

**EKSPRESI METALLOTHIONEIN (MT) PADA INSANG KERANG JAWA
(*Corbicula javanica*) DENGAN IMUNOHISTOKIMIA (IHK) DI
INSTALASI BUDIDAYA AIR TAWAR (IBAT) PUNTEN KOTA BATU**

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

Oleh :

**MITA NURHIDAYATI
NIM. 125080100111005**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2016**

**EKSPRESI METALLOTHIONEIN (MT) PADA INSANG KERANG JAWA
(*Corbicula javanica*) DENGAN IMUNOHISTOKIMIA (IHK) DI
INSTALASI BUDIDAYA AIR TAWAR (IBAT) PUNTEN KOTA BATU**

**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 :

**MITA NURHIDAYATI
NIM. 125080100111005**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2016**

SKRIPSI

EKSPRESI METALLOTHIONEIN (MT) PADA INSANG KERANG JAWA
(*Corbicula javanica*) DENGAN IMUNOHISTOKIMIA (IHK) DI
INSTALASI BUDIDAYA AIR TAWAR (IBAT) PUNTEN KOTA BATU

Oleh :

MITA NURHIDAYATI
NIM. 125080100111005

telah dipertahankan didepan penguji
pada tanggal 30 Maret 2016
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dosen Penguji I,



Dr. Ir Mulyanto, MS
NIP. 19600317 198602 1 001

Tanggal: 10 5 APR 2016

Dosen Penguji II,



Andi Kurniawan, S.Pi, M.Eng, D. Sc
NIP. 19790331 200501 1003

Tanggal:



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

Tanggal: 10 5 APR 2016

Menyetujui,
Dosen Pembimbing I,



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

Tanggal: 10 5 APR 2016

Dosen Pembimbing II,



Dr. Uun Yanuar, S.Pi, MSi
NIP. 19730404 200212 2 001

Tanggal:

10 5 APR 2016

PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

Saya menyatakan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam naskah skripsi ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh pihak lain untuk mendapatkan karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebut dalam sumber dan daftar pustaka.

Apabila ternyata naskah skripsi ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur jiplakan, saya bersedia skripsi ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh (S-1) dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku (UU No.20 Tahun 2003, Pasal 25 ayat 2 dan Pasal 70)



Malang, Maret 2016

Mahasiswa

Mita Nurhidayati
125080100111005

RINGKASAN

MITA NURHIDAYATI. Skripsi tentang Ekspresi Metallothionein (MT) pada Insang Kerang Jawa (*Corbicula Javanica*) dengan Imunohistokimia (IHK) di Instalasi Budidaya Air Tawar (IBAT) Punten Kota Batu (dibawah Bimbingan **Dr. Asus Maizar, SH., S.Pi., MP** dan **Dr. Uun Yanuar S.Pi MSi**)

IBAT Punten Kota Batu, merupakan salah satu area budidaya air tawar yang sangat potensial untuk dikembangkan dan dioptimalkan pemanfaatannya. IBAT Punten ini terdapat kolam tradisional, kolam semi intensif dan kolam intensif. Sumber air di kolam IBAT punten ini berasal dari sungai Brantas, akan tetapi aliran air dari sungai ke kolam ini sudah terkontaminasi oleh limbah dari berbagai kegiatan manusia di daerah pemukiman, pertanian, dan perkebunan yang berada di sekitar lokasi IBAT Punten tersebut. Limbah-limbah tersebut akan mengakibatkan terjadinya perubahan faktor fisika, kimia dan biologi di dalam perairan tersebut sekaligus dapat menyumbangkan masukan logam berat pada kolam-kolam yang berada di IBAT Punten tersebut.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar logam berat yang berada di perairan IBAT Punten dan untuk mengetahui jumlah (densitas dan intensitas) Metallothionein serta untuk mengetahui hubungan (densitas dan intensitas) Metallothionein dengan logam berat (Pb, Cd dan Hg) yang terekspresi pada insang *Corbicula javanica* di IBAT Punten Kota Batu, Jawa Timur.

