spesifik dalam sitosol. Metallothionein merupakan protein dengan molekul rendah, sistein protein yang tinggi berperan untuk mengikat logam (Couillard *et al.*, 1993).

### 2.4 Pengikatan Logam Berat oleh Metallothionein

Metallothionein terdiri dari protein (polipeptida) yang mempunyai massa molekul yang kecil (6-7 kDa), dan sifat utamanya adalah mengandung 26-33% 'cysteine' serta tidak mempunyai asam amino aromatik atau histidin. Sebagai

konsekuensi dari banyaknya kandungan asam amino 'cysteine' maka protein ini mengandung kelompok 'thiol' (sulfhydryl, -SH) dalam jumlah yang besar. Kelompok ini mengikat logam-logam berat sangat kuat, khususnya merkuri (Hg), kadmium (Cd), perak (Ag), seng (Zn) dan tin. Redisu sulfhydryl dari 'cysteine' mampu mengikat logam, di mana 1 atom logam (misalnya: Cd, Zn atau Hg) untuk 3 residu -SH, atau 1 atom logam 2 residu -SH (Lasut, 2002).

Metallothionein menunjukkan peranan dalam detoksifikasi logam berat  $Hg^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ , metabolisme ion  $Zn^{+2}$  dan  $Cu^{+2}$ , detoksifikasi oksigen reaktif, dan *metabolisme metalodrugs* dan *alkylating agents*. Pada manusia dan mamalia, MTs mengikat 7 ion  $Zn^{+2}$  atau  $Cd^{+2}$  s melalui 20 residu sistein, yang terdistribusi dalam 2 klaster bebas dan sangat dinamik,  $Cd_4(Stb)_{11}$  dan  $Cd_3(Stb)_9$ , terletak pada domain alpha- and beta- protein (Nugroho, 2004).



**Gambar 3.** Metallothionein yang mengikat Cd

## 2.5 Pengamatan Metallothionein dengan Metode ELISA

ELISA adalah tes serologis yang umumnya dilakukan dalam berbagai bentuk pada tipe antigen dan reagen yang digunakan pada saat melakukan tes. Teknik tes ELISA hanya dapat mendeteksi antibodi spesifik genus dan tidak dapat digunakan untuk mengidentifikasi serogrup atau serovar. Prinsip teknik

ELISA secara umum adalah antibodi yang terdapat didalam serum dimasukkan kedalam anti gen yang sudah difiksasi pada penyangga padat (plat mikrotiter), yang kemudian dilakukan inkubasi selama waktu tertentu, dan dicuci untuk menghilangkan antibodi yang berlebihan. Selanjutnya ditambahkan anti bodi anti-spesies yang dikonjugasi dengan enzim (Setiawan, 2007).

Prinsip dasar teknik elisa ini secara sederhana dapat dijabarkan sebagai berikut. Pertama antigen atau antibodi yang hendak diuji ditempelkan pada suatu permukaan yang berupa microtiter. Penempelan tersebut dapat dilakukan melalui dua cara, yaitu penempelan secara non spesifik dengan adsorpsi ke permukaan microtiter dan penempelan secara spesifik dengan menggunakan antigen atau antibodi lain yang bersifat spesifik dengan antigen atau antibodi yang diuji (cara ini digunakan pada teknik ELISA sandwich). Selanjutnya antibodi atau antigen spesifik yang telah ditautkan dengan suatu enzim (d disesuaikan dengan sampel bila sampel berupa antigen, maka digunakan antibodi spesifik; sedangkan bila sampel berupa antibodi, maka digunakan antigen spesifik) dicampurkan ke atas permukaan tersebut, sehingga dapat terjadi interaksi antara antibodi dengan antigen yang bersesuaian. Kemudian ke atas permukaan tersebut dicampurkan suatu substrat yang dapat bereaksi dengan enzim. Pada saat substrat tersebut dicampurkan ke permukaan, enzim yang bertaut dengan antibodi atau antigen spesifik yang berinteraksi dengan antibodi atau antigen sampel akan bereaksi dengan substrat dan menimbulkan suatu signal yang dapat dideteksi (Sugiono *et al.*, 2010).

## **2.6 Kondisi Fisika dan Kimia Air**

### **2.6.1 Suhu**

Barus (1996), menyatakan bahwa kelarutan berbagai jenis gas di air serta semua aktivitas biologis-fisiologis di dalam ekosistem akuatik sangat dipengaruhi oleh suhu. Menurut hukum Van't Hoff kenaikan suhu sebesar 10°C (hanya pada

kisaran suhu yang masih dapat ditolelir) akan meningkatkan aktifitas biologis (misalnya respirasi) pada organisme sebesar 2-3 kali lipat. Suhu perairan dipengaruhi oleh intensitas cahaya yang masuk kedalam air. Suhu selain berpengaruh terhadap berat jenis, viskositas dan densitas air, juga berpengaruh terhadap kelarutan gas dan unsur-unsur dalam air. Sedangkan perubahan suhu dalam kolom air akan menimbulkan arus secara vertikal (Subarijanti, 1994).

Suhu berpengaruh langsung terhadap tumbuhan dan hewan, Hutabarat dan Evans (1984), mengemukakan bahwa suhu merupakan *controlling factor* (faktor pengendali) bagi proses respirasi dan metabolisme biota akuatik yang berlanjut terhadap pertumbuhan dan proses fisiologi serta siklus reproduksinya. Setiap spesies menyesuaikan diri dengan suhu tertentu, tapi variasi suhu yang tiba-tiba dan terlalu kuat akan merugikan bagi kehidupan tiram. Tiram juga memerlukan air sumur dan kaya oksigen dalam makanan (plankton) (Mezei, 2010). Menurut Galtsoff (1964), tiram dapat hidup dari perairan dingin sampai perairan panas. Suhu yang diperlukan bervariasi tergantung tempat hidupnya karena tiram dapat hidup pada posisi  $64^{\circ}$  LU –  $44^{\circ}$  LS.

### 2.6.2 Derajat Keasaman (pH/Potential Hydrogen)

Nilai pH menyatakan konsentrasi ion hidrogen dalam suatu larutan, didefinisikan sebagai logaritma dari aktivitas ion hidrogen dan secara matematis dinyatakan sebagai  $\text{pH} = \log 1/\text{H}^+$ , dimana  $\text{H}^+$  adalah banyaknya ion hidrogen dalam mol per liter larutan. Kemampuan air untuk mengikat atau melepaskan sejumlah ion hidrogen akan menunjukkan apakah larutan tersebut bersifat asam atau basa (Barus, 2002).

Nilai pH menyatakan nilai konsentrasi ion Hidrogen dalam suatu larutan. Dalam air yang bersih jumlah konsentrasi ion  $\text{H}^+$  dan  $\text{OH}^-$  berada dalam keseimbangan sehingga air yang bersih akan bereaksi netral. Organisme akuatik



dapat hidup dalam suatu perairan yang mempunyai nilai pH netral dengan nilai kisaran toleransi antara asam lemah dan basa lemah. pH yang ideal bagi kehidupan organisme akuatik umumnya berkisar antara 7-8,5. Kondisi perairan yang sangat asam maupun sangat basa akan membahayakan kelangsungan hidup organisme karena akan menyebabkan mobilitas berbagai senyawa logam yang bersifat toksik (Barus, 2004).

Nilai pH berpengaruh terhadap toksisitas suatu senyawa kimia. Toksisitas logam berat memperlihatkan peningkatan pada pH rendah dan berkurang seiring dengan meningkatnya pH. Nilai pH berkaitan erat dengan karbondioksida dan alkalinitas. Pada  $pH < 5$ , alkalinitas dapat mencapai nol. Semakin tinggi nilai pH, semakin tinggi pula alkalinitas dan semakin rendah kadar karbondioksida bebas. Sebagian besar biota akuatik sensitif terhadap perubahan pH dan menyukai nilai pH 7 – 8,5. Nilai pH sangat mempengaruhi proses biokimiawi perairan. Toksisitas logam dapat memperlihatkan peningkatan pH rendah (Effendi, 2003).

### **2.6.3 Oksigen Terlarut (DO/*Dissolved Oxygen*)**

Oksigen terlarut merupakan parameter yang paling mendasar dari sungai, danau, tambak, laut dan perairan lainnya. Oksigen penting untuk metabolisme semua organisme air aerobik. Kelarutan dan terutama dinamika distribusi oksigen di perairan laut merupakan dasar bagi pemahaman tentang distribusi, perilaku, dan pertumbuhan organisme akuatik. Mekanisme yang mengontrol konsentrasi oksigen terlarut sangat penting dalam menentukan ketersediaan oksigen pada biota laut. Hasil distribusi oksigen sangat mempengaruhi kelarutan nutrisi anorganik. Ketersediaan hara dipengaruhi oleh perubahan musiman dari aerobik untuk lingkungan anaerobik di daerah perairan. Perubahan dalam distribusi nutrisi mengakibatkan pertumbuhan yang cepat dari banyak organisme yang mampu mengambil keuntungan dari ketersediaan hara (Wetzel, 1983).

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

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). Adanya logam berat dalam tubuh organisme akan mengganggu sintesis Hb, Hb ini berfungsi untuk mengikat oksigen, jika sintesis Hb dihambat maka kemampuan untuk mengikat oksigen juga semakin kecil, oksigen dibutuhkan tubuh untuk metabolisme (Yulaipi *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 yang mungkin 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 Bahan Organik (TOM/Total Organic Matter)

*Total organic matter* (TOM) dalam suatu perairan mengandung bahan organik terlarut, tersuspensi (partikulat) dan koloid yang semuanya terakumulasi dalam bahan organik total. Prinsip analisa TOM didasarkan pada semua bahan organik dapat dioksidasi dengan menggunakan senyawa  $\text{KMnO}_4$  (Hariyadi *et al.*, 1992). Effendi (2003), menambahkan bahwa kalium permanganat ( $\text{KMnO}_4$ ) merupakan oksidator dalam penentuan konsumsi oksigen untuk mengoksidasi bahan organik atau yang sering disebut sebagai parameter nilai permanganat atau *total organic matter* (TOM).

Susana (2009), menjelaskan tingginya bahan organik yang terdapat dalam TOM dapat menyebabkan konsentrasi oksigen terlarut dalam perairan menjadi rendah. Hal ini dikarenakan tingginya persentase bahan organik menunjukkan terjadinya proses oksidasi yang dalam reaksinya menggunakan sejumlah besar oksigen dan menghasilkan nitrogen ammonia, sehingga mengurangi kadar oksigen terlarut di dalam perairan.

### 3. MATERI DAN METODE

#### 3.1 Materi Penelitian

Materi dalam penelitian ini adalah ukuran tiram, kadar metallothionein pada insang tiram *C. cucullata*, kandungan logam berat Pb, Cd, Hg yang terdapat pada air laut dan insang tiram *C. cucullata* serta parameter kualitas air yang meliputi suhu, derajat keasaman (pH/*potential Hydrogen*), salinitas, oksigen terlarut (DO/*Dissolved Oxygen*), dan bahan organik total (TOM/*Total Organic Matter*) di perairan Pantai Prenduan, Sumenep, Madura.

#### 3.2 Alat dan Bahan

Pengukuran parameter fisika dilakukan secara langsung dan pengambilan sampel air dilakukan di waktu yang sama dengan pengambilan sampel tiram. Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian dapat dilihat pada Lampiran 1.

#### 3.3 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode survey yang dijelaskan secara deskriptif dengan menggambarkan keadaan lokasi penelitian secara nyata sesuai dengan yang ada di lapang dan dibuktikan melalui analisa data. Metode survey adalah penelitian yang dilakukan pada populasi besar maupun kecil, tetapi data yang dipelajari adalah data dari sampel yang diambil dari populasi tersebut. Metode ini bertujuan untuk menggambarkan secara sistematis, aktual dan akurat mengenai fakta-fakta dan sifat-sifat dari populasi tertentu, data dikumpulkan sesuai tujuan dan secara rasional kesimpulan diambil dari data-data tersebut. Secara umum metode survey terdiri atas 2 jenis, yaitu deskriptif dan eksplanatif. (Suryabrata, 1989; Koentjaraningrat, 1983; Panji, 2011).

Menurut Sasmaya (2011), metode survey deskriptif merupakan metode untuk memperoleh data yang ada saat penelitian dilakukan dan bertujuan untuk menjelaskan pembahasan dari permasalahan dalam penelitian. Zulnaidi (2007) menambahkan bahwa metode deskriptif dapat diartikan sebagai prosedur pemecahan masalah yang diselidiki dengan menggambarkan atau melukiskan keadaan subyek atau obyek penelitian (seseorang, lembaga, masyarakat dan lain-lain) pada saat sekarang berdasarkan fakta-fakta yang tampak atau sebagaimana adanya.

Data adalah informasi atau keterangan mengenai suatu hal yang berkaitan dengan tujuan penelitian. Dalam kegiatan praktek kerja lapang ini, data yang dikumpulkan meliputi :

**a) Data Primer**

Menurut Mulyanto (2008), data primer adalah data yang didapat dari sumber pertama. Pengumpulan data primer dapat dilakukan dengan cara survey dan percobaan. Adapun teknik pengambilan data primer ini dengan cara wawancara dan observasi. Data primer yang diambil dalam penelitian Skripsi ini meliputi mengamati kandungan metallothionein pada insang tiram *Crassostrea cucullata* dari beberapa plot di setiap stasiun yang berbeda kemudian dibedah, diambil lambung tiram dan dilakukan pengamatan dengan metode ELISA untuk mengetahui kandungan metallothionein, kemudian mengamati kadar Hg, Pb dan Cd yang ada di dalam tubuh tiram, parameter kualitas air antara lain parameter fisika yaitu suhu dan salinitas, parameter kimia yang digunakan adalah oksigen terlarut (DO), pH, TOM serta kandungan Pb, Cd, Hg dalam air yang didapat dengan melakukan observasi. Wawancara dilakukan dengan mewawancarai masyarakat sekitar pesisir pantai Prenduan Sumenep.

## b) Data Sekunder

Menurut Mulyanto (2008), data sekunder yang diperoleh dari pihak lain (telah diolah) dan disajikan baik oleh pengumpul maupun pihak lain. Data sekunder ini diperlukan untuk mendukung data primer. Data sekunder dalam penelitian ini didapatkan dari laporan, jurnal, majalah, laporan PKL/Skripsi, situs internet serta kepustakaan yang menunjang dari penelitian ini.

### 3.4 Penentuan Stasiun

Pengambilan sampel tiram dilakukan di 3 stasiun, yaitu stasiun 1 berlokasi di daerah mangrove (gambar 1), stasiun 2 berlokasi di daerah pemukiman penduduk dan tempat pembuangan limbah domestik (gambar 2), stasiun 3 berlokasi di daerah peternakan (gambar 3). Dalam 1 stasiun terdapat 3 plot yang ditentukan secara vertikal dari darat ke laut dengan perbedaan jarak antara plot satu dan lain sejauh 3 meter. Kemudian, 1 plot berisi 3 sampel biota *Crassostrea cucullata* yang akan di teliti kandungan Metallothioneinnya.

### 3.5 Metode Analisa Kualitas Air

Parameter kualitas air yang diukur meliputi suhu, pH, salinitas, oksigen terlarut (DO), bahan organik total (TOM), dan pengukuran kadar Pb, Cd dan Hg perairan. Tujuan dari analisis kualitas air yaitu untuk mengetahui kondisi lingkungan perairan tempat hidup tiram.

#### 3.5.1 Suhu

Menurut Wibisono (2010), pengukuran suhu menggunakan thermometer Hg dengan prosedur sebagai berikut :

1. Mencelupkan termometer Hg ke perairan, diamkan selama 3 menit
2. Membaca skala pada termometer ketika masih di dalam air
3. Mencatat hasil pengukuran dalam skala °C

### 3.5.2 pH (*potential Hydrogen*)

Prosedur pengukuran pH menurut Hariyadi *et al.*, (1992) adalah sebagai berikut:

1. Mencelupkan pH paper ke dalam water sampler yang telah berisi sample air.
2. Mendinginkan selama kurang lebih 2 menit.
3. Mengangkat dan mengibaskan sampai setengah kering.
4. Mencocokkan dengan skala 1-14 yang tertera pada kotak pH.