Berdasarkan penelitian, kadar logam berat yang berada di air Pb berkisar antara 0.0055 ppm-0.0073ppm. Dari hasil tersebut dapat dilihat bahwa kadar Pb masih dibawah baku mutu sesuai dengan Peraturan Pemerintah No. 82 Tahun 2001 yaitu Baku mutu Pb dalam perairan sebesar 0,03 ppm. Kadar logam berat Cd berkisar antara 0.0026ppm-0.0054 ppm. Dari hasil tersebut dapat dilihat bahwa kadar Cd masih dibawah baku mutu sesuai dengan Peraturan Pemerintah No. 82 Tahun 2001 yaitu baku mutu Cd sebesar 0,01 ppm. Kadar logam berat Hg berkisar antara 0.0029ppm-0.0054ppm. Dari hasil tersebut dapat dilihat bahwa kadar Hg sudah berada di atas baku mutu yaitu sesuai Peraturan Pemerintah No. 82 Tahun 2001, yaitu baku mutu Hg di dalam perairan tidak boleh lebih dari 0,002ppm. Dari hasil penelitian pula, ditemukan bahwa nilai densitas Metallothionein pada stasiun I berkisar antara $10,42 \times 10^{-3} \text{ MT}/\mu\text{m}^2$ – $12,33 \times 10^{-3} \text{ MT}/\mu\text{m}^2$, stasiun II berkisar antara $11,44 \times 10^{-3} \text{ MT}/\mu\text{m}^2$ – $12,99 \times 10^{-3} \text{ MT}/\mu\text{m}^2$ dan stasiun III berkisar antara $9,61 \times 10^{-3} \text{ MT}/\mu\text{m}^2$ – $12,15 \times 10^{-3} \text{ MT}/\mu\text{m}^2$. Hasil densitas metallothionein sesuai dengan respon insang kerang jawa terhadap penyerapan logam berat yang menunjukkan kadar logam berat dalam kerang pada stasiun II lebih tinggi jika dibandingkan dengan stasiun I dan III. Seperti halnya dengan hasil analisis densitas metallothionein pada insang kerang, hasil penelitian terhadap intensitas Metallothionein menunjukkan bahwa densitas dan intensitas metallothionein memiliki hubungan yang linear. Intensitas Metallothionein yang ditemukan tertinggi pada stasiun II yang merupakan kolam tradisional. Intensitas Metallothionein pada stasiun I berkisar antara 477173 pixel – 726050 pixel, stasiun II berkisar antara 527582 pixel – 695002 pixel dan pada stasiun III berkisar antara 374925 pixel – 693255 pixel. Intensitas warna

Metallothionein berbeda-beda pada setiap stasiun tergantung pada tingkat penyerapan logam berat oleh tubuh kerang.

Berdasarkan hasil regresi menggunakan SPSS 16.0 didapatkan hubungan korelasi antara Densitas Metallothionein dengan logam berat Pb, Cd dan Hg sangat kuat, karena r korelasinya berkisar antara 0.779-0.980. Begitu pula dengan Intensitas Metallothionein yang memiliki dengan logam berat Pb, Cd dan Hg sangat kuat, karena r korelasinya berkisar antara 0.811-0.861. Oleh karena itu, disarankan untuk menggunakan Metallothionein dalam kerang sebagai biomarker terhadap pencemaran logam berat. Di samping itu juga perlu dilakukan pengawasan lebih lanjut dan pengendalian terhadap pencemaran logam berat baik di perairan maupun di kerang jawa dengan cara meminimalisir pembuangan limbah yang mengandung logam berat ke dalam perairan serta untuk pemanfaatan kerang perlu dilakukan pengolahan terlebih dahulu sebelum dikonsumsi.



KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kehadiran Allah SWT karena berkat rahmat dan hidayah-Nya lah saya dapat menyelesaikan Usulan Skripsi ini dengan judul **“Ekspresi Metallothionein (MT) Pada Insang Kerang Jawa (*Corbicula Javanica*) Dengan Imunohistokimia (IHK) di Instalasi Budidaya Air Tawar (IBAT) Punten Kota Batu.”**

Skripsi disusun untuk memenuhi tugas akhir untuk memperoleh gelar sarjana. Dalam penulisan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada pihak-pihak yang membantu dalam menyelesaikan skripsi ini yaitu:

1. Allah SWT, yang telah memberikan segala nikmat dan kemudahan serta kekuatan hati yang luar biasa kepada saya selama ini.
2. Orang tua (Alm) dan wali saya nenek Jemiton serta paklek saya Yudi Prasetya yang selalu mendukung dan mendo'akan saya.
3. Bapak Dr. Asus Maizar Suryanto.H., S.Pi, MP selaku dosen pembimbing I yang dengan sabar telah memberikan masukan dan membimbing serta menasehati saya.
4. Ibu Dr. Uun Yanuar, S.Pi, MSi selaku dosen pembimbing II yang dengan sabar telah memberikan masukan dan membimbing serta menasehati saya.
5. Bapak Dr. Ir Mulyanto, MS selaku dosen penguji I yang dengan seangtiasa telah memberikan masukan untuk kesempurnaan laporan saya.
6. Bapak Andi Kurniawan,S.Pi, M.Eng, D.Sc selaku dosen penguji II yang dengan senangtiasa telah memberikan masukan untuk kesempurnaan laporan saya.
7. Muhammad Rizal lelaki yang aku cintai dan aku sayangi, yang selalu membantu, mengingatkan, memberikan semangat dan dukungan serta do'a kepada penulis dalam penyelesaian skripsi ini.

8. Shinta Hiflina Yuniari kakak tingkat S2, yang selalu membantu, mengingatkan, memberikan semangat dan dukungan serta do'a kepada penulis dalam penyelesaian skripsi ini.
9. Erma Suroyya, Ana Latifatus S, A'in Ainul Ghufroh, Novian Ade Sayitna, Satrio Sandi Pamungkas, Ahmad Affandi, M. Muzammil, dan Angga Suseso selaku teman satu tim Penelitian saya yang susah senang selalu bersama.
10. Ayu, Reni, Erta, Mely, Lia, Risa, dan Nong selaku sahabat-sahabat dan teman kos saya dan selalu membantu serta memberi semangat saya dalam mengerjakan laporan.

Dalam penulisan ini penulis sudah berusaha semaksimal mungkin untuk menuangkan opini maupun gagasan yang penulis ketahui. Semua materi yang berkaitan dengan judul sudah penulis uraikan secara rinci. Untuk itu kritik dan saran dari semua pihak sangat penulis harapkan demi penyempurnaan skripsi ini.

Akhirnya penulis berharap semoga Allah SWT memberikan imbalan yang setimpal pada mereka yang telah memberikan bantuan, dan dapat menjadikan semua bantua ini sebagai ibadah, amiin ya robbal' Alamiin. Kritik dan saran dari pembaca yang bersifat membangun akan penulis jadikan sebagai koreksi dalam penulisan berikutnya.

Malang, Maret 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERNYATAN ORISINALITAS SKRIPSI	iii
RINGKASAN	iv
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Kegunaan.....	4
1.5 Waktu dan Tempat.....	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Kerang Jawa	5
2.1.1 Biologi Kerang Jawa.....	6
2.1.2 Anatomi Kerang Jawa	7
2.1.3 Klasifikasi <i>Corbicula javanica</i>	8
2.1.4 Fisiologi Kerang jawa (<i>Corbicula javanica</i>)	9
2.2 Metallothionein	12
2.3 Pengikatan Logam Berat oleh Metallothionein.....	13
2.4 Ekpresi Metallothionein dengan Prosedur Imunohistokimia.....	14
2.5 Logam Berat.....	15
2.5.1 Timbal (Pb).....	15
2.5.2 Kadmium (Cd)	16
2.5.3 Merkuri (Hg)	17
2.6 Kualitas Fisika dan Kimia Air	18
2.6.1 Suhu.....	18
2.6.2 pH	18
2.6.3 Dissolved Oxygen (DO).....	19
3. METODE PENELITIAN	20
3.1 Materi Penelitian.....	20
3.2 Alat dan Bahan.....	20
3.3 Metode Pengumpulan Data	20
3.4 Penentuan Stasiun	21



3.5	Prosedur.....	21
3.5.1	Pengambilan Sampel	21
3.5.2	Prosedur Pengukuran Kerang	22
3.5.3	Preparansi Sampel.....	22
3.5.4	Pembuatan Irisan Jaringan.....	23
3.5.5	Pewarnaan Imunohistokimia.....	25
3.5.6	Pengamatan dengan Mikroskop.....	26
3.5.7	Perhitungan Densitas dan Intensitas	27
3.5.8	Analisis Data	28
3.5.9	Analisis Kualitas Air Pendukung	29
3.5.10	Prosedur Analisis Logam (Pb,Cd dan Hg)	30
4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	33
4.1	Deskripsi Lokasi Penelitian.....	33
4.1.1	Stasiun I	33
4.1.2	Stasiun II	34
4.1.3	Stasiun III	35
4.2	Sebaran ukuran Sampel.....	35
4.3	Hasil Analisis Logam Berat pada Insang <i>Corbicula javanica</i>	38
4.4	Ekspresi Metallothionein pada Insang <i>Corbicula javanica</i> dengan Teknik Imunohistokimia.....	41
4.5	Hasil Analisis Densitas dan Intensitas Metallothionein pada Insang <i>Corbicula javanica</i>	44
4.5.1	Hasil Analisis Densitas Metallothionein pada Insang <i>Corbicula javanica</i>	44
4.5.2	Hasil Analisis Intensitas Metallothionein pada Insang <i>Corbicula javanica</i>	46
4.6	Analisis Hubungan Densitas Metallothionein dengan Logam Berat pada Insang <i>Corbicula javanica</i>	50
4.7	Analisis Hubungan Intensitas Metallothionein dengan Logam Berat pada Insang <i>Corbicula javanica</i>	54
4.8	Analisis Parameter Kualitas Air.....	57
4.8.1	Suhu.....	57
4.8.2	pH	58
4.8.3	Dissolved Oksigen (DO)	59
4.8.4	Analisis Logam Berat di Air	60
5.	KESIMPULAN SARAN	63
5.1	Kesimpulan.....	63
5.2	Saran.....	63
	DAFTAR PUSTAKA.....	64
	LAMPIRAN.....	71

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Data Hasil Analisis Densitas Metallothionein	44
2. Data Hasil Analisis Rata-Rata Intensitas Metallothionein	47
3. Data Rata-Rata Analisis Kualitas Air di IBAT Punten	57