Mencatat hasil pengukurannya.

### 3.5.3 Salinitas

Menurut Wibisono (2010), pengukuran salinitas dengan menggunakan refraktometer sebagai berikut :

1. Menyiapkan refraktometer
2. Mengambil air dari perairan dan dimasukkan ke dalam botol
3. Membuka penutup kaca prisma
4. Mengkalibrasi dengan aquades
5. Meneteskan 1-2 tetes air yang akan diukur salinitasnya
6. Menutup kembali kaca prisma dengan hati-hati agar tidak terjadi gelembung udara dipermukaan kaca prisma
7. Mengarahkan ke sumber cahaya
8. Dilihat nilai salinitasnya pada skala sebelah kanan.

### 3.5.4 Oksigen Terlarut (*DO/Dissolved Oxygen*)

Menurut Wibisono (2010), pengukuran oksigen terlarut dilakukan dengan cara sebagai berikut :

1. Mengukur dan dicatat volume botol DO yang akan digunakan

2. Memasukkan botol DO ke dalam air yang akan diukur oksigennya secara perlahan-lahan dengan posisi miring dan usahakan jangan sampai terjadi gelembung udara. Bila botol telah penuh ditutup diperairan.
3. Membuka botol yang berisi sampel, tambahkan 2 ml MnSO<sub>4</sub> dan 2 ml NaOH + KI lalu bolak-balik sampai terjadi endapan coklat. Diendapkan dan dibiarkan selama beberapa menit
4. Membuang air yang bening diatas endapan dan endapan yang tersisa ditambahkan 2 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat.
5. Homogenkan sampai endapan larut
6. Memberi 3-4 tetes amylum, titrasi dengan Na-thiosulfat 0,025 N sampai tidak berwarna pertama kali
7. Mencatat ml Na-thiosulfat yang terpakai (titran)
8. Perhitungan DO

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

### 3.5.5 TOM (TOM/ Total Organic Matter)

Prosedur pengukuran TOM (*Total Organic Matter*) menurut Hariyadi *et al.*, (1992) adalah sebagai berikut:

1. Memasukkan 25 ml air sampel ke dalam erlenmeyer.
2. Menambahkan 4,75 ml KMnO<sub>4</sub> dari buret.
3. Menambahkan 5 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1:4).
4. Memanaskan di atas hot plate sampai suhu mencapai 70°C - 80°C kemudian diangkat.
5. Menambahkan Na-Oxalate 0,01 N perlahan sampai tidak berwarna pada suhu 60°C-70°C
6. Mentitrasi dengan KMnO<sub>4</sub>, sampai terbentuk warna (merah jambu/pink).  
Catat sebagai ml titran (x ml).



7. Melakukan prosedur (1 - 6) menggunakan aquadest dan mencatat titran yang digunakan sebagai (y dalam mL).
8. Menghitung kadar TOM dengan rumus :

$$\text{TOM (mg/L)} = \frac{(x-y) \times 31,6 \times 0,01 \times 1000}{\text{ml Air Sampel}}$$

Keterangan:

X = ml titran untuk air sampel

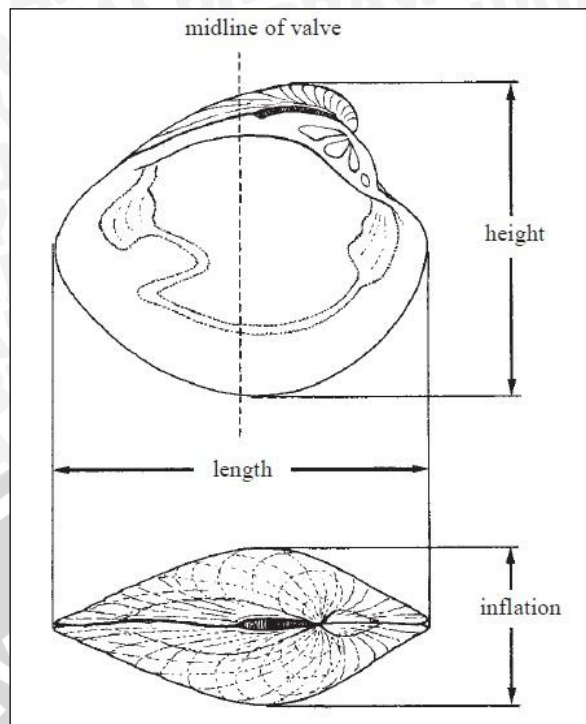
Y = ml titran untuk aquades (larutan blanko)

31.6 = 1/5 dari BM  $\text{KMnO}_4$  (1mol  $\text{KMnO}_4$  melepaskan 5 oksigen dalam reaksi ini)

0,01 = Normalitas  $\text{KMnO}_4$

### 3.6 Prosedur Pengukuran Ukuran Tiram

Prosedur yang dilakukan untuk mengukur panjang, lebar dan tinggi tiram yaitu disiapkan jangka sorong yang digunakan untuk mengukur panjang, lebar serta tinggi tiram (Gambar 6). 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 dijadikan acuan dalam pengukuran panjang, tinggi dan lebar tiram pada penelitian ini adalah sebagai berikut:



Gambar 4. Bagian-bagian sisi cangkang bivalvia FAO (1998)

### 3.7 Pengujian Kadar Logam Berat Pb, Cd dan Hg pada Air dan Insang Tiram *C. cucullata*

Menurut Widiati (2011), penentuan logam berat Pb, Cd dan Hg pada perairan maupun insang tiram diukur menggunakan metode *Atomic Absorbtion Spectrophotometer* (AAS) yaitu :

1. Menimbang masing-masing sampel padat  $\pm 0,5$  gram dengan timbangan Sartorius untuk mendapatkan berat basah. Mengoven sampai padat pada suhu  $\pm 105$  °C selama 1 jam sampai mendapat berat konstan.
2. Menimbang berat konstan dengan timbangan Sartorius sebagai berat kering.
3. Memasukkan sampel yang sudah kering ke dalam beaker glass 100 ml.
4. Menambahkan HNO<sub>3</sub> dengan perbandingan 1 : 1 (HNO<sub>3</sub> : HCL) sebanyak  $\pm 10-15$  ml. Lalu dipanaskan di atas hot plate di dalam kamar asam sampai  $\pm 3$  ml. Kemudian menyaring dengan kertas saring ke dalam labu ukur 50 ml.

5. Mengulang proses penyaringan sampai tanda batas labu ukur dengan terlebih dahulu menambahkan 15 ml aquades ke dalam beaker glass tempat sampel.
6. Menganalisis menggunakan mesin *Atomic Absorption Spectrophotometer* (AAS) sampai dengan panjang gelombang 263,3 nm.
7. Menyiapkan larutan standar kemudian dianalisis larutan standar dengan mesin AAS dan mencatat nilai standarnya 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.

Untuk sampel air, diukur sebanyak 50 ml lalu dimasukkan kedalam erlenmeyer (100 ml) dan ditambahkan 5 ml aquageria. Kemudian dipanaskan di atas *hotplate* sampai sat lalu didinginkan. Kemudian ditambahkan 10 ml HNO<sub>3</sub> 2,5 N lalu dipanaskan hingga mendidih. Setelah itu, sampel didinginkan lalu disaring sebanyak 50 ml ke dalam labu ukur dan ditambahkan aquadest sampai tanda batas, lalu dihomogenkan. Kemudian sampel air diukur menggunakan AAS dengan memakai lampu katoda Pb, Cd, Hg hingga didapatkan hasil.

### **3.8 Prosedur Pengujian Kadar Metallothionein pada Insang Tiram**

Menurut Ana dan Garcia (2006), tahapan yang dilakukan untuk menentukan kadar MT secara kuantitatif adalah sebagai berikut :

1. Tahap Pengambilan Sampel (Ana dan Garcia, 2006)
  - Sampel organ lambung tiram diambil sebanyak 0,5 gram dan dicuci dengan PBS sebanyak tiga kali
  - Memasukkan sampel ke dalam kantong plastic dengan diberi es batu (maksimum 4 jam untuk proses homogenasi)

- Bila sampel akan dihomogenasikan lebih dari 4 jam maka sampel harus segera dibekukan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$ .

## 2. Tahap Homogenasi (Ana dan Garcia, 2006)

- Menggerus jaringan dalam mortal yang sudah didinginkan dan menambahkan 3 ml buffer homogenisasi (0,5 M sukrosa, 20 mM Tri-HCL buffer, pH 8,6, mengandung 0,01 %  $\beta$ -mercaptoethanol) dalam plastic atau tabung kaca.
- Menghomogenasi jaringan dengan menggunakan homogenizer jaringan.
- Menambahkan kedalam homogenate dengan Aliquot (larutan induk) (3 ml).
- Sebagai kontrol, jumlah yang diketahui dari standar metallothionein untuk mengkalibrasi hasil sampel yang diperoleh. Aliquot dapat disimpan pada  $-20^{\circ}\text{C}$ .
- Percobaan dapat berhenti di langkah ini.

## 3. Tahap Ekstraksi (Ana dan Garcia, 2006)

- Mensentrifugasi homogenate di  $30.000 \times g$  selama 20 menit untuk mendapatkan supernatant yang mengandung metallothionein.
- Menambahkan 1,05 ml etanol absolute dingin ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) dan 80 ml kloroform per 1 ml supernatan yang dihasilkan.
- Mensentrifugasi sampel dingin (pada  $0 - 4^{\circ}\text{C}$ ) pada  $6000 \times g$  selama 10 menit.
- Menambahkan 3 ml etanol dingin pada supernatant yang dihasilkan dan menyimpan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  selama 1 jam
- Langkah analisis bisa berhenti saat ini.

## 4. Tahap Pemurnian dan Kuantifikasi Metallothionein (Ana dan Garcia, 2006)

- Mensentrifugasi supernatant pada  $6000 \times g$  selama 10 menit

- Mencuci pellet yang dihasilkan dengan etanol : kloroform : homogenisasi penyangga (87 : 1 : 12)
  - Mensentrifugasi lagi pada 6000 x g selama 10 menit
  - Mengeringkan di bawah aliran gas nitrogen untuk menyelesaikan penguapan
  - Resuspended pellet kering dalam 300 ml dari 5 mM Tris-HCL, 1 mM EDTA, pH 7
  - Mensuspensikan fraksi metallothionein menjadi 4,2 ml 0,43 mM 5,5 dithiobis (asam nitrobenzoic) dalam buffer fosfat 0,2 M, pH 8
  - Mendinginkan selama 30 menit pada suhu kamar untuk mengurangi konsentrasi sulfhidril
  - Membaca absorbansi pada 412 nm dalam spektrofotometer
  - Mencatat hasilnya.
5. Tahap Estimasi dengan metode ELISA (Suwarno *et al.*, 2010)
- Pembuatan denah plate ELISA dan coating buffer. Denah dibuat berdasarkan kode sampel. Coating buffer dibuat fresh.
  - Coating antigen dengan kadar antigen yang digunakan adalah (1 : 40) diencerkan dengan coating buffer dan diinkubasi dengan suhu 4°C semalam
  - Keesokan harinya plate dicuci menggunakan larutan PBS Tween 0,2 % sebanyak 100 µl dan diulang 6 kali
  - Tambahkan 100 µl antibody primer anti MTT (1 : 400) dalam assay buffer
  - Plate Elisa diinkubasi pada suhu ruang selama 2 jam sambil dishaker dengan shaker Elisa plate.
  - Pencucian dengan PBS Tween 0,2 % sebanyak 200 µl dan diulang 6 kali

- Tambahkan 100  $\mu$ l antibody sekunder ICG biotin anti rabbit (1 : 800) dalam assay buffer lalu inkubasi pada suhu ruang selama 1 jam sambil dishaker
- Dicuci dengan OBS Tween 0,2 % dan diulang 6 kali
- Tambahkan 100  $\mu$ l larutan SAHRP (1 : 800) dalam assay buffer lalu inkubasi pada suhu ruang selama 1 jam sambil dishaker
- Dicuci dengan PBS Tween 0,2 % sebanyak 200  $\mu$ l dan diulang 6 kali
- Tambahkan 100  $\mu$ l masing-masing well substrat sure blue TMB microwell lalu inkubasi 20 – 30 menit pada ruang gelap. Jika terjadi reaksi antara antigen dengan antibody maka akan berubah menjadi biru
- Tambahkan 100  $\mu$ l HCL 1 N sebagai stop reaksi. Pada tahap ini larutan warna biru berubah menjadi kuning
- Dibaca dengan ELISA reader dengan panjang gelombang 450 nm. Hasil absorbansi dikonversi dengan kurva standart dan diketahui nilai MT.

### 3.9 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. Model regresi ini digunakan untuk mengetahui hubungan ukuran tiram yang merupakan variabel bebas ( $X_1$ ) dan kadar logam berat Pb, Cd dan Hg yang merupakan variabel bebas ( $X_2$ ) terhadap kadar metallothionein yang merupakan variabel terikat (Y) pada insang tiram *Crassostrea cucullata* dari Perairan Pantai Prenduan, Madura. Persamaan model regresi linier berganda menurut Walpole (1995) yaitu:

$$Y = a + b_1X_1 + b_2X_2$$

Keterangan:

Y : Variabel terikat (kadar metallothionein (MT) pada insang tiram *C. cucullata*

*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 (ukuran tiram)

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

*cucullata*



## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Gambaran Umum Perairan Pantai Prenduan

Kabupaten Sumenep terletak diujung Timur Pulau Madura, yang secara Geografis terletak antara  $113^{\circ} 32' 54''$  -  $116^{\circ} 16' 48''$  BT dan  $4^{\circ} 55'$  -  $7^{\circ} 24'$  LS. Luas daerah Kabupaten Sumenep adalah  $1998,54 \text{ km}^2$  merupakan 4,2% dari luas Propinsi Jawa Timur. Secara fisik luas Kabupaten Sumenep terbagi menjadi 2 bagian yaitu Bagian Daratan dengan luas  $1.146.927.065 \text{ km}^2$  (54,79 %). Bagian Kepulauan dengan luas  $946.530.508 \text{ km}^2$  (45,21 %).

Luas perairan laut Kabupaten Sumenep  $\pm 50.000 \text{ km}^2$ , dengan potensi sumberdaya ikan diperkirakan sebesar 229.000 ton/tahun. Sedangkan untuk Luas Mangrove sebesar 11.844,80 Ha. Jumlah kecamatan pesisir yang dimiliki oleh Kabupaten Sumenep sebanyak 20 kecamatan salah satunya ialah kecamatan Peragaan.

Desa Prenduan termasuk dalam wilayah Kecamatan Peragaan. Berbatasan dengan desa Pragaan Lao'di sebelah Barat, Desa Aeng Panas di sebelah Timur, dan Kecamatan Guluk-guluk di sebelah Utara. Sedangkan di sebelah selatan berbatasan dengan Selat Madura. 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 Pesisir terletak di bagian Selatan. Lahannya landai berpasir dan langsung berhubungan dengan selat Madura. Daerah ini sangat padat. Sejak jaman dahulu daerah ini sudah menjadi daerah yang sangat penting. Di tepian pantai banyak berjejer perahu nelayan yang umumnya milik para nelayan yang tinggal di daerah ini.