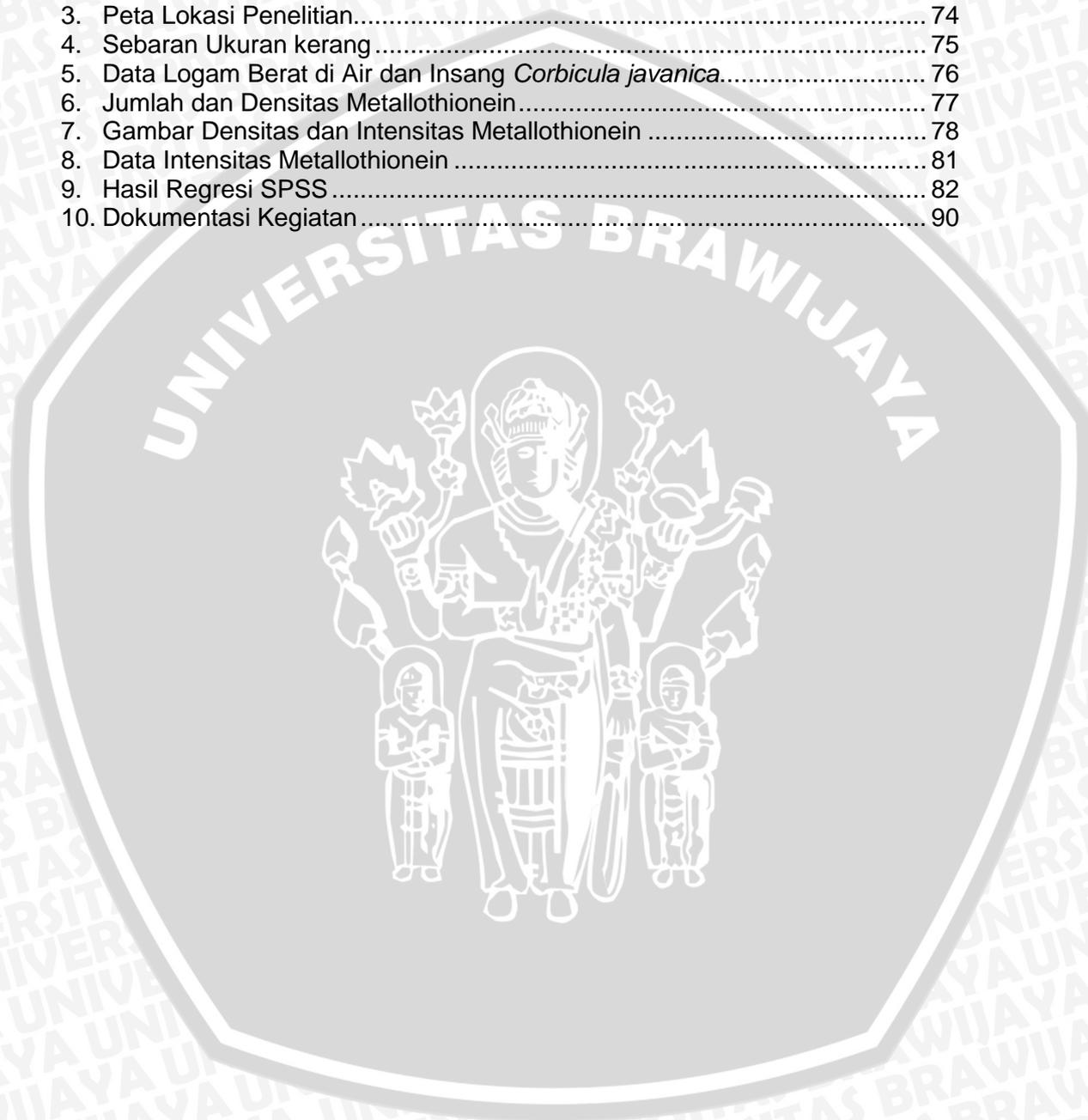
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Anatomi <i>Corbicula javanica</i>	7
2. <i>Corbicula javanica</i>	9
3. Metallothionein yang mengikat Cd	14
4. Bagian-bagian sisi cangkang bivalvia.....	23
5. Stasiun I.....	34
6. Stasiun II.....	34
7. Stasiun III.....	35
8. Hasil Ukuran Rata-Rata Ukuran Kerang Jawa (<i>Corbicula javanica</i>)	36
9. Grafik Rata-Rata Kandungan Logam Berat Pb, Cd dan Hg pada Insang <i>Corbicula javanica</i>	39
10. Ekspresi Metallothionein (A) positif kuat (B) positif sedang (C) positif lemah.....	41
11. Ekspresi Metallothionein (A) stasiun I (B) stasiun II (C) stasiun III.....	42
12. Grafik Rata-Rata Densitas Metallothionein pada Insang <i>Corbicula javanica</i>	45
13. Intensitas Metallothionein (A) stasiun 1 (B) stasiun II (C) stasiun III	46
14. Grafik Rata-Rata Intensitas Metallothionein pada Ingsang <i>Corbicula javanica</i>	48
15. A. Grafik hubungan densitas Metallothionein dan logam berat Pb B. Grafik hubungan densitas Metallothionein dan logam berat Cd C. Grafik hubungan densitas Metallothionein dan logam berat Hg	50
16. A. Grafik hubungan intensitas Metallothionein dan logam berat Pb. B. Grafik hubungan Metallothionein dan logam berat Cd. C. Grafik hubunganintensitas Metallothionein dan logam berat Hg	54
17. Kadar Logam Berat Pb, Cd dan Hg di Air pada Tiga Stasiun	60



LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat dan Bahan Penelitian.....	71
2. Denah kolam IBAT Punten.....	73
3. Peta Lokasi Penelitian.....	74
4. Sebaran Ukuran kerang.....	75
5. Data Logam Berat di Air dan Insang <i>Corbicula javanica</i>	76
6. Jumlah dan Densitas Metallothionein.....	77
7. Gambar Densitas dan Intensitas Metallothionein	78
8. Data Intensitas Metallothionein	81
9. Hasil Regresi SPSS	82
10. Dokumentasi Kegiatan.....	90



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perairan merupakan badan air yang berada di permukaan bumi. Perairan dapat dibagi dua yaitu perairan darat dan perairan laut. Perairan darat dapat berupa perairan tawar. Perairan tawar dapat berupa perairan yang mengalir atau perairan yang tergenang. Salah satu contoh perairan mengalir adalah sungai sedangkan perairan tergenang meliputi danau, kolam, waduk, rawa dan sebagainya (Effendi, 2003).

IBAT Punten Kota Batu, merupakan salah satu area budidaya air tawar yang sangat potensial untuk dikembangkan dan dioptimalkan pemanfaatannya. IBAT Punten ini memiliki jenis kolam beton, semi beton dan kolam tanah. Sumber air di kolam IBAT punten ini berasal dari aliran sungai Prambatan. Aliran sungai Prambatan ini daerah pemukiman, pertanian, dan perkebunan yang berada di sekitar lokasi IBAT Punten. Adanya aktifitas tersebut akan cenderung mengakibatkan meningkatnya beban pencemaran masuk perairan yang akan menyebabkan terjadinya perubahan faktor fisika, kimia dan biologi di dalam perairan. Bahan pencemar yang masuk diantaranya logam berat. Masukan logam berat di perairan akan direspon oleh peningkatan kadar protein Metallothionein sebagai pengikat logam pada tubuh organisme misalnya kerang jawa (*Corbicula javanica*) yang hidup di perairan tersebut.

Jenis kerang - kerangan sangat baik digunakan sebagai indikator tingkat pencemaran suatu perairan, karena kerang ini mempunyai sifat adalah menyaring makanan (*filter feeder*) dan hidup menetap (*sessil*). Dengan demikian akan terjadi akumulasi bahan kimia yang terlarut di dalam air pada tubuhnya (Broom, 1985). Kerang merupakan kelompok molusca dari kelas bivalvia, yang bernafas menggunakan insang. Salah satu spesies kerang yang terdapat di

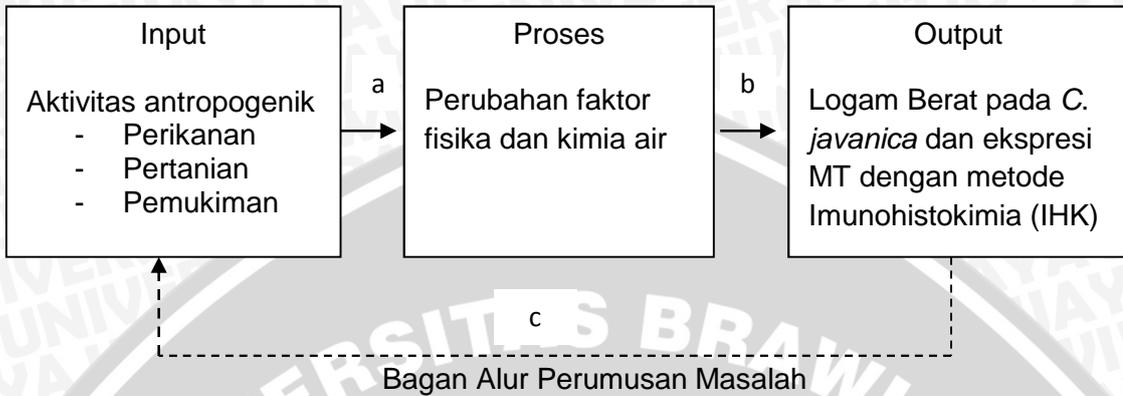
perairan Indonesia adalah kerang jawa (*Corbicula javanica*). Remis (*Corbicula javanica*) merupakan salah satu jenis kerang air tawar yang pada umumnya dikonsumsi oleh masyarakat.

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

Logam berat diserap oleh tubuh hewan perairan kebanyakan dalam bentuk ion melalui insang dan saluran pencernaan. Logam dapat tertimbun dalam jaringan terutama di hati dan ginjal. Ion logam yang masuk kedalam jaringan makhluk hidup bersenyawa dengan bahan kimia jaringan makhluk hidup membentuk senyawa kompleks organik protein disebut metallothionein (Nurtoni *et al.*, 1984). Metallothionein (MT) adalah protein dengan berat molekul rendah, ditandai dengan tingginya kandungan sistein. MT merupakan kelompok logam yang mengandung masing-masing dua tiga dan empat ion logam divalent (Carpene *et al.*, 2007). Menurut Murthy *et al.* (2011), Metallothionein (MT) adalah protein kaya sistein yang mengikat logam dan ditemukan dalam berbagai organisme termasuk bakteri, jamur dan semua tanaman dan spesies hewan eukariotik. Metallothionein mengikat logam esensial dan non esensial. Oleh karena itu diperlukan informasi tentang metallothionein selain dikaitkan dengan keberadaan logam-logam di perairan. Hal tersebut karena Metallothionein diyakini dapat digunakan sebagai biomarker pencemaran logam berat di perairan.