## 4.2 Deskripsi Stasiun Pengamatan

### 4.2.1 Stasiun 1

Stasiun 1 terletak pada area hutan mangrove. Dimana banyak ditemui pohon-pohon mangrove yang memiliki peran penting di dalam ekologi perairan pantai seperti pelindung pantai dan pelindung daerah pemukiman pesisir dari hantaman gelombang laut yang dapat mengakibatkan abrasi air laut. Hutan mangrove juga berfungsi sebagai tempat mencari makan dan tempat memijah, serta sebagai tempat perlindungan dan pertumbuhan organisme atau biota laut salah satunya tiram *Crassostrea cucullata*.

Tiram *Crassostrea cucullata* dapat dijumpai di semua batang dan akar-akar mangrove. Banyak perahu-perahu nelayan yang melintas di sekitar kawasan mangrove. Kawasan mangrove ini dekat dengan jalan raya yang menghasilkan emisi gas kendaraan bermotor yang dapat menambah kandungan logam berat di kawasan mangrove ini. Stasiun 1 dapat dilihat pada **Gambar 5**.



**Gambar 5.** Area Hutan Mangrove (Stasiun 1)

### 4.2.2 Stasiun 2

Stasiun 2 terletak di area perikanan pantai yaitu tempat berlabuhnya kapal atau perahu-perahu nelayan setelah mendaratkan hasil tangkapan ikan. Pada stasiun 2 selain aktivitas nelayan yang mendaratkan hasil tangkapan ikan,

banyak juga limbah dari pencucian hasil tangkapan ikan yang langsung dibuang ke laut menyebabkan stasiun ini terlihat kotor dan bau. Kawasan ini dekat dengan pemukiman penduduk serta digunakan sebagai tempat pembuangan sampah. Area ini merupakan area yang potensial tercemar logam berat karena aktivitas bongkar muat kapal seperti pengisian bahan bakar solar pada kapal dan pergantian oli yang dapat menghasilkan limbah logam berat berbahaya. Gas buangan kapal-kapal motor pada daerah ini juga dapat menambah kandungan logam berat pada area ini. Stasiun 2 dapat dilihat pada **Gambar 6**.



**Gambar 6.** Area Perikanan Pantai dan Pemukiman (Stasiun 2)

#### 4.2.3 Stasiun 3

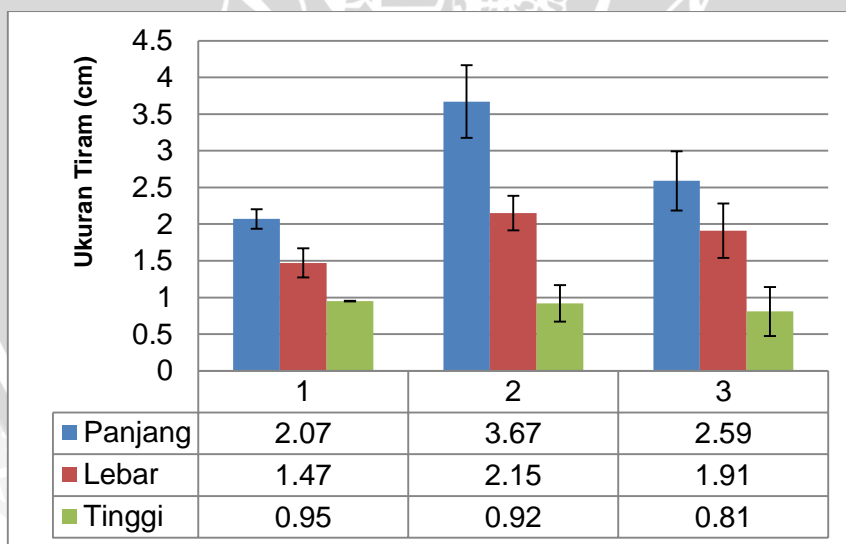
Stasiun 3 terletak pada area peternakan ayam yang diduga banyak mengandung bahan organik yang berasal dari buangan kotoran ayam yang berada di lokasi tersebut. Selain itu pada area ini terdapat masukan limbah sebagai hasil aktivitas rumah tangga serta terdapat banyak kapal nelayan setempat yang bersandar di dekat stasiun ini, dimana diduga berpotensi mengandung logam berat berbahaya. Kondisi dasar atau substrat di stasiun ini yaitu dominan lumpur. Stasiun 3 dapat dilihat pada **Gambar 7**.



Gambar 7. Area Peternakan Ayam (Stasiun 3)

#### 4.3 Sebaran Ukuran Sampel Tiram

Berdasarkan hasil pengukuran rata-rata panjang, lebar dan tinggi Tiram *Crassostrea cucullata* yang diambil dari 3 stasiun di dapatkan hasil yang berbeda-beda tiap stasiunya. Data tabel sebaran ukuran tiram *Crassostrea cucullata* disajikan pada lampiran 3. Sebagaimana ditunjukkan melalui grafik pada gambar 8 berikut :



Gambar 8. Grafik Rata-Rata Sebaran Ukuran Sampel Tiram (cm). Setiap Data Merupakan Rata-Rata Dari 3 Individu Setiap Stasiun.

Pada stasiun 1, didapat ukuran rata-rata panjang tiram *Crassostrea cucullata* sebesar 2,07 cm. Pada stasiun 2 didapat ukuran sebesar 3,67 cm dan

pada stasiun 3 di dapat ukuran sebesar 2,59 cm. Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui bahwa rata-rata ukuran tiram terbesar terdapat pada stasiun 2, hal ini dikarenakan jumlah bahan organik sebagai makanan tiram pada stasiun ini cukup tinggi yaitu sebesar 50,56 ppm, dimana ukuran tiram akan dipengaruhi oleh jumlah makanan yang tersedia di habitatnya. Hal ini sesuai dengan pendapat Beesley *et al.* (1988) dalam Setyono (2006) yang menyatakan bahwa makanan tiram yang hidup menempel pada substrat yaitu plankton maupun partikel-partikel lainnya yang berada dalam air.

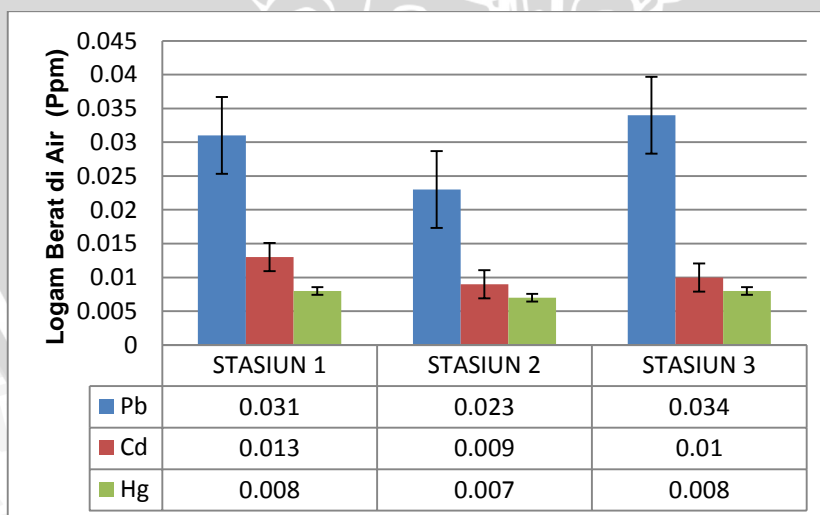
Menurut pendapat Amriani (2011), besar cangkang suatu spesies macrofauna benthik biasanya diidentikkan dengan umur spesies tersebut. Artinya semakin besar ukuran cangkang maka umur spesies tersebut juga diperkirakan lebih tinggi, sehingga waktu jedah dalam media akumulasi logam berat dari air media hidupnya telah berlangsung lebih lama dibandingkan kerang dengan ukuran cangkang kecil (umur lebih muda). Hal ini senada dengan pendapat Ramon and Richardson (1992), ukuran tiram sekaligus mempresentasikan umur dari tiram dan biasanya dapat dilihat dari ukuran cangkang sekaligus jumlah *blend* yang terdapat pada cangkang tiram tersebut.

Ukuran tiram juga dapat mempengaruhi akumulasi logam berat pada tubuh tiram. Apriadi (2005) dalam penelitiannya melaporkan bahwa terdapat peningkatan kadar logam berat pada tubuh kerang hijau dari ukuran kecil (< 4 cm) sampai dengan ukuran besar (> 6 cm), hal ini disebabkan karena kemampuan yang dimiliki kerang hijau untuk menyerap logam berat di lingkungan perairan tempat biota tersebut hidup. Semakin besar (makin tua) ukuran tiram maka kandungan logam berat yang masuk dalam tubuhnya juga akan semakin meningkat. Ukuran tiram juga akan mempengaruhi kadar metallothionein pada tiram.

Seperti yang telah diketahui bahwa ukuran tiram sekaligus menggambarkan umur tiram tersebut. Insani dan Carpene (2014) menyatakan bahwa salah satu faktor yang dapat mempengaruhi konsentrasi dari logam berat dan metallothionein dalam tubuh tiram adalah umur. Amiard *et al.* (2006) menyatakan bahwa metabolisme dan ukuran tiram sangat mempengaruhi kandungan metallothionein pada tiram tersebut, dimana semakin besar ukuran tiram maka kadar metallothionein juga semakin tinggi.

#### 4.4 Logam Berat Pb, Cd dan Hg pada Perairan

Kandungan logam berat Pb, Cd dan Hg rata – rata pada air laut baik pada stasiun 1, stasiun 2 maupun stasiun 3 menunjukkan hasil yang berbeda-beda. Hal ini dikarenakan adanya perbedaan bahan pencemar pada dua lokasi pengamatan tersebut. Data tabel kadar logam berat Pb, Cd dan Hg di air disajikan pada lampiran 3. Kandungan logam berat Pb, Cd dan Hg dapat dilihat pada gambar 9 sebagai berikut.



**Gambar 9.** Grafik Kadar Logam Berat Pb, Cd dan Hg di Air.

Grafik pada gambar 9 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 0,031 ppm, pada stasiun II sebesar 0,023 ppm dan pada stasiun III sebesar 0,034 ppm. Dari hasil tersebut dapat dilihat bahwa kadar Pb tertinggi terdapat pada stasiun III dan kadar Pb terendah terdapat pada stasiun II. Tingginya kadar Pb di stasiun III 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 telah melewati kisaran batas yang telah ditetapkan oleh Peraturan Pemerintah No. 82 Tahun 2001 yaitu sebesar 0,03 ppm. Namun jika dibandingkan dengan Kepmen LH No. 51 Tahun 2004, kadar logam berat Pb di perairan Prenduan telah melampaui batas yang diperbolehkan untuk kehidupan biota laut, yaitu sebesar 0,008 ppm.

Kadar logam berat Cd di perairan pantai Prenduan pada stasiun I sebesar 0,013 ppm, pada stasiun II sebesar 0,009 ppm dan pada stasiun III sebesar 0,01

ppm. Dari hasil tersebut dapat dilihat bahwa kadar Cd tertinggi terdapat pada stasiun I dan kadar Cd terendah terdapat pada stasiun II. Tingginya kadar Cd di stasiun I 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 I yang terdapat beberapa kapal yang sedang diperbaiki dan diperbarui catnya. Hal ini sesuai dengan pendapat Eckenfelder (1989) 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 telah melewati ambang batas yang diperbolehkan untuk kepentingan biota laut. Menurut Kementerian Negara Kependudukan dan Lingkungan Hidup No. 02 Tahun 1988, nilai ambang batas Cd untuk kepentingan biota laut tidak boleh lebih dari 0,01 ppm. Begitu pula jika dibandingkan dengan Kepmen LH No. 51 Tahun 2004 tentang baku mutu air laut untuk biota laut, nilai ambang batas Cd untuk kepentingan biota laut tidak boleh lebih dari 0,001 ppm.

Kadar logam berat Hg di perairan pantai Prenduan pada stasiun I sebesar 0,08 ppm, pada stasiun II sebesar 0,07 ppm dan pada stasiun III sebesar 0,08 ppm. Dari hasil tersebut dapat dilihat bahwa kadar Cd pada stasiun II lebih kecil daripada stasiun I 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 pengisian bahan bakar, 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.

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 Cd 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, Cd dan 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. Berdasarkan hasil pengukuran sampel tiram, dapat diketahui bahwa ukuran rata-rata panjang tiram *Crassostrea cucullata* terbesar didapat pada stasiun 2 yaitu sebesar 3,67 cm. Sedangkan rata-rata kadar logam berat Pb terendah di dapatkan pada stasiun 2, hal ini dimungkinkan karena kadar logam berat dalam air selalu berubah-ubah tergantung pada saat pembuangan limbah, tingkat kesempurnaan pengelolaan limbah dan musim (Fardiaz, 1992).

Berdasarkan hasil pengukuran hasil analisis menunjukkan bahwa timbal (Pb) memiliki kadar yang paling tinggi dibandingkan dengan logam berat Cd maupun Hg di semua stasiun dengan kadar tertinggi pada stasiun 3, hal ini diduga disebabkan oleh 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.

Masuknya logam Pb ke dalam perairan melalui proses pengendapan yang berasal dari aktivitas di darat seperti industri, rumah tangga dan erosi, jatuhnya partikel-partikel dari sisa proses pembakaran yang mengandung tetraetil Pb, air buangan dari pertambangan bijih timah hitam dan buangan sisa industri baterai (Palar, 1994). Siaka (2008), juga mengungkapkan penggunaan kapal motor penangkap ikan juga menggunakan cat anti korosi yang pada umumnya mengandung Pb.

Logam berat Cd merupakan logam berat kedua dengan kisaran kadar tertinggi setelah Pb, dimana kadar tertinggi ditemukan di stasiun 1. Hal ini diduga disebabkan oleh limbah pengecatan kapal nelayan yang digunakan untuk perawatan kapal dari korosif. selain itu banyak terdapat aktivitas nelayan yang melakukan pengisian bahan bakar dan pergantian oli pada kapal motor mereka

sehingga dapat menghasilkan limbah logam berat Cd. Menurut Rumahlatu (2012), secara alami kadmium merupakan unsur utama fosfat bebatuan dan terdeposit dalam lapisan bumi. Selain merupakan komponen utama dari lapisan kulit bumi, sumber utama kadmium lainnya adalah industri panas bumi, industri bahan bangunan, areal pertambangan, industri logam. Darmono (1995), kadmium terakumulasi dalam air akibat masukan limbah yang berasal dari kegiatan elektroplating (pelapisan emas dan perak), pengerjaan baha-bahan dengan menggunakan pigmen atau zat warna lainnya dalam industri plastik, tekstil, dan industri kimia.

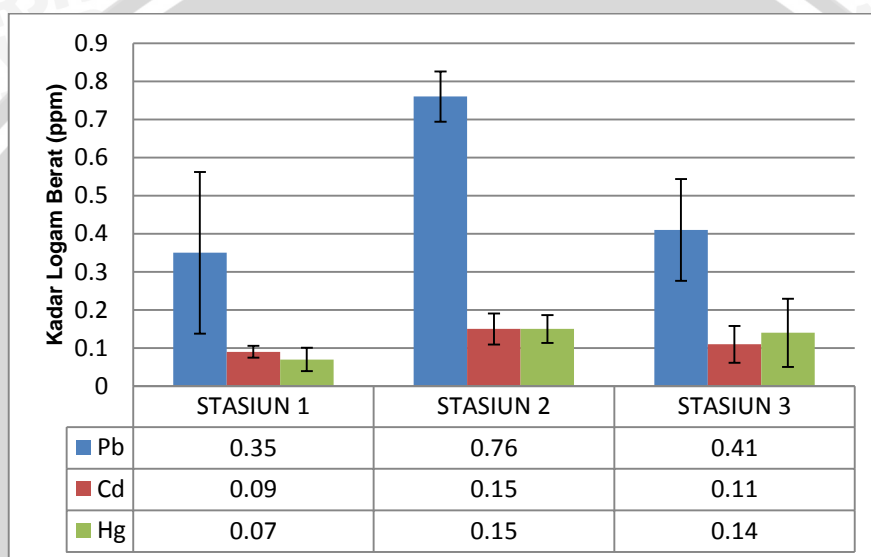
Kadar logam berat di semua stasiun hampir sama dan sudah melebihi ambang batas yang ditentukan. Tingginya kadar logam berat Hg di 3 stasiun ini diduga disebabkan oleh aktifitas perkapalan dalam jumlah yang banyak dan hampir tidak pernah berhenti. Akitifitas perkapalan yang dimaksud meliputi aktivitas mesin kapal, juga perbaikan kapal seperti pengecatan.