1.2 Rumusan Masalah

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



Keterangan:

- Aktivitas antropogenik di sekitar IBAT Punten yaitu seperti perikanan atau budidaya ikan, pertanian dan pemukiman warga akan menghasilkan limbah yang jika di buang ke perairan dapat mempengaruhi kualitas air serta mempengaruhi konsentrasi logam berat dalam perairan.
- Perubahan kualitas air akibat pencemaran logam berat akan mempengaruhi kandungan MT pada tubuh organisme sebagai protein pengikat logam berat. Perairan yang mengandung logam berat di duga akan mempengaruhi kadar MT nya. Pada penelitian ini dikaji ekspresi densitas dan intensitas MT pada Insang yang berfungsi sebagai alat pernafasan serta dapat dijadikan sebagai biomarker dengan mengetahui ekspresi densitas dan intensitas melalui metode Imunohistokimia (IHK).
- Gambaran mengenai hubungan MT dengan kadar Pb pada insang kerang jawa (*Corbicula javanica*) dapat dijadikan biomarker pencemaran dasar dalam upaya pengelolaan pencemaran di IBAT Punten.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar logam berat yang berada di perairan IBAT Punten, untuk mengetahui jumlah (densitas dan intensitas) Metallothionein dan untuk mengetahui hubungan (densitas dan intensitas) Metallothionein dengan logam berat (Pb, Cd dan Hg) yang terekspressi pada insang *Corbicula javanica* di IBAT Punten Kota Batu, Jawa Timur.

1.4 Kegunaan

Kegunaan dari penelitian ini adalah memberikan informasi terkait hubungan antara ekspresi metallothionein pada insang *Corbicula javanica* dengan logam berat Pb, Cd dan Hg di IBAT Punten yang nantinya dapat digunakan untuk bahan acuan dalam pengelolaan IBAT Punten serta dapat mengendalikan aktivitas manusia di sekitarnya dan juga sebagai bahan rujukan bagi ilmu pengetahuan dan teknologi pada bidang teknik biomarker lingkungan dengan mengetahui kadar metallothionein pada insang kerang.

1.5 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2015 di IBAT Punten Kota Batu, Jawa Timur. Pengamatan histopatologi dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, analisis kadar metallothionein dilakukan di Laboratorium Fisiologi Anatomi (FAAL) Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Analisis logam berat dilakukan di Laboratorium Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya dan analisis kualitas air dilakukan secara insitu.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kerang Jawa

Kerang merupakan hewan akuatik yang hidup pada substrat dasar perairan dan ada juga yang menempel pada substrat keras pada badan perairan. Kerang termasuk dalam kelas Pelecypoda dalam kelompok Moluska berdasarkan karakteristik yang dimiliki seperti kaki, insang dan cangkangnya (Talman dan Keough, 2001). Kerang hidup pada semua tipe perairan yaitu air tawar, estuari dan perairan laut. Kerang laut terdistribusi dari daerah intertidal, perairan laut dangkal dan ada yang mendiami perairan laut dalam (Nurdin, 2009).

Kerang memiliki kemampuan mengumpulkan makanan dalam sedimen dengan kaki panjangnya. Kerang dalam jumlah besar terdapat dalam sedimen dan biasanya < 3 cm. Di Eropa ada morfologi yang berbeda dengan beragam panjang atau rasio tinggi kulit dan warna kulit. Hal ini berlaku secara umum *Corbicula javanica* berada di muara sungai dengan variasi kecil (Minchin, 2008).

Beberapa spesies kerang memiliki strategi tertentu untuk beradaptasi terhadap lingkungan. Diantaranya kerang yang hidup di substrat dasar akan memiliki kaki dan sifons yang sudah teradaptasi dengan tempat hidupnya. Kaki digunakan untuk bergerak secara horizontal sebagai alat untuk berpindah dan gerakan vertikal untuk menggali substrat (Baron dan Jacques, 1992). Sifons kerang yang terdiri dari inhalat dan exhalant sudah teradaptasi dengan kedalaman substrat.

Secara umum habitat kerang jawa berada di sedimen sungai dan danau. Habitat yang didiami yaitu di lapisan yang memiliki kesuburan oligotrofik atau eutrofik pada sungai dan danau akan memiliki oksigen yang rendah karena sedimen berlumpur. Sedangkan untuk sedimen berpasir, kerikil dan berbatu, juga

terdapat kerang tetapi akan mengalami irigasi dan drainase sehingga dapat mentolerir suhu pada 2°C-34 °C dan mentolerir salinitas 5 ‰ dengan jangka waktu yang singkat hingga 14 hari. Toleran terhadap daerah-daerah tertentu.

2.1.1 Biologi Kerang Jawa

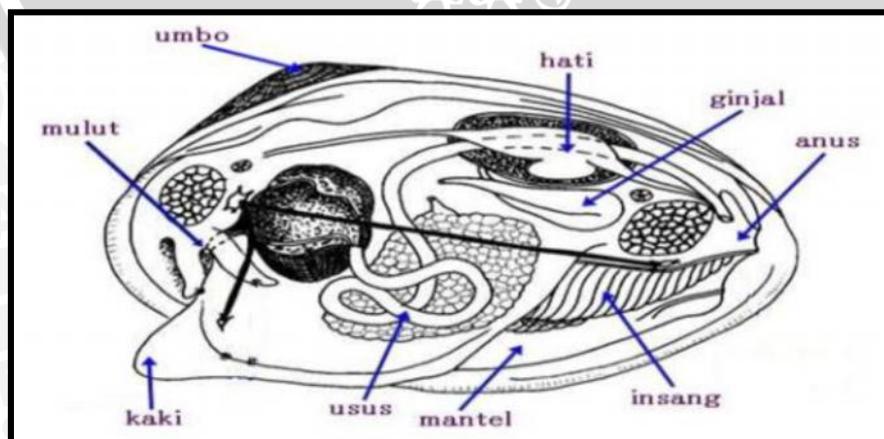
Menurut Minchin, (2008) menyatakan mekanisme penyebaran kerang secara biologi yaitu pediveligers menghasilkan sebuah byssus yang menyebabkan ia terseret oleh air arus, kerang muda dan dewasa dapat menghasilkan string lendir yang juga dapat mengakibatkan kerang tersebar. Hal tersebut juga dapat disebarkan oleh burung dan mamalia. Reproduksi hemaphrodite (silang dan reproduksi sendiri) menggunakan tahap pediveliger kaki renang dengan panjang 200µm. Mampu bereproduksi pada suhu 15 °C dan ukurannya sekitar 6-10 mm pada usia tiga bulan dengan lebih dari satu induk tahun akhir musim semi ke musim gugur.

Faktor biologi yang mempengaruhi kehidupan kerang laut adalah fitoplankton, zooplankton, zat organik tersuspensi dan makhluk hidup di lingkungannya (Debenay dan Tack, 1994). Kerang mendapatkan makanan dengan *feeding filter* menggunakan sifons. Secara ekologi, filtrasi yang dilakukan oleh kerang digunakan untuk menghindari kompetisi makanan sesama spesies. Biologi kerang jawa ujung sifons sejajar dengan permukaan substrat, sedangkan pada kerang kopah posisi ujung sifonsnya berada di dalam substrat atau di atas permukaan substrat. Masing-masing sifons kerang yang hidup di substrat memiliki sensor dan perilaku berbeda terhadap partikel makanan (Bachok *et al.*, 2006). Nurdin *et al.* (2006) menemukan kerang dapat menyeleksi partikel makanan yang akan difiltrasi dan dimakan. Partikel makanan tersebut dikeluarkan oleh exhalant sifons dan terakumulasi di permukaan substrat di sekitar sifons.

2.1.2 Anatomi Kerang Jawa

Bivalvia meliputi kerang, tiram, remis dan sebangsanya. Memiliki tubuh *lateral compresses* (pipih pada salah satu sisi), dan tubuh moluska tertutup oleh cangkang yang berasal dari sekretnya sendiri dengan dua bagian yang disebut *valves*. Bivalvia tidak mempunyai kepala dan radula (Castro dan Huber, 2007). Moluska tersebar luas dalam habitat laut, air tawar dan darat, tetapi lebih banyak terdapat di lautan (Brotowidjoyo, 1994).

Tubuh kerang 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. Kerang termasuk momomary, yaitu hewan yang memiliki otot tunggal yang berfungsi untuk membuka dan menutup cangkang. Seperti pada semua molusca, cangkang kerang dibentuk oleh mantel dengan cara mengeluarkan sel-sel yang dapat membentuk struktur cangkang dengan corak warna yang berbeda-beda tergantung pada faktor lingkungan dan genetik. Mantel membungkus organ bagian dalam dan memisahkan dengan bagian cangkang, selain itu juga berfungsi untuk menyeleksi unsur-unsur yang masuk kedalam tubuh dan jika dalam tubuhnya terdapat kotoran maka mantel akan menyemburkan kotoran itu keluar (Syazili, 2011). Bagian dalam dari kerang dapat dilihat pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Anatomi *Corbicula javanica* (FAO, 1998)

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

Secara umum morfologi kerang jawa tidak jauh berbeda dengan kerang lainnya yang termasuk ke dalam famili Arcidae yang memiliki ciri cangkang memanjang atau membulat, cangkang sama tebal, skulptur memiliki rusuk radial, biasanya ditutupi oleh rambut tebal dan periostrakum menebal. Daerah ligamen terletak diantara kedua cangkang (Kastoro, 1977)