Merkuri dalam perairan dapat berasal dari buangan limbah industri kelistrikan dan elektronik, baterai, pabrik bahan peledak, fotografi, pelapisan cermin, pelengkap pengukur, industri bahan pengawet, pestisida, industri kimia, petrokimia, limbah kegiatan laboratorium dan pembangkit tenaga listrik yang menggunakan bahan baku bakar fosil (Suryadiputra, 1995). Effendi (2003) menyatakan bahwa senyawa merkuri umumnya digunakan dalam pembuatan amalgam, cat, komponen listrik, baterai, ekstrasi emas dan perak, gigi palsu, senyawa-anti karat (anti-fouling), fotografi, dan elektronik.

#### **4.5 Logam Berat Pb, Cd dan Hg pada Insang Tiram**

Tiram merupakan biota yang potensial terkontaminasi logam berat, karena sifatnya yang filter feeder atau menyerap makanan termasuk makanan yang mengandung logam berat. Organisme yang hidup sedentary atau menetap, tidak

bisa menghindari dari kontaminasi dan mempunyai toleransi tinggi terhadap konsentrasi logam tertentu sehingga dapat mengakumulasi logam lebih besar dari hewan lainnya (Darmono, 1995). Data tabel kadar logam berat pada insang tiram disajikan pada lampiran 4. Pengamatan kandungan logam berat Hg, Pb dan Cd rata-rata pada *Crassostrea cucullata* di Stasiun 1, 2 dan 3 dapat dilihat melalui grafik pada Gambar 10 sebagai berikut:



**Gambar 10.** Grafik Rata-Rata Kadar Logam Berat pada Insang Tiram. Setiap Data Merupakan Rata-Rata Dari 3 Individu Setiap Stasiun.

Berdasarkan grafik 10, Tiram *Crassostrea cucullata* yang diambil pada stasiun 1 mengakumulasi logam berat Pb sebesar 0.35 mg/l, Cd 0.09 mg/l dan Hg 0.07 mg/l. Pada stasiun 2 tiram mengakumulasi logam berat Pb 0.76 mg/l, Cd 0.15 mg/l dan Hg 0.15 mg/l, sementara tiram pada stasiun 3 mengakumulasi logam berat Pb 0.41 mg/l, Cd 0.11 mg/l dan Hg 0.14 mg/l. Dari hasil tersebut dapat dilihat bahwa kadar Pb, Cd dan Hg yang terakumulasi dalam insang tiram pada stasiun 2 lebih besar bila dibandingkan dengan stasiun 1 dan stasiun 3.

Tingginya kadar Pb, Cd dan Hg yang terakumulasi dalam insang tiram di stasiun 2 disebabkan karena pada lokasi ini banyak terdapat aktivitas kapal

motor nelayan yang melintas maupun yang sedang bersandar untuk pengisian bahan bakar dan pergantian oli sehingga dapat menghasilkan limbah logam berat berbahaya yang dapat terakumulasi pada tiram serta merupakan lokasi pembuangan limbah domestik warga setempat. Besarnya rata-rata ukuran tiram pada stasiun 2 diduga juga mempengaruhi tingginya akumulasi logam berat Pb dan Hg pada insang tiram di stasiun 2. Hal ini sesuai dengan pendapat Djawad dan Bertha (2009) yang menyatakan bahwa ukuran tiram yang berbeda-beda mempengaruhi kemampuan tiram dalam memfilter air yang masuk kedalam tubuhnya, akumulasi logam berat yang tinggi diduga akibat besarnya ukuran tiram.

Menurut Dirjen POM No. 03725/B/SK/VII/89, batas maksimum cemaran logam berat untuk Pb adalah 2 mg/l, Cd 1 mg/l dan Hg 0,5 mg/l. Hal ini menunjukkan bahwa kadar logam berat Pb, Cd dan Hg yang terkandung dalam insang tiram masih di bawah ambang batas yang telah ditetapkan oleh Dirjen POM No. 03725/B/SK/VII/89.

Bila dibandingkan insang tiram lebih banyak menyerap timbal (Pb) dari pada kadmium (Cd) maupun merkuri (Hg). Pada stasiun II, respon insang tiram terhadap penyerapan logam berat terutama Pb lebih tinggi jika dibandingkan dengan stasiun I dan stasiun III. Kandungan Pb dalam tiram relatif lebih tinggi jika dibandingkan dalam air. Dimana rata-rata kandungan Pb dalam air sebesar 0,023 mg/l – 0,034 mg/l, sedangkan rata-rata kandungan logam berat Pb pada insang tiram yaitu sebesar 0,35-0,76 mg/l.

Begitu juga dengan logam berat Cd dan Hg, rata-rata kadar logam berat Cd dalam air sebesar 0,009 mg/l- 0,013 mg/l. Untuk logam berat Hg pada air sebesar 0,007 mg/l- 0,008 mg/l, pada insang tiram sebesar 0,07 mg/l – 0,15 mg/l. Hal ini menunjukkan logam berat pada air terakumulasi dalam insang tiram *C. cucullata*. Menurut Arfiati dkk (2011), kandungan Pb dalam tiram lebih tinggi

dibandingkan dengan dalam air. Hal ini menunjukkan bahwa Pb yang terdapat dalam air terakumulasi dalam tubuh biota tiram. Biota air yang hidup dalam perairan tercemar logam berat, dapat mengakumulasi logam berat tersebut dalam jaringan tubuhnya. Menurut Febryanto dkk (2011), semakin tinggi kandungan logam berat dalam perairan akan menyebabkan semakin tinggi pula kandungan logam berat yang terakumulasi dalam tubuh tiram tersebut. Menurut Hutagalung dan Razak (1982), kadar logam berat Pb dan Cd dalam organisme lebih tinggi dari pada dalam air laut. Kadar Pb dan Cd dua kali lebih besar dari kadar rata-rata dalam air laut, hal ini membuktikan bahwa unsur Pb dan Cd telah terakumulasi oleh biota yang diamati.

Tingginya akumulasi logam berat dalam kerang berhubungan erat dengan sifat hidupnya sebagai biota yang mengambil makanan dengan cara menyaring air (*filter feeder*). Hutagalung (1991) menambahkan bahwa kandungan logam berat dalam daging organisme perairan biasanya lebih tinggi daripada kandungan logam berat pada perairannya sendiri, karena logam berat tersebut akan terakumulasi di dalam dagingnya. Apriadi (2005) di dalam penelitiannya melaporkan bahwa kandungan logam berat Hg, Pb dan Cr pada kerang hijau lebih tinggi dibandingkan pada kolom air dan sedimen. Hal ini disebabkan kerang mempunyai kemampuan untuk mengakumulasi logam berat di dalam tubuhnya.

Organisme air sangat dipengaruhi oleh keberadaan logam berat di dalam air, terutama pada konsentrasi yang melebihi batas normal. Organisme air mengambil logam berat dari badan air atau sedimen dan memekatkannya ke dalam tubuh hingga 100-1000 kali lebih besar dari lingkungan. Akumulasi melalui proses ini disebut bioakumulasi. Kemampuan organisme air dalam menyerap (absorpsi) dan mengakumulasi logam berat dapat melalui beberapa cara, yaitu melalui saluran pernapasan (insang), saluran pencernaan dan difusi permukaan kulit (Mandibelli, 1976 *in* Hutagalung, 1991 ; Darmono, 2001).

Sebagian besar logam berat masuk ke dalam tubuh organisme air melalui rantai makanan dan hanya sedikit yang diambil air (Waldichuck, 1974). Akumulasi dalam tubuh organisme air dipengaruhi oleh konsentrasi bahan pencemar dalam air, kemampuan akumulasi, sifat organisme (jenis, umur dan ukuran) dan lamanya pernapasan (Apriadi, 2005). Logam berat (Hg, Cd dan Pb) dalam air kebanyakan berbentuk ion dan logam tersebut diserap oleh kerang secara langsung melalui air yang melewati membran insang atau melalui makanan. Selain melalui insang, logam berat juga masuk melalui kulit (kutikula) dan lapisan mukosa yang selanjutnya diangkut darah dan dapat tertimbun dalam jantung dan ginjal kerang (Noviana, 1994; Laws, 1981).

Merkuri yang masuk ke dalam perairan dapat masuk dan terakumulasi pada ikan-ikan dan makhluk air lainnya, termasuk ganggang dan tumbuhan air. Mekanisme masuknya merkuri ke dalam tubuh hewan air adalah melalui penyerapan pada permukaan kulit, melalui insang dan rantai makanan, sedangkan pengeluaran dari tubuh organisme perairan bisa melalui permukaan tubuh atau insang atau melalui isi perut dan urine. Merkuri dapat masuk ke dalam tubuh manusia melalui tiga cara yaitu pernafasan (*inhalasi*), permukaan kulit dan paling banyak melalui makanan (Fardiaz, 1992).

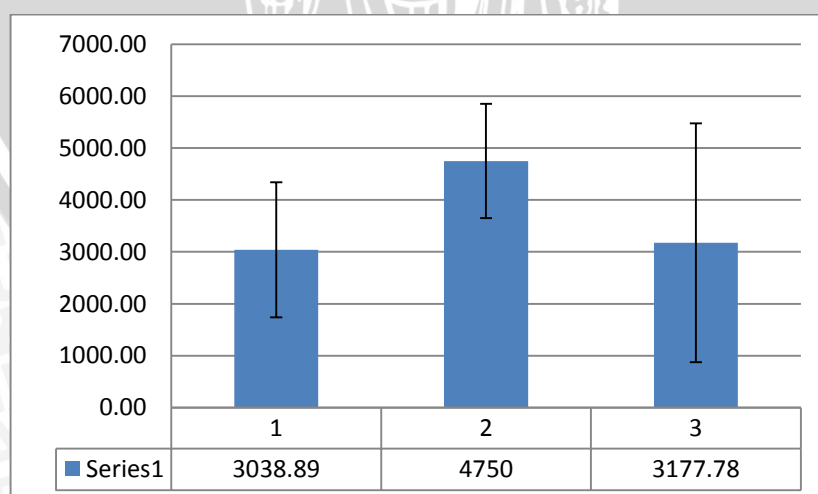
Sesuai dengan karakteristik kerang sebagai biota filter feeder yaitu biota yang mendapatkan makanan dengan cara menyaring makanan dan hidupnya bersifat sessil (menetap dalam waktu lama), maka logam berat Hg yang terdapat dalam sedimen dan air akan masuk ke dalam tubuh kerang baik melalui makanan (plankton) atau melalui air dan sedimen yang terserap ke dalam tubuh kerang (wulandari,2009)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tiram yang diambil dari ketiga stasiun lebih banyak mengakumulasi logam berat Pb dibandingkan Hg maupun Cd. Hasil penelitian Mugilaksani (2013) juga menunjukkan hasil yang serupa diaman tiram

*Crassostrea cucullata* lebih banyak mengakumulasi logam berat Pb (1.07 ppm), dibandingkan Hg (0.08 ppm) dan Cd (0.57 ppm). Hal tersebut menunjukkan bahwa tingkat bioakumulasi tiram terhadap logam berat Pb cukup tinggi. Menurut Wulandari (2010), faktor akumulasi logam berat pada biota laut relatif berbeda, yang disebabkan oleh perbedaan sifat-sifat biologis seperti umur dan fisiologis, juga disebabkan oleh sifat fisik dan kimia serta aktivitas manusia yang terdapat disekitar lokasi. Logam berat Pb masuk kedalam tiram melalui aktivitas pernapasan maupun makan yang selanjutnya terakumulasi pada lambung, otot, dan bagian tubuh lainnya.

#### 4.6 Kandungan Metallothionein pada Insang Tiram

Pada hasil penelitian yang dilakukan di Pantai Prenduan dapat diketahui bahwa tiram yang berada diperairan tersebut mengandung kadar metallothionein yang berbeda pada setiap titik (ulangan), dimana pada tiram *Crassostrea cucullata* terdapat kadar metallothionein. Pengaruh kadar metallothionein dari tiram tersebut dapat dipengaruhi oleh tingkat pencemaran yang berada pada habitatnya. Nilai rata-rata hasil penelitian terhadap kadar metallothionein pada tiram *Crassostrea cucullata* dapat dilihat pada Gambar 11 dan lampiran 6.



**Gambar 11.** Grafik Nilai Rata-Rata Kadar Metallothionein (ng/ml) Pada Insang Tiram. Setiap data merupakan rata-rata dari 3 individu setiap stasiun.

Grafik nilai kadar metallothionein (MT) dari hasil pengukuran pada tiram *Crassostrea cucullata* memiliki kadar MT sebesar 3038,89 ng/ml di ulangan ke 1, pada stasiun 2 sebesar 4750 ng/ml, dan stasiun 3 sebesar 3177,78 ng/ml. Hasil penelitian Herista (2013) menunjukkan kadar metallothionein pada insang tiram *Crassostrea cucullata* di wilayah pelabuhan perikanan pantai Mayangan Probolinggo berkisar 17600-31733 ng/l.

Sementara Cotou et al., (1988) dengan hasil penelitiannya menunjukkan rata-rata kadar MT moluska laut adalah 175.869  $\mu\text{g/g}$  (*Mytilus galloprovincialis*), 264.041  $\mu\text{g/g}$  (*Chlamys varia*), 198.207  $\mu\text{g/g}$  (*Cerastoderma edule*), 172.401  $\mu\text{g/g}$  (*Venus verrucosa*), 240.484  $\mu\text{g/g}$  (*Mactra corralina*) dan 101.670  $\mu\text{g/g}$  (*Phallusia mamammilata*). Dimana kadar metallothionein tersebut sangat dipengaruhi oleh induksi logam berat yang berasal dari lingkungan hidup bivalve.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tiram *Crassostrea cucullata* pada stasiun 2 memiliki kandungan metallothionein yang lebih tinggi dibandingkan dengan stasiun 1 dan 3. Tingginya kadar metallothionein pada insang tiram di stasiun 2 pada kawasan ini mengandung logam berat yang tertinggi bila dibandingkan dengan kedua stasiun lainnya, sehingga logam berat yang terakumulasi dalam insang tiram kadar logam tersebut mempengaruhi tingginya kadar metallothionein pada insang tiram. Hal ini sesuai dengan pendapat Roesijadi (1994) yang menyatakan bahwa metallothionein merupakan protein dengan berat molekul rendah yang kehadirannya dipengaruhi oleh induksi logam dan berperan dalam metabolisme serta detoksifikasi logam.

Menurut Santosa (2003), metallothionein merupakan sistem utama yang dimiliki oleh tubuh organisme dalam mendetoksifikasi logam berat seperti Hg, Pb dan logam berat lainnya yang terakumulasi dalam tubuh. Ringwood et al. (2004), menyatakan bahwa terdapat hubungan positif antara metallothionein dengan polutan logam berat. Kontaminan logam berat dapat mengakibatkan kerusakan



sistemik suatu organisme dan mengakibatkan meningkatnya produksi metallothionein. Dengan kata lain, biomarker metallothionein akan muncul pada perairan yang terkontaminasi logam berat seperti Pb, Cd dan Hg.

Selain itu adanya perbedaan ukuran panjang tiram diduga juga mempengaruhi kadar metallothionein pada insang tiram. Tiram pada stasiun 2 memiliki ukuran terbesar (rata-rata 3,67 cm) dibandingkan dengan tiram pada stasiun 1 (rata-rata 2,07 cm) dan pada stasiun 3 (rata-rata 2,59 cm).

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa tiram dengan ukuran terbesar mampu mengakumulasi logam berat Pb, Cd dan Hg lebih tinggi dibandingkan dengan tiram yang berukuran lebih kecil. Hal ini senada dengan pendapat Amiard *et al.* (2006), ukuran tiram dapat mempengaruhi kadar metallothionein dimana semakin besar ukuran tiram maka kadar metallothionein (MT) juga semakin tinggi. Insani dan Carpene (2014) mengungkapkan bahwa usia merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi tinggi rendahnya kadar metallothionein pada tiram.

Menurut Rumahlatu, *et al.* (2012), protein metallothionein (MT) yang berperan sebagai protein pengikat logam dapat digunakan sebagai indikator pencemaran, karena keberadaan metallothionein pada tiram berfungsi sebagai pengikat logam berat yang terakumulasi dalam tubuh. Keberadaan logam berat yang berasal dari aktifitas manusia dapat masuk dan terakumulasi dalam tiram serta meningkatkan kadar metallothionein dalam tubuh (Mifbakhuddin, *et al.*, 2010). 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 kerang dapat terus bertahan hidup. Ketika akumulasi logam berat dalam tubuh kerang meningkat sintesis metallothionein mungkin akan mencapai tingkat maksimum.

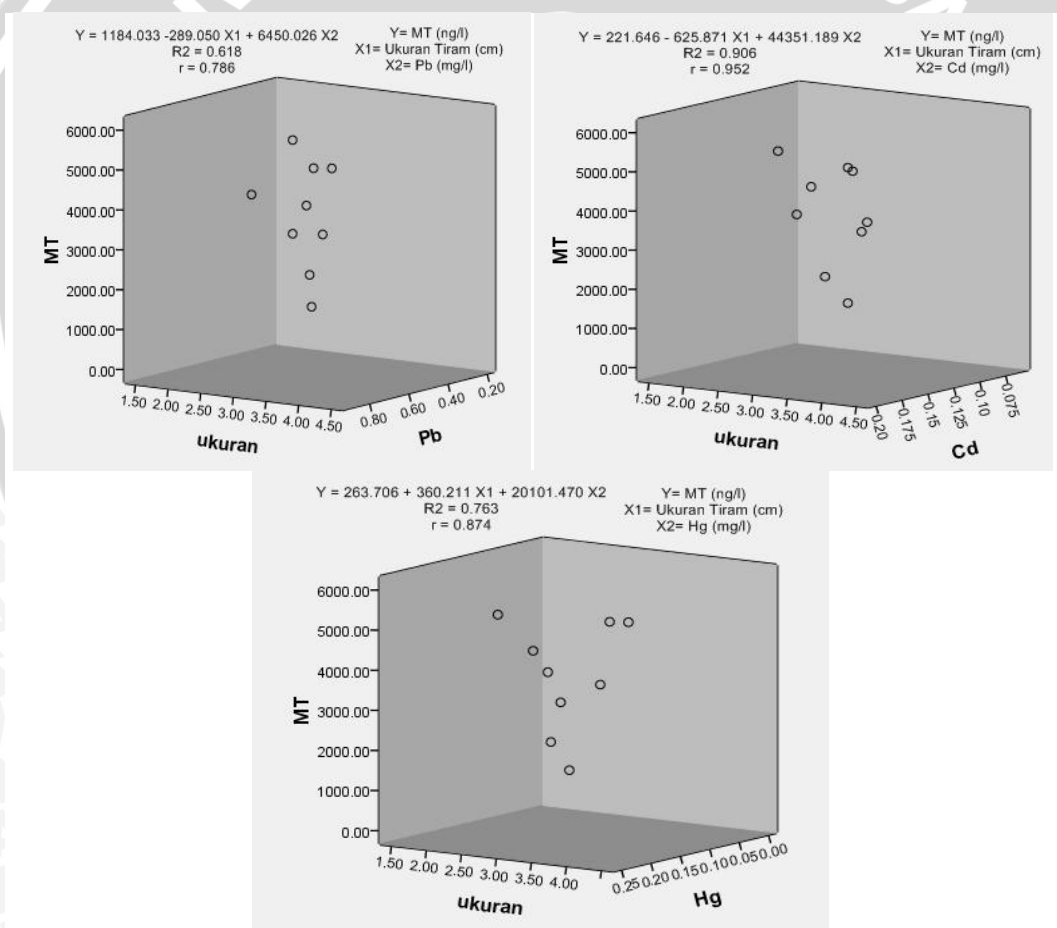
Menurut Klaasen *et al.*, (1999), terkait perannya dalam non-essential metal homeostasis, terdapat hubungan yang kuat sekali antara level MT dengan cadmium (Cd) maupun logam berat lain yang masuk ke dalam tubuh organisme. Hal ini sesuai dengan pendapat Amiard *et.al.*, (2006) yang mengatakan bahwa tinggi rendahnya kadar MT, khususnya pada biota laut utamanya dipengaruhi oleh logam berat baik yang berasal dari alama maupun dari kontaminasi limbah kegiatan manusia yang masuk ke dalam perairan dan selanjutnya ke tubuh biota 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.

#### 4.7 Hubungan Kadar Logam Berat Pb, Cd, Hg, Ukuran Tiram dan Metallothionein pada Insang Tiram

Menurut Ross *et al.*, (2002) *dalam* Amiard *et al.*, (2006), hasil analisis regresi (gambar 12) dapat menjelaskan adanya hubungan antara kadar logam berat yang terdapat pada bivalve dengan kadar metallothionein. Umumnya kadar metallothionein akan terus meningkat sesuai dengan kenaikan kadar logam berat yang masuk ke dalam tubuh bivalve tersebut. Beberapa peneliti menemukan bahwa organisme yang tinggal pada lingkungan yang tercemar akan memiliki kandungan metallothionein yang cenderung tinggi.

Hubungan fungsional antara dua atau lebih variabel dapat diketahui menggunakan analisis regresi. Dalam analisis regresi dikenal 2 jenis peubah, yaitu peubah yang bersifat bebas (*independen*) yang dinotasikan sebagai X, serta peubah yang bersifat tidak bebas (*dependen*) yang dinotasikan sebagai Y (Sungkawa, 2013). Secara teoritis, ukuran tiram dan kadar logam berat akan mempengaruhi kadar metallothionein pada tiram *Crassostrea cucullata*, dimana

semakin besar (tua) ukuran tiram, maka kandungan logam berat yang masuk dalam tubuhnya juga akan semakin meningkat sehingga sintesis metallothionein pada tiram juga akan meningkat. Model analisis regresi ini digunakan untuk mengetahui hubungan ukuran tiram yang merupakan variabel bebas ( $X_1$ ) dan kadar logam berat Pb, Cd dan Hg yang merupakan variabel bebas ( $X_2$ ) terhadap kadar metallothionein yang merupakan variabel terikat ( $Y$ ) pada insang tiram *Crassostrea cucullata* dari Perairan Pantai Prenduan, Madura. Hubungan ukuran tiram dan kadar logam berat Pb, Cd, Hg terhadap kadar metallothionein pada insang tiram *C. cucullata* dapat dilihat pada gambar 12.



**Gambar 12.** Grafik hubungan ukuran tiram dan kadar logam berat Pb , Cd dan Hg terhadap kadar metalothionein pada insang tiram *C. cucullata*.

Berdasarkan hasil analisis regresi, dapat diketahui bahwa ukuran tiram dan kadar logam berat Pb yang terdapat pada tiram *Crassostrea cucullata* mempengaruhi kadar metallothionein pada tubuhnya. Hasil analisis regresi menunjukkan koefisien determinasi ( $R^2$ ) sebesar 0.618, dengan koefisien korelasi ( $r$ ) sebesar 0,786 dan hubungan fungsional yaitu 61,8%. Berdasarkan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) sebesar 0,786, maka dapat dikatakan bahwa secara statistik tingkat hubungan kadar logam Pb dengan kadar metallothionein (MT) pada tiram *Crassostrea cucullata* tergolong kuat. Menurut Walpole (1995), bila nilai ( $r$ ) antara 0.60-0.799 maka tergolong kuat. Dikuatkan oleh pendapat Sarwono (2006), bahwa tingkat korelasi tergolong kuat apabila " $r$ " berkisar  $>0.5-0.75$ . Menurut Heriyanto (2011), semakin tinggi kandungan logam berat (Pb) pada perairan maka akan semakin banyak logam berat yang terakumulasi dalam tubuh organisme.

Hasil analisis hubungan antara kadar metallothionein dengan kadar Pb pada insang tiram *C. cucullata* menunjukkan bahwa peningkatan kadar logam berat Pb disertai dengan peningkatan kadar metallothionein pada insang tiram. Hasil yang serupa juga diperlihatkan pada penelitian Herista (2013) yang menunjukkan bahwa kadar metallothionein pada insang akan semakin meningkat seiring dengan meningkatnya kadar Pb dengan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) sebesar 0,89.

Logam berat Pb dalam air kebanyakan berbentuk ion dan logam tersebut diserap oleh organisme secara langsung melalui air atau melalui makanan yang melewati membran insang. Menurut Acker *et al.* (2005), peningkatan kontaminan logam berat seperti Pb akan memicu tingginya produksi metallothionein sebagai konsekuensi dari sistem pertahanan tubuh agar organisme tersebut tetap dapat bertahan hidup.

Murtini *et al.* (2008) menambahkan bahwa terdapat ikatan antara logam berat Pb dengan protein yang membentuk ikatan metalloenzim. Menurut Darmono (1995), metalloenzim merupakan sub kelas dari metalloprotein yang proteinnya berikatan kuat dengan ion logam sehingga mempunyai ikatan yang kuat dan stabil, sehingga ikatan tersebut hanya dapat lepas dalam keadaan tertentu.

Selain itu, ukuran tiram juga mempengaruhi banyaknya logam berat Pb yang terakumulasi pada tubuh tiram. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa semakin besar ukuran tiram, maka kadar logam berat yang terakumulasi pada insang tiram juga semakin tinggi. Dalam penelitian Wulandari *et al.* (2012) melaporkan bahwa ukuran tiram *S. glomerata* dengan panjang, lebar dan tinggi yang lebih besar mampu mengakumulasi logam berat Pb lebih besar pula. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Riget *et al.* (1996) yang menyatakan bahwa ukuran cangkang *Mytillus edulis* berkorelasi positif dengan kemampuan kerang dalam mengakumulasi logam berat.

Hasil analisis regresi menunjukkan koefisien determinasi ( $R^2$ ) sebesar 0.906 dengan koefisien korelasi ( $r$ ) sebesar 0.952 dan hubungan fungsional yaitu 90,6%. Berdasarkan nilai koefisien korelasi ( $r$ ), maka dapat diketahui secara statistik bahwa tingkat hubungan tersebut tergolong sangat kuat. Menurut Walpole (1995), bila hasil analisis regresi menunjukkan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) pada interval 0.80-1.00, maka tingkat hubungan antar variabel tergolong sangat kuat. Sedangkan menurut pendapat Sarwono (2006), bahwa tingkat korelasi tergolong sangat kuat dalam interval nilai  $>0.75-0.99$ . Hasil analisis regresi tersebut sekaligus dapat menunjukkan bahwa ukuran tiram dan kadar Cd dapat mempengaruhi kadar metallothionein (MT) pada insang tiram *C. cucullata* sebesar 90,6 %.

Hasil analisis hubungan antara kadar metallothionein dengan kadar Cd pada insang tiram *C. cucullata* menunjukkan bahwa peningkatan kadar logam berat Cd disertai dengan peningkatan kadar MT pada insang tiram. Menurut Damiens *et al.*, (2006), kadmium (Cd) yang terakumulasi pada larva *C. gigas* menyebabkan peningkatan konsentrasi MT pada tubuhnya, induksi metallothionein pada larva selalu mempunyai hubungan yang erat dengan peningkatan kadar logam (Cd, Cu, dan Zn) di dalam tubuhnya.

Pada penelitian Desouky (2012), terjadi peningkatan konsentrasi metallothionein dalam jaringan lunak seiring dengan peningkatan paparan logam berat Cd. Rumahlatu *et al.*, (2012) dalam penelitiannya melaporkan bahwa berdasarkan analisis immunohistokimia, semakin banyak logam berat yang terakumulasi dalam kompartemen tubuh *D. setosum*, maka semakin banyak sel yang mengalami ekspresi protein MT. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekspresi protein MT berkaitan dengan fungsinya sebagai protein pengikat logam berat dan detoksifikasi logam berat.

Mao *et al.*, (2012) menyatakan bahwa metallothionein memiliki peran yang penting dalam berbagai proses fisiologi organisme seperti homeostatis, proteksi terhadap logam berat, regulasi metabolisme dan juga kontrol redoks, banyak penelitian yang melaporkan bahwa kontaminasi Cd dapat menginduksi dan mengikat MT pada *crustacea* dan disimpan dalam jaringan sebagai bentuk kompleks Cd-MT yang tidak beracun.

Logam berat Cd yang terakumulasi pada tiram *Crassostrea cucullata* akan terserap dalam jaringan seperti insang, ginjal, hati dan alat-alat reproduksi melalui makanan yang dimakan oleh tiram. Menurut Palar (2012), kadmium masuk ke dalam tubuh bersama makanan yang dikonsumsi dan juga akan mengalami proses biotransformasi dan bioakumulasi dalam organisme hidup (tumbuhan, hewan dan manusia).

Raksa (Hg) memiliki afinitas yang paling kuat terhadap metallothionein (Santosa, 2003). Berdasarkan hasil analisis regresi, dapat diketahui bahwa ukuran dan kadar logam berat Hg yang terdapat pada insang tiram mempengaruhi kadar metallothionein pada insangnya. Hasil analisis regresi menunjukkan koefisien determinasi ( $R^2$ ) sebesar 0.763, dengan koefisien korelasi ( $r$ ) sebesar 0.874 dan hubungan fungsional yaitu 76,3 %. Berdasarkan nilai koefisien korelasi ( $r$ ), maka dapat diketahui secara statistik bahwa tingkat hubungan tersebut tergolong sangat kuat. Hal ini sesuai dengan pendapat Walpole (1995) yang menyatakan bahwa tingkat korelasi sangat kuat berada pada interval  $> 0,75 - 0,99$ . Hasil analisis regresi tersebut sekaligus dapat menunjukkan bahwa ukuran tiram dan kadar Hg dapat mempengaruhi kadar metallothionein (MT) pada insang tiram *C. cucullata* sebesar 76,3 %.

Hasil analisis hubungan antara kadar metallothionein dengan kadar Hg pada insang tiram *C. cucullata* menunjukkan bahwa peningkatan kadar logam berat Hg disertai dengan peningkatan kadar MT pada insang tiram. Hasil yang serupa juga diperlihatkan pada penelitian Herista (2013) yang menunjukkan hubungan kadar MT pada insang *C. cucullata* dengan kadar logam berat Hg adalah sangat kuat dengan koefisien determinasi ( $R^2$ ) sebesar 0,8585 dan koefisien korelasi ( $r$ ) sebesar 0,9265 dan hubungan fungsional sebesar 85,85%.

Pada penelitian Mubin (2014) menunjukkan bahwa hubungan kadar MT pada tubuh tiram *C. iredalei* dengan kadar logam berat Hg tergolong sangat kuat dengan koefisien determinasi ( $R^2$ ) sebesar 0,7751 dan koefisien korelasi ( $r$ ) sebesar 0,8803 dan hubungan fungsional sebesar 77,51%. Herista (2012), dalam penelitiannya menunjukkan bahwa hasil analisis regresi antara Hg dengan kadar MT menghasilkan korelasi yang kuat dan bersifat positif. Dimana tingginya kadar Hg berpengaruh terhadap peningkatan kadar MT tiram *Crassostrea cucullata*.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa peningkatan ukuran tiram dan kadar logam berat Hg disertai dengan peningkatan kadar MT pada insang tiram. Hal ini diduga karena semakin besar (tua) ukuran tiram mengakibatkan akumulasi logam berat Hg pada tubuh tiram semakin tinggi, sehingga produksi MT pada tubuh tiram juga akan meningkat sebagai respon pertahanan terhadap bahan pencemar logam berat.

#### 4.8 Parameter Kualitas Air

Parameter kualitas air yang diamati pada penelitian ini meliputi suhu, derajat keasaman (pH/*potensial Hydrogen*), salinitas, oksigen terlarut (DO/*Dissolved Oxygen*), dan bahan organik total (TOM/*Total Organic Matter*). Kualitas air secara langsung mempengaruhi kehidupan tiram sekaligus dapat mempengaruhi kadar metallothionein secara tidak langsung. Pedersen et al., (1997) dalam Amiard et al., (2006) menjelaskan bahwa laju metabolisme sangat mempengaruhi biosintesis metallothionein bivalve, dimana kemampuan metabolisme itu sendiri dipengaruhi oleh suhu dan salinitas. Hasil pengamatan kualitas air dapat dilihat pada tabel 1 berikut:

**Tabel 1.** Data Kualitas Air Laut

Parameter	Stasiun 1	Stasiun 2	Stasiun 3	Kisaran Optimum / batas yang diperbolehkan
Suhu	36 °C	36 °C	37 °C	28 <sup>0</sup> – 30 <sup>0</sup> C (Kepmen LH No. 51 tahun 2004)
Oksigen terlarut	7,6 mg/l	6,1 mg/l	8,7 mg/l	≥5 mg/l (Kepmen LH No. 51 tahun 2004)
Salinitas	30 ppt	30 ppt	30 ppt	33–34 ppt (Kepmen LH No. 51 tahun 2004)
pH	9	9	9	7 – 8,5 (Kepmen LH No. 51 tahun 2004)
TOM	32,864 ppm	50,56 ppm	29,072 ppm	≤20 ppm (Effendi, 2003)



#### 4.8.1 Suhu

Berdasarkan hasil analisis kualitas air, suhu perairan pantai Preduan berkisar antara 36 °C – 37°C. Pada stasiun 1 suhu sebesar 36°C, pada stasiun 2 diperoleh nilai suhu yang sama yaitu 36°C. Suhu tertinggi terdapat pada stasiun 3 yaitu sebesar 37°C, hal ini dikarenakan waktu pengukuran suhu di stasiun ini dilakukan pada saat tengah hari sehingga intensitas cahaya matahari yang masuk ke perairan tinggi. Nilai suhu terendah terdapat pada stasiun 1 dan stasiun 2 yaitu sebesar 36°C, hal ini disebabkan karena cuaca pada saat pengukuran suhu di stasiun 1 dan stasiun 2 tidak terlalu terik bila dibandingkan dengan stasiun 3, selain itu stasiun 1 merupakan kawasan mangrove sehingga terdapat naungan yang berasal dari pohon mangrove. Adapun kondisi cuaca pada saat pengambilan sampel cerah. Menurut Hancoop dan Baukema (1997) dalam Hamah dan Nababan (2009), dalam ekologi, bivalvia sangat dipengaruhi oleh suhu. Dimana suhu akan mempengaruhi laju metabolisme, seiring dengan peningkatan suhu maka laju metabolisme akan meningkat.

Suhu juga berpengaruh terhadap tinggi rendahnya kadar metallothionein pada bivalvia, namun tidak terlepas dari kadar logam berat yang terdapat pada lingkungan tempat tinggal tiram tersebut. Menurut Damiens et al., (2005), Berdasarkan hasil penelitian Cosson (2000), di dapatkan bahwa suhu berpengaruh terhadap tinggi rendahnya kandungan MT pada bivalvia, dimana konsentrasi MT cenderung lebih tinggi pada suhu tinggi. Hal tersebut berkaitan dengan laju metabolisme tiram tersebut.

#### 4.8.2 Derajat Keasamaan (pH/potensial Hydrogen)

Berdasarkan hasil analisis kualitas air, diperoleh nilai pH pada perairan pantai Talang Siring di ketiga stasiun yaitu sebesar 9. Berdasarkan hasil tersebut, pH pada perairan pantai Talang Siring 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. Sebagian besar biota akuatik sensitif terhadap perubahan pH dan menyukai nilai pH sekitar 7-8,5. Nilai pH sangat mempengaruhi proses biokimiawi perairan, selain itu pH rendah juga akan meningkatkan toksisitas logam di perairan (Effendi, 2003).

Nilai pH pada perairan pantai Prenduan tergolong basa atau sesuai dengan pH alami air laut. Hutagalung (1984) menyatakan bahwa kesadahan yang tinggi dapat mengurangi toksisitas logam berat, karena dengan kesadahan yang tinggi logam berat dalam air akan membentuk senyawa kompleks yang mengendap dalam perairan. Namun sebaliknya, pada pH perairan yang rendah menyebabkan toksisitas logam berat semakin besar.

Menurut Hogarth (1999) dalam Hamzah dan Pancawati (2013), penurunan pH dan kenaikan suhu juga akan mengurangi adsorpsi senyawa logam berat kedalam bentuk partikulat. Pada pH tinggi dan suhu yang rendah akan meningkatkan adsorpsi logam berat kedalam bentuk partikulat untuk mengendap di dasar laut. Sementara itu saat suhu naik dan pH perairan rendah, akan terjadi penurunan laju adsorpsi kedalam bentuk partikulat sehingga senyawa logam berat akan larut dan ion bebas logam berat dilepaskan kedalam kolom air dan akan meningkatkan toksisitas logam berat.

#### **4.8.3 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. Nilai salinitas di perairan pantai Prenduan ini tergolong rendah, hal ini dikarenakan pengukuran salinitas di ketiga stasiun dilakukan pada daerah

yang masih dekat dengan daratan sehingga pengaruh salinitas dari lautan lepas akan rendah. Menurut Kordi (2005), salinitas pada perairan pantai biasanya rendah, hal ini terjadi karena terjadinya pengenceran oleh aliran sungai. Sebaliknya di daerah penangkapan, nilai salinitas biasanya sangat tinggi dikarenakan besarnya pengaruh salinitas dari lautan lepas.

Seperti yang telah dijelaskan di atas, 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  $\leq 34$ . Sundari (2002) menyatakan bahwa kisaran salinitas yang mendukung kehidupan bivalvia pada suatu perairan berkisar antara 30 – 35 ppt.

#### **4.8.4 Oksigen Terlarut (DO/*Dissolved Oxygen*)**

Berdasarkan hasil analisis kualitas air, nilai oksigen terlarut (DO/*Dissolved Oxygen*) perairan pantai Prenduan berkisar antara 6,1 – 8,7 mg/L. Nilai DO pada stasiun 1 sebesar 7,6 mg/L, pada stasiun 2 sebesar 6,1 mg/L dan pada stasiun 3 sebesar 8,7 mg/L. Berdasarkan hasil analisis oksigen terlarut (DO/*Dissolved Oxygen*), dapat disimpulkan bahwa kisaran konsentrasi oksigen terlarut di perairan pantai Prenduan berkisar antara 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. Oksigen terlarut berpengaruh terhadap biota perairan, namun 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.

#### 4.8.5 Bahan Organik Total (TOM/Total Organic Matter)

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). Berdasarkan hasil pengukuran (Tabel 1), diperoleh kadar total bahan organik pada stasiun 1 sebesar 32,864 mg/l, pada stasiun 2 sebesar 50,56 mg/l, dan pada stasiun 3 sebesar 29,072 mg/l. Kadar total bahan organik tertinggi pada stasiun 2, hal ini dikarenakan pada stasiun 2 terdapat aktivitas peternakan ayam dimana kotoran ayam tersebut langsung dibuang ke perairan. Menurut Effendi (2003), kandungan total bahan organik di perairan  $\geq 20$  mg/l.

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).

Kandungan bahan organik terlarut maupun dalam sedimen mempengaruhi pertumbuhan, kehadiran, dan kepadatan organisme (Levinton, 1982 dalam Asriyanti, 2012). Bahan organik akan mempengaruhi proses adsorpsi, absorpsi dan desorpsi logam berat (Maslukah, 2006). Menurut Rochyatun dan Rozak (2007) dalam Rumahlatu *et al.* (2012), bahwa logam berat tidak dapat dihancurkan (non degradable) oleh organisme hidup dan terakumulasi ke lingkungan membentuk senyawa kompleks bersama bahan organik dan anorganik secara adsorpsi dan kombinasi.

## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Ukuran tiram dan akumulasi logam berat merupakan faktor yang dapat mempengaruhi produksi metallothionein pada tubuh tiram. Kadar metallothionein (MT) pada insang tiram berkorelasi positif dengan ukuran tiram, makin besar ukuran tiram nilai MT makin meningkat. Kadar MT pada insang tiram juga dipengaruhi oleh logam berat Pb, Cd dan Hg. Jika produksi metallothionein hanya dipengaruhi oleh ukuran tiram saja maka MT yang dihasilkan oleh tiram dengan panjang  $\pm 2,07$  cm sebesar 894,983 ng/ml. Namun jika metallothionein dipengaruhi oleh ukuran tiram dan logam berat Pb maka produksi MT sebesar 7345,009 ng/ml. Jika metallothionein dipengaruhi oleh ukuran tiram dan logam berat Cd maka produksi MT sebesar 43.946,964 ng/ml. Jika metallothionein dipengaruhi oleh ukuran tiram dan logam berat Hg maka produksi MT sebesar 20.101,470 ng/ml

### 5.2 Saran

Metallothionein hanya mampu diproduksi oleh tiram yang masih sehat. Sehingga perlu dijaga agar pantai Prenduan terhidar dari beban pencemar yang dapat mengakibatkan kerusakan insang tiram.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdulgani, N., Aunurohim dan A. W. Indarto. 2010. Konsentrasi Kadmium (Cd) pada Kerang Hijau (*Perna viridis*) di Surabaya dan Madura. FMIPA. ITS. Surabaya.
- Acker, L. Ann. J. R. McMahan, and J. E. Gawel. 2005. The Effect of Heavy Metal Pollution in Aquatic Environments on Metallothionein Productions in *Mytilus* sp. *Journal of Ecotoxicology*.
- 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.
- Amriani. 2011. Bioakumulasi Logam Berat Timbal (Pb) dan Seng (Zn) pada Kerang Darah (*Anadara granosa* L.) dan Kerang Bakau (*Polymesodabengalensis* L.) di Perairan Teluk Kendari. Tesis. Universitas Diponegoro: Semarang.
- Ana, R. L. dan E. Garcia-Vazquez. 2006. A simple assay to quantify metallothionein helps to learn about bioindicator and environmental health. *Laboratory Exercise*: 306 – 363.
- 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. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Insitut Pertanian Bogor. Bogor.
- Arfiati, D dan Wulandari E. Yuli, H. I. 2012. Kandungan Logam Berat Pb pada Air Laut dan Tiram *Saccostrea Glomerata* Sebagai Bioindikator Kualitas Perairan Prigi Trenggalek, Jawa Timur. *Jurnal Penelitian Perikanan*. 1(1).
- Asriyanti, Dina. 2012. Kepadatan Tiram (*Crassostrea Cucullata* Born 1778) Pada Habitat Mangrove Di Perairan Pantai Mayangan, Jawa Barat. Skripsi IPB. Institut pertanian Bogor. Bogor.
- Barnes, R., 1968. Invertebrate Zoology. W.B Saunders Company. London.
- Barret, E. M. 1963. The california oyster industry. The resources agency of california department of fish and game: fish bulletin 123,
- Barus, T.A. 1996. Metode Ekologis untuk Menilai Kualitas Perairan Lotik. Jurusan Biologi FMIPA. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- \_\_\_\_\_. 2002. Metode Ekologis untuk Menilai Kualitas Perairan Lotik. Jurusan Biologi FMIPA. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- \_\_\_\_\_. 2004. Pengantar Limnologi, Studi tentang Ekosistem Danau dan Sungai. Jurusan Biologi FMIPA. Universitas Sumatera Utara. Medan.

- Carpene, E., G. Andreani, G. Isnani. 2007. Metallothionein functions and structural characteristics. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 21 S1, 35-39.
- Connel. D. W. and Miller. 2006. Kimia dan Ekotoksikologi Pencemaran. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Cotou, E., V. Roussis, T. Rapti and C. Vagias. 1988. A Comparative Study on The Metallothionein Content of Six Marine Benthic Organisms. *Rapp.Comm International. Mer Medit.* (35):246-247.
- Coulillard, Y., P.G.C. Campbell, A. Tessier. 1993. Response of metallothionein concentrations in a freshwater bivalve (*Anadonta grandis*) along an environmental cadmium gradient. *Limnol oceanografi*, 38 (2) : 299-313.
- Damiens. G., Catherine, M., F. Quiniou, E. His, M. Gnassia-Barelli, dan M. Romeo. 2005. Metal bioaccumulation and metallothionein concentrations in larvae of *Crassostrea gigas*. *Environmental Pollution*, Elsevier Ltd. 140(3) : 492-499.
- Darmono. 1995. Logam dalam Sistem Makhluk hidup. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- \_\_\_\_\_. 2001. Lingkungan Hidup dan Pencemaran, Hubungannya dengan Toksikologi Senyawa Logam. Penerbit UI Press. 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.
- Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan (POM) No. 03725/B/SK/VII/89
- Djawad, M. I. dan N. Bertha. 2009. *Efektifitas Tiram Bakau (Crassostrea sp.) dalam Mereduksi Cu pada Air Pemeliharaan Udang Windu (Panaeus monodon)*. *E-Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. Vol. 1 (2): 1 – 10.
- Eckenfelder, W. W. 1989. *Industrial Water Pollution Control. Second Edition*. McGraw-Hill, Inc., New York. 400 p.
- 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 12 Februari 2015 pukul 11.18 WIB.
- Effendi, H. 2003. Telaah Kualitas Air : Bagi pengelolaan sumberdaya dan lingkungan perairan. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- 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.

Fajri, N. E. 2001. Analisis Kandungan Logam Berat Hg, Cd dan Pb dalam air laut, sedimen dan tiram (*C. cucullata*) di Perairan Pesisir Kec.Pedes Kab.Karawang Jawa Barat. TESIS. Pasca sarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

FAO. 1998. The Living Marine Resources of the Western Central Pacific.

Fardiaz, S. 1992. Polusi Air dan Udara. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.

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

[GESAMP] Group Expert on Scientific Aspect of Marine Pollution. 1985. *Report of The Seven Session*. WHO (World Health Organization).

Hamah, M. S., dan Nababan, B. 2009. Studi Pertumbuhan dan Kelangsungan Hidup Anakan Kerang Mutiara (*Pinctada maxima*) pada Kedalaman Berbeda di Teluk Kapontori, Pulau Buton. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. Vol.1(2). Hlm:22-32.

Hamzah, Faisal dan Yuli Pancawati. 2013. Fitoremediasi Logam Berat dengan Menggunakan Mangrove. *Ilmu Kelautan*. Vol. 18 (4): 203 – 212.

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

Haryoto dan Agustono Wibowo. 2004. Kinetika bioakumulasi logam berat kadmium oleh fitoplankton *chlorella sp* lingkungan perairan laut. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi*, Volume 5, No. 2, 89-103.

Hasim. 2003. Kerang sebagai Biofilter Logam Berat. *Harian KOMPAS*. Edisi 02 September 2003.

Herista, D. S. 2013. Analisis Kandungan Metallothionein pada Insang Tiram (*Crassostrea cucullata*) dari Perairan yang Mengandung Logam Berat Pb, Cd, Hg di Pelabuhan Pnatai Mayangan Probolinggo, Jawa Timur. Universitas Brawijaya. Malang.

Hutabarat, S dan S. M. Evans. 1984. Pengantar Oseanografi. Penerbit UI Press. Jakarta.

Hutagalung, H.P. 1984. Logam Berat Dalam Lingkungan Laut. *Pewarta Oceana IX No. 1*. Hal 12-19.

\_\_\_\_\_. 1991. *Pencemaran Laut oleh Logam Berat dalam Beberapa Perairan Indonesia*. Puslitbang Oseanologi LIPI. Jakarta. p. 1–20.

Irianto, A., D. Sipatuhur dan A. Sudrajat. 1994. Observasi tiram *crssostrea spp*. Tanjung pinang dan perairan bintang, kepulauan riau. *Warta Balitdita*. Vol 6 no.1. 19-21.



Isnani, G., dan Carpeno, E. 2014. Metallothionein, Unconventional Proteins from Unconventional Animal: A Long Journey from Nematodes to Mammals. *Biomolecules*. Vol 4. Pp:435-457.

Kementerian Negara Lingkungan Hidup No. 51 tahun 2004 Tentang Baku Mutu Air Laut

Klaassen, C. D., J. Liu and S. Choudhuri. 1999. Metallothionein : an intracellular protein to protect against cadmium toxicity. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 39 : 267–94.

Koentjaraningrat. 1983. *Metode-Metode Penelitian Masyarakat*. Cetakan ke-3 Gramedia. Jakarta.

Kordi, M. G. 2005. *Usaha pembesaran ikan kerapu tambak*. Penerbit. Kanisius. 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.

Mao, H., D. H. Wang dan W. X. Yang. 2012. *The Involvement of Metallothionein in the Development of Aquatic Invertebrate*. *Aquatic Toxicology*. 110 – 111: 208 – 213.

Maslukah, Lilik. 2006. *Konsentrasi logam berat Pb, Cd, Cu, Zn, dan pola sebarannya di muara banjir kanal barat, Semarang*. Skripsi. Intitut Pertanian Bogor. Bogor.

Mezei, T. 2010. About Oyster. <http://www.ostrea.org/oysters.html>. Diakses pada tanggal 1 Oktober 2014 pukul 14.00 WIB.

Mifbakhuddin, R. Astuti, A. Awaludin. 2010. Pengaruh perendaman larutan asam cuka terhadap kadar logam berat cadmium pada kerang hijau. *Jurnal Kesehatan*. 3 (1) : 14-20.

Mubin, Haqqul. 2014. *Metallothionein (MT) Sebagai Biomarker Kadar Logam Berat Hg, Cd dan Pb pada Tiram Crassostrea iredalei di Perairan Pantai Utara Kabupaten Gresik Jawa Timur*. Skripsi. Universitas brawijaya. Malang.

Mugilaksani, E. 2013. Analisis Kadar Metallothionein pada Lambung Tiram *Crassostrea cucullata* dari Perairan yang Mengandung Logam Berat Pb, Cd dan Hg di Pelabuhan Perikanan Pantai Mayangan Probolinggo, Jawa Timur. Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang.

Mulyanto. 2008. *Metode Sampling*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Malang.

- 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.
- Murtini, J. T., A. D. Kurniawan dan E. N. Dewi. 2008. *Pengaruh Waktu Perendaman dan Konsentrasi Karboksimetil Kitosan untuk Menurunkan Kandungan Logam Berat Hg, Cd dan Pb pada Kerang Hijau (*Perna viridis* Linn.)*. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. Vol. 3 (1)
- Musthapha, I. 2001. *Studi Biologi Reproduksi Kerang Hijau (*Perna viridis* L.) Hubungan Panjang Berat serta Tingkat Kematangan Gonad*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- 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.
- Nontji. 2002. *Laut Nusantara*. Cetakan ketiga. penerbit djambatan. Jakarta.
- Nybakken, J.W. 1998. *Biologi Laut, Suatu Pendekatan Ekologis*. Gramedia. Jakarta.
- Nurtoni, R, Perangin-rangin, dan Tampubolon, 1984. *Penelitian mutu kerang hijau rebus yang disimpan pada suhu rendah, dalam laporan penelitian Teknologi Perikanan, Balai Penelitian Teknologi Perikanan, Jakarta*.
- Overnell, J and Sparla, A, M., 1990. The Binding of Cadmium to Crab Cadmium Metallothionein. *Biochem. J.* 267 : 539- 540.
- Palar, H. 1994. *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat*. Rineka cipta, Jakarta.
- Palar, Heryando. 2012. *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Panji, Y. 2011. *Metode Penelitian Komunikasi*. Universitas Mercu Buana. Jakarta.
- Parenrengi, A., Syarifudin, T., dan Sri, L. 1998. *Studi jenis dan kelimpahan plankton pada berbagai kedalaman dan hubungannya dengan komposisi makanan tiram Mabe (*Pteria penguin*)*. *Jurnal penelitian perikanan indonesia*. Vol.IV, No.4, Balai penelitian perikanan pantai maros, watampone.
- Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 82 Tahun 2001 *Tentang Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air*. Jakarta.
- Pramusyawardhani, G., D. Arfiati dan A. Soeprijanto. 2014. *The Analysis of Heavy Metal Lead (Pb) on Oyster *Crassostrea Cucullata* and Fishing Port Waters of Mayangan Beach Probolinggo*. *IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology (IOSR-JESTFT)*. Vol. 8 (1): 59 – 62.

- Ramon, M., dan Richardson, C. A. 1992. Age Determination and Shell Growth of *Chamelea gallina* (Bivalvia: Veneridae) in the Western Meditteran. *Marine Ecology Progress Series*. Vol 89. Pp:15-23.
- Razak, H. 1986. Kandungan Logam Berat di Perairan Ujung Watu dan Jebara. *Oseanologi di Indonesia*, 21: 1 – 20.
- Reilly, C. 1991. *Metal contamination food*. Second edition. Elsevier science publisher Ltd. London.
- Riget, F., P. Johansen dan Asmund G. 1996. *Influence of length on element concentrations in Blue Mussel (Mytilus edulis)*. *Marine Pollution Bulletin*. Vol. 32: 745 - 751.
- Ringwood, H., J. Hoguet, C. Keppler and M. Gielazyn. 2004. *Linkages Between Cellular Biomarker Responses and Reproductive Success in Oysters - Crassostrea Virginica*. *Marine Environmental Res.* 58: 912 – 922.
- Roberts, D. 1976. *Mussel and pollution* in B. L. Bayne (ed), *marine mussel: their ecology and physiology*. Cambridge University Press. Cambridge.
- Rohilan, I. 1992. Keadaan sifat fisika dan kimia perairan di Pantai Zona Industri Krakatau Steel Cilegon. SKRIPSI. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Rochyatun, E., M. Taufik Kaisupy dan A. Rozak. 2006. Distribusi logam berat dalam air dan sedimen di perairan muara Sungai Cisadane. *Jurnal Sains*. 10 (1) : 35-40.
- Roesijadi, G. 1994. *Metallothionein Induction as a Measure of Response to Metal Exposure in Aquatic Animals*. *Environmental Health Perspectives*. University of Maryland. Solomons, Maryland.
- 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.
- Sanusi, H. S. 2006. KIMIA LAUT. Proses Fisik Kimia dan Interaksinya dengan Lingkungan. Prartono T, Supriyono E, editor. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor. 188 hlm.
- Santoso, s. 2003. Peran Metallothionein pada Autisme. Fakultas Kedokteran. Universitas Kristen Maranatha. JKM. Vol 2(2): 23-30.
- Sarwono, J., 2006. *Metode Penelitian Kuantitatif dan Kualitatif*. Penerbit Graha Ilmu. Yogyakarta.
- Sasmaya. 2011. *Metodologi Penelitian*. Universitas Pendidikan Indonesia. 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.
- Setiawan, I Made. 2007. Pemeriksaan Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) untuk diagnosis Leptospirosis. EBERS PAPURUS.
- Setyono, D. E. D. 2006. Karakteristik biologi dan produk kekerangan laut. *Jurnal Oseana*. 31 (1) : 1-7.
- Siaka, I. M. 2008. Korelasi antara Kedalaman Sedimen di Pelabuhan Benoa dan Konsentrasi Logam Berat Pb dan Cu. *Jurnal Kimia*.2 (2): 61-70.
- Subarijanti, H.U. 1994. Diktat Kuliah Limnology. NUFFIC/ UNIBRAW/ LUW/ FISH. Universitas Brawijaya. Malang.
- Sugiarti, S., B. Widigdo, Y. Wardiatno dan M. Krisanti. 2005. *Avertebrata Air. Penebar Swadaya*. Jakarta.
- Sugiono S, D. Agam, Auralia L. E. S., Ruth S. H, dan Budianto G. 2010. Teknik Analisa DNA Enzyme-Linked Immunosorbent Assay ELISA. [lsjd.pdii.lipi.go.id /admin/jurnal/ 32107587\\_2087-121X.pd](http://lsjd.pdii.lipi.go.id/admin/jurnal/32107587_2087-121X.pd) pola penyebaran pb [ml.scribd.com /doc/ 39010855/](http://ml.scribd.com/doc/39010855/). Diakses pada tanggal 30 September 2014.
- Sundari, E. S. 2002. Komposisi dan Penyebaran Bivalvia pada Hutan Mangrove Teluk Hurun Kecamatan Padang Cermin Kabupaten Lampung Selatan Provinsi Lampung. Intitut Pertanian Bogor: Bogor.
- Sungkawa, I. 2013. *Penerapan Analisis Regresi dan Korelasi dalam Menentukan Arah Hubungan Antara Dua Faktor Kualitatif pada Tabel Kontingensi*. *Jurnal Matematika dan Statistika*. Vol. 13 (1): 33 – 41.
- 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.
- Suryabrata. 1989. *Metodologi Penelitian*. Rajawali Press. Jakarta.
- Suryadiputra, I. N. 1995. *Pengolahan air limbah dengan metode biologi*. Fakultas perikanan dan ilmu kelautan. Institut pertanian bogor. Bogor.
- Suryono, C. A. 2006. Kecepatan filtrasi kerang hijau *Perna viridis* terhadap *Skeletonemasp* pada media tercemar logam berat timbal (Pb) dan tembaga (Cu). *Jurnal Ilmu Kelautan*. 11 (3) : 153-157.
- Susana, T. 2009. Tingkat Keasaman (pH) dan Oksigen Terlarut sebagai Indikator Kualitas Perairan Sekitar Muara Sungai Cisadane. *Jurnal Teknologi Lingkungan*. 5(2) : 33-39. ISSN: 1829-6572.
- Suwarno, F. A. R., Rahayu E., Nanik S., Adi P. R. dan Jola R. 2010. *ELISA teori dan protokol*. Universitas Airlangga: Surabaya.

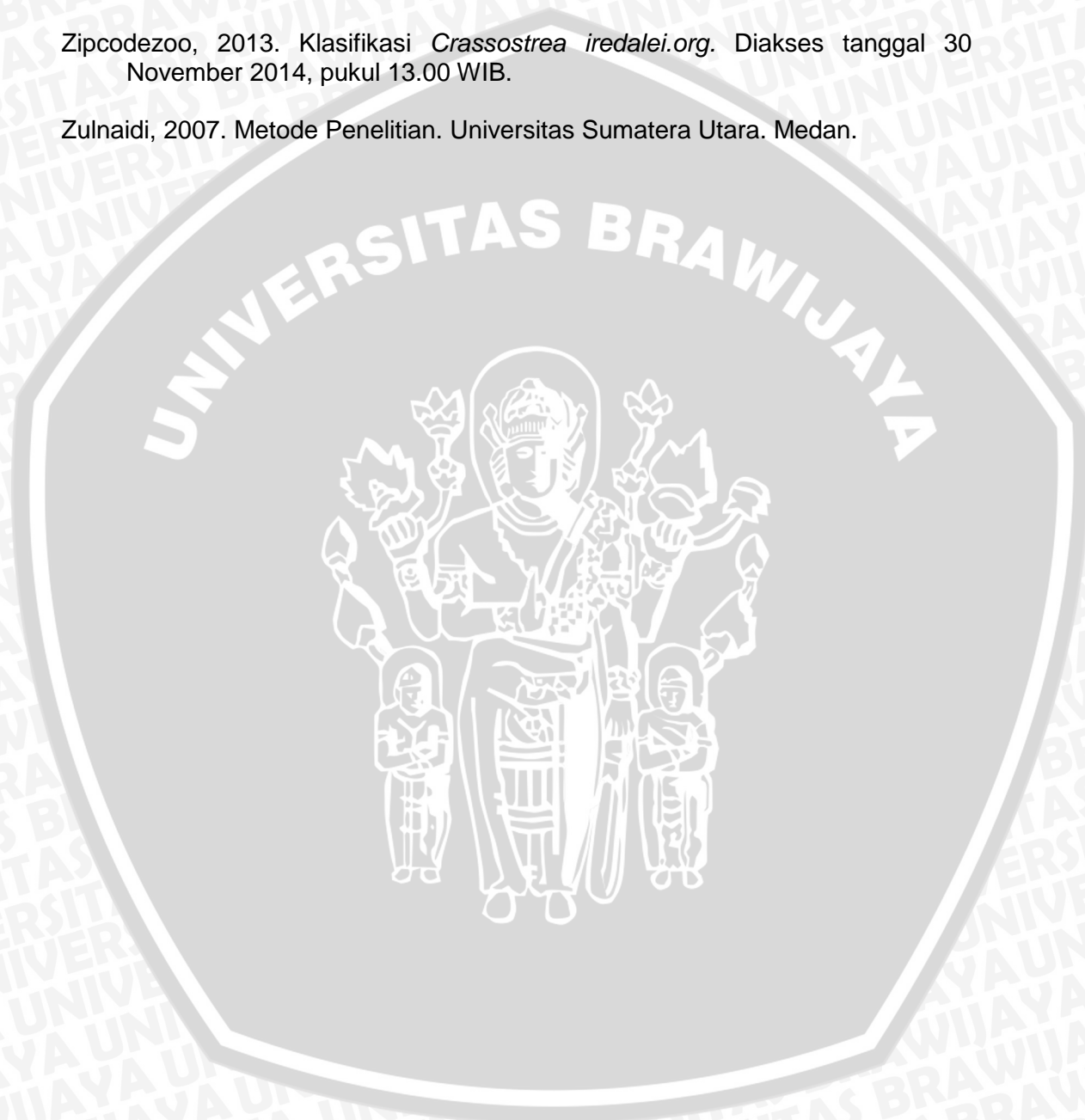
- Syazili, A. 2011. Biologi Tiram. <http://www.bumi-ilmu.htm.wordpress.com>. Diakses pada tanggal 13 Maret 2015.
- Waldichuk, M. (1974). Some biological concerns in heavy metal pollution. In: Vemberg, F. J., Vernberg, W. B. (ed.) Pollution and physiology of marine organism. Academic Press, New York, p. 1-57
- Walpole, R. E., 1995. Pengantar Statistika. Edisi Ke-3. Penerbit Gramedia. Jakarta.
- Wahyuni, H., S. B. Sasongko, D. P. Sasongko. 2013. Kandungan logam berat pada air, sedimen dan plankton di daerah penambangan masyarakat Desa Batu Belubang Kabupaten Bangka Tengah. Prosiding Seminar Nasional Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan.
- Wetzel, R. G. 1983. Limnology Second Edition. Michigan State University. Saunders College Publishing.
- Wibisono, M. S. 2010. Pengantar Ilmu Kelautan Edisi 2. Jakarta: UI Press.
- Widiati, Retno. 2010. Pengaruh Perbedaan Kijing Taiwan (*Anodonta woodiana*) Terhadap Laju Penyerapan Logam Berat Pb (Timbal). Skripsi. Fakultas perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Wiryawan B., B. Marsjen, H. Adi Susanto, A. K. Mahi, M Ahmad, dan H. Poepitasari. 1999. Atlas Sumberdaya Wilayah Pesisir Lampung. Bandar Lampung: Pemda Tk I Lampung- CRMP Lampung.
- Wu, J. P., and H-C. Chen. 2005. Metallothionein induction and heavy metal accumulation in white shrimp *Litopenaeus vannamei* exposed to cadmium and zinc. *Journal Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* 140 : 383–394.
- Wulandari, E. 2011. Analisis Kandungan Logam Berat Timbal (Pb) dan Karakteristik Haemocyte Tiram (*Saccrostrea glomerata*) dari Perairan Pelabuhan Perikanan Nusantara Prigi Trenggalek, Jawa Timur. TESIS. Program Magister Budidaya Perairan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Wulandari, S. Y., B. Yulianto, G. W. Santosa dan K. Suwartimah. 2009. Kandungan Logam Berat Hg dan Cd dalam Air, Sedimen dan Kerang Darah (*Anadara granosa*) dengan Menggunakan Metode Analisis Pengaktifan Neutron (APN). *ILMU KELAUTAN*. 14 (3): 170 – 175.
- Yalynskaya, N.S. & Lopotun, A.G. (1993) Accumulation of microelements and heavy metals in plants of fish-rearing ponds. *Gidrobiologicheskii Zhurnal*, 29, 40 – 46.
- Yasuda, Y. 2000. Environmental change in eurasia. *Monsoon*. Vol 1(1), pp: 1-133.

Yulaipi, S., dan Aunurohim. 2013. Bioakumulasi logam berat timbal (Pb) dan hubungannya dengan laju pertumbuhan ikan mujair (*Oreochromis mossambicus*). *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. **2** (2) : 2337-3520.

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 iredalei.org*. Diakses tanggal 30 November 2014, pukul 13.00 WIB.

Zulnaidi, 2007. Metode Penelitian. Universitas Sumatera Utara. Medan.

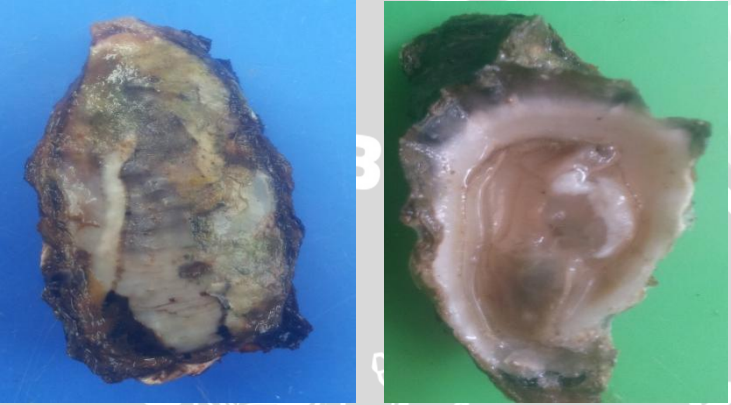


### Lampiran 1. Alat dan Bahan Penelitian


PROSEDUR	ALAT	BAHAN
<p>Pengukuran Kualitas Air</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Suhu</li> <li>• Oksigen Terlarut</li> <li>• pH</li> <li>• Salinitas</li> <li>• TOM</li> <li>• Logam Berat</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Termometer Hg</li> <li>• Pipet volume</li> <li>• Bola hisap</li> <li>• Pipet tetes</li> <li>• Botol winkler</li> <li>• Kotak pH standart</li> <li>• Refraktometer</li> <li>• Lampu Electroda Pb</li> <li>• Timbangan Sartorius</li> <li>• Oven</li> <li>• Hot plate</li> <li>• Beaker glass</li> <li>• Labu ukur</li> <li>• AAS</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Air sampel</li> <li>• MnSo<sub>4</sub></li> <li>• H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></li> <li>• Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></li> <li>• NaOH + KI</li> <li>• pH paper</li> <li>• Tissue</li> <li>• Tiram <i>Crassostrea iredalei</i></li> <li>• (HNO<sub>3</sub> : HCL) 1 : 1 sebanyak ±10-15 ml</li> <li>• Kertas saring</li> <li>• Aquades</li> <li>• Larutan standart</li> </ul>
<p>Pengambilan Organ</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sectio set</li> <li>• Cool box</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Plastik sampel</li> <li>• Lambung Tiram <i>Crassostrea iredalei</i></li> </ul>
<p>Prosedur Histopatologi</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Microtome</li> <li>• Water bath</li> <li>• Pinset</li> <li>• Inkubator</li> <li>• Keranjang khusus</li> <li>• Pisau</li> <li>• Mesin vakum</li> <li>• Cetakan</li> <li>• Bunsen</li> <li>• Freezer</li> <li>• Object glass</li> <li>• Object glass box</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Jaringan lambung tiram <i>Crassostrea iredalei</i></li> <li>• Paraffin cair</li> <li>• Kertas label</li> <li>• Alkohol 90%, 80%, 70%.</li> <li>• Alkohol absolute</li> <li>• Xyliol</li> <li>• Spiritus</li> </ul>

Lampiran 2. Tiram *Crassostrea cucullata*

a. Tiram *Crassostrea cucullata*

Jenis Tiram	Gambar Asli Hasil Pengamatan (Kamera Samsung Note 2)
<i>Crassostrea cucullata</i>	

b. Pengukuran pada tiram *Crassostrea cucullata*

Tiram	Foto Asli (Kamera Samsung Note 2)
<i>Crassostrea cucullata</i>	



Lampiran 3. Data Ukuran Sampel Tiram *Crassostrea cucullata*

Stasiun	Tiram	Panjang	Rata-Rata	Standar Deviasi	Lebar	Rata-Rata	Standar Deviasi	Tinggi	Rata-Rata	Standar Deviasi
1	1	1,98			0,96			1,70		
	2	2,02	2,07	0,13	0,95	0,95	0,19	1,37	1,47	0,0055
	3	2,23			0,95			1,34		
2	1	3,66	3,67	0,49	0,93			2,28		
	2	4,18			1,17	0,92	0,23	2,30	2,15	0,25
	3	3,19			0,67			1,88		
3	1	2,16	2,59	0,40	0,47			1,54		
	2	2,96			0,83	0,81	0,37	1,93	1,91	0,33
	3	2,65			1,13			2,28		

Lampiran 4. Data Logam Berat di Air

Lokasi	Stasiun	Logam Berat (ppm)		
		Pb	Cd	Hg
Prenduan (Sumenep)	1	0,031	0,013	0,008
	2	0,023	0,009	0,01
	3	0,008	0,007	0,008

Lampiran 5. Data Logam Berat pada Tiram *Crassostrea cucullata*

Logam Berat	Stasiun	Plot	Absorbansi	Kadar Logam Berat	Rata-rata	Standar Deviasi
Pb (mg/l)	Stasiun 1	1	0,0038	0,21	0,35	0,21177
		2	0,0043	0,24		
		3	0,0023	0,59		
	Stasiun 2	1	0,0029	0,75	0,76	0,0659
		2	0,0032	0,83		
		3	0,0027	0,70		
	Stasiun 3	1	0,0047	0,26	0,41	0,13367
		2	0,0018	0,46		
		3	0,002	0,52		
Cd (mg/l)	Stasiun 1	1	0,0005	0,07	0,09	0,01559
		2	0,0003	0,10		
		3	0,0003	0,10		
	Stasiun 2	1	0,0005	0,16	0,15	0,04073
		2	0,0006	0,19		
		3	0,0008	0,11		
	Stasiun 3	1	0,0002	0,06	0,11	0,04823
		2	0,0007	0,10		
		3	0,0005	0,16		
Hg (mg/l)	Stasiun 1	1	0,0005	0,05	0,07	0,03081
		2	0,0006	0,06		
		3	0,0003	0,11		
	Stasiun 2	1	0,0002	0,15	0,15	0,0365
		2	0,0005	0,18		
		3	0,0003	0,11		
	Stasiun 3	1	0,0004	0,04	0,14	0,08948
		2	0,0005	0,15		
		3	0,0006	0,22		

Lampiran 6 . Data Kadar Metallothionein (MT) pada Tiram

Stasiun	Plot	Ulangan	Absorbansi	Kadar MT	Rata-rata	Standar Deviasi	Standar Deviasi Rata-Rata
Stasiun 1	1	1	0,342	1300	1600	519,62	1301,316
		2	0,342	1300			
		3	0,360	2200			
	2	1	0,394	3900	3383	583,81	
		2	0,371	2750			
		3	0,386	3500			
	3	1	0,391	3750	4133	354,73	
		2	0,400	4200			
		3	0,405	4450			
Stasiun 2	1	1	0,405	4450	5283	1486,89	1101,514
		2	0,404	4400			
		3	0,456	7000			
	2	1	0,436	6000	5483	2712,1	
		2	0,474	7900			
		3	0,367	2550			
	3	1	0,371	2750	3483	652,56	
		2	0,396	4000			
		3	0,390	3700			
Stasiun 3	1	1	0,319	150	900	726,29	2300,322
		2	0,348	1600			
		3	0,335	950			
	2	1	0,344	1400	3133	2460,86	
		2	0,357	2050			
		3	0,435	5950			
	3	1	0,428	5600	5500	409,27	
		2	0,433	5850			
		3	0,417	5050			

Lampiran 7. Hubungan Ukuran Tiram dan Kadar Logam Berat Pb Terhadap Kadar Metallothionein pada Insang Tiram *C. Cucullata*

a. Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.786 <sup>a</sup>	.618	.491	1178.12704

a. Predictors: (Constant), Pb, ukuran

b. Dependent Variable: MT

b. ANOVA

Model	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Regression	1.349E7	2	6742839.009	4.858	.056 <sup>a</sup>
Residual	8327899.982	6	1387983.330		
Total	2.181E7	8			

a. Predictors: (Constant), Pb, ukuran

b. Dependent Variable: MT

c. Coefficients

Model	Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.	Collinearity Statistics	
	B	Std. Error	Beta			Tolerance	VIF
1 (Constant)	1184.033	1780.440		.665	.531		
ukuran	-289.050	1170.358	-.136	-.247	.813	.209	4.792
Pb	6450.026	3935.149	.905	1.639	.152	.209	4.792

Lampiran 8. Hubungan Ukuran Tiram dan Kadar Logam Berat Cd Terhadap Kadar Metallothionein pada Insang Tiram *C. Cucullata*

a. Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.952 <sup>a</sup>	.906	.875	583.08229

a. Predictors: (Constant), Cd, ukuran

b. Dependent Variable: MT

b. ANOVA

Model	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Regression	1.977E7	2	9886834.116	29.080	.001 <sup>a</sup>
Residual	2039909.768	6	339984.961		
Total	2.181E7	8			

a. Predictors: (Constant), Cd, ukuran

b. Dependent Variable: MT

c. Coefficients

Model	Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.	Collinearity Statistics	
	B	Std. Error	Beta			Tolerance	VIF
1 (Constant)	221.646	766.837		.289	.782		
ukuran	-625.871	460.125	-.295	-1.360	.223	.331	3.024
Cd	44351.189	8170.863	1.178	5.428	.002	.331	3.024

Lampiran 9. Hubungan Ukuran Tiram dan Kadar Logam Berat Hg Terhadap Kadar Metallothionein pada Insang Tiram *C. Cucullata*

a. Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.874 <sup>a</sup>	.763	.684	927.82030

a. Predictors: (Constant), Hg, ukuran

b. Dependent Variable: MT

b. ANOVA

Model	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Regression	1.665E7	2	8324237.500	9.670	.013 <sup>a</sup>
Residual	5165103.000	6	860850.500		
Total	2.181E7	8			

a. Predictors: (Constant), Hg, ukuran

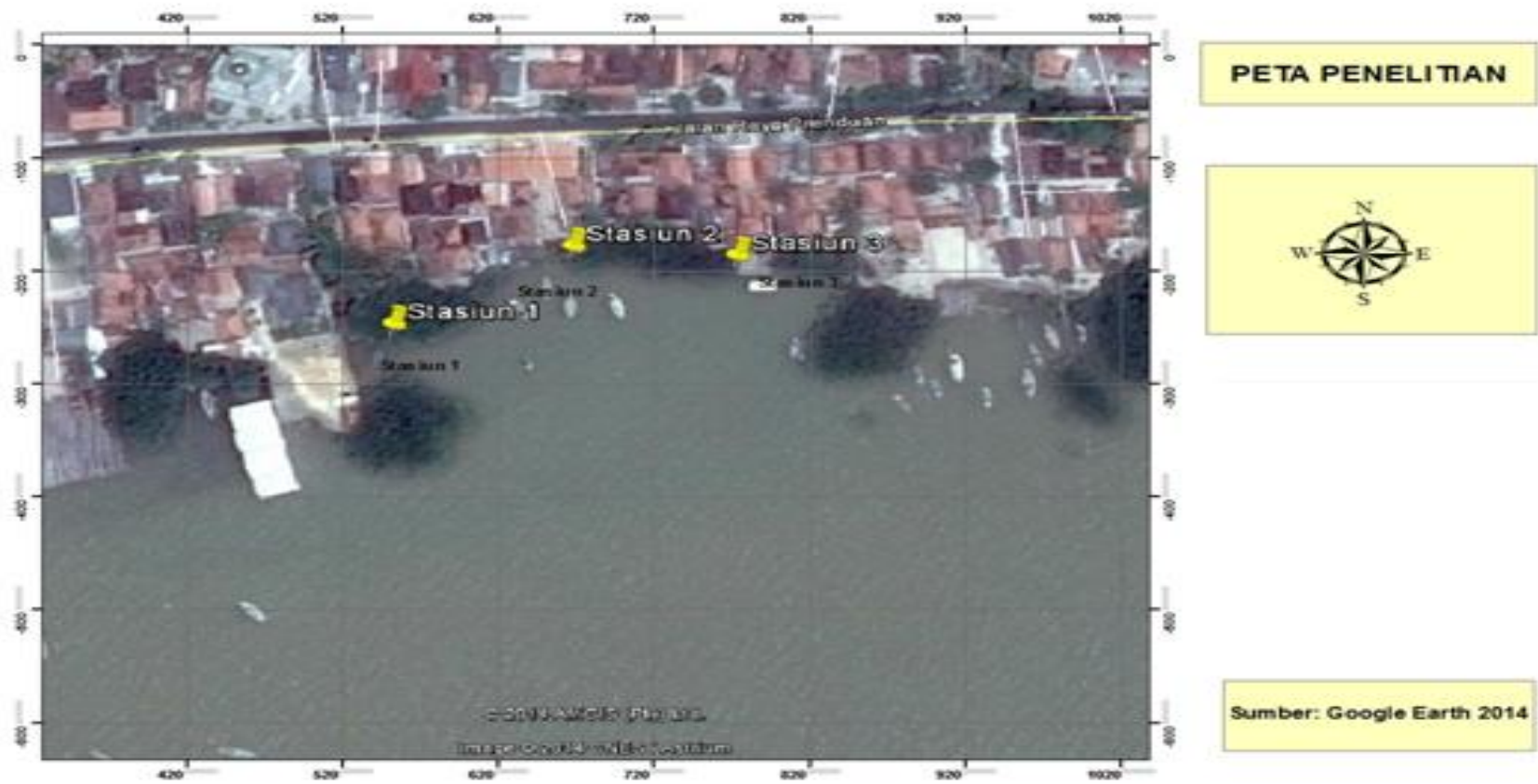
b. Dependent Variable: MT

c. Coefficients

Model	Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.	Collinearity Statistics	
	B	Std. Error	Beta			Tolerance	VIF
1 (Constant)	263.706	1226.605		.215	.837		
ukuran	360.211	562.919	.170	.640	.546	.559	1.788
Hg	20101.470	7104.401	.752	2.829	.030	.559	1.788

Lampiran 10. Peta dan Denah Lokasi Penelitian

a. Peta Lokasi Pantai Prenduan



repo

b. Denah Lokasi Pantai Prenduan