Kerang yang hidup pada masing-masing habitat memiliki organ khusus yang sudah teradaptasi seperti byssus, kaki dan sifons. Kerang yang hidup menempel di substrat akan mengembangkan organ byssus, sedangkan kaki tidak berkembang. Kerang yang hidup di substrat dasar perairan, organ kaki akan lebih berkembang dan tidak memiliki byssus. Kakinya berupa suatu sol atau telapak kaki yang lebar untuk melata dan mendorong hewan ini dengan gerakan otot atau gerakan bulu getar atau dengan kedua-duanya. Selain itu, organ kaki mengalami perkembangan, tergantung pada kedalaman kerang tersebut hidup dalam substrat (Nurdin *et al.*, 2006).

2.1.3 Klasifikasi *Corbicula javanica*

Spesies ini memiliki cangkang yang kuat dan simetris, bentuk cangkang agak bundar. Cangkang luar berwarna abu-abu kecoklatan. Lebar cangkang dapat mencapai 3-4 cm. Remis hidup dengan cara membenamkan diri dalam substrat. Berikut ini adalah klasifikasi dari kerang jawa (*Corbicula javanica*) menurut Zipcodezoo (2015), adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Mollusca
Class	: Bivalvia
Ordo	: Veneroidea
Family	: Corbiculidae
Genus	: Corbicula
Species	: <i>Corbicula javanica</i>

Bentuk tubuh dan warna dari kerang jawa (*Corbicula javanica*) dapat dilihat pada

Gambar 2.



Gambar 2. *Corbicula javanica* (Pigneur et al., 2011)

2.1.4 Fisiologi Kerang Jawa (*Corbicula javanica*)

Fisiologi pada bivalvia umumnya memiliki kaki kerang berbentuk pipih secara lateral dan mengarah ke bagian anterior sebagai adaptasi untuk meliang. Gerak kaki menjulur diatur oleh kombinasi tekanan darah dan otot protractor anterior dan gerak menarik kaki ke dalam cangkang oleh sepasang otot retraktor anterior dan posterior untuk merayap dalam substrat pasir dan lumpur. Kemudian, sistem pencernaan dari Kerang Jawa meliputi mulut, kerongkongan, lambung, usus dan berakhir melalui anus. Sistem organ pencernaan kerang

digunakan untuk menelan dan mencerna makanan serta ekskresi dari feses (Tripod, 2010).

Menurut Galtsoff (1964), sistem saraf dari bivalvia berupa ganglion yaitu ganglia anterior, ganglia pedal, dan ganglia posterior. Visceral dan cerebral ganglia bergabung dan dihubungkan dengan cereo-visceral yang berbentuk U. Serebral ganglia terletak di esophagus. Saraf circumpallial terdapat di sepanjang tepi mantel, serta jumlah saraf yang berasal dari ganglia tampak meluas ke bagian tubuh yang lain.

Sistem peredaran darah dari bivalvia yang berkembang dengan baik pada bilik jantung yang memiliki fungsi untuk memompa darah. Darah melewati insang dimana oksigen dapat diperoleh dari air dan dimana karbondioksida dapat dilepaskan. Sistem peredaran darah bivalvia adalah sistem terbuka karena darah masuk ke dalam ruang terbuka pada satu titik selama peredarannya. Pada semua jenis bivalvia terdapat saluran peredaran darah sepanjang mantel, disini merupakan tempat tambahan terjadinya oksigenasi. Darah akan kembali dari mantel atau dari ginjal langsung ke jantung tergantung pada jenis spesies tertentu (Wijarni, 1990). Pada bivalvia, sel darah tidak terbatas pada pembuluh darah, kemudian darah tersebar ke seluruh jaringan. Sejumlah besar darah akan terkumpul pada permukaan mantel dan insang. Jika terjadi kerusakan pada jaringan bivalvia maka akan terjadi peredaran darah sangat lambat yang melalui permukaan tubuh. Suatu proses ini berlangsung secara berkelanjutan yang bisa dipercepat oleh kondisi yang merugikan terutama oleh luka pada suatu jaringan (Galtsoff, 1964).

Menurut Galtsoff (1964), makanannya adalah apa saja yang dapat ditangkap. Jika fitoplankton hanya tersedia sedikit maka akan memakan detritus. Dalam waktu tiga jam moluska dapat mengambil 200 juta makanan. Umumnya fitoplankton yang melimpah di air juga akan terdapat dalam perut moluska.

Menurut penelitian Lesmana *et al.* (2013), menyatakan bahwa isi lambung pada kerang terdapat bahan organik (*detritus*) dan beberapa jenis plankton. Plankton yang ditemukan di dalam lambung kerang yaitu filum chlorophyta, cyanophyta dan chrysophyta. Hasil analisis yang dilakukan Irianto *et al.*,(1964), pada kedalaman sampai dengan 10 m, baik siang maupun malam ternyata tidak memperlihatkan variasi yang besar terhadap kandungan fitoplankton. Hal tersebut menunjukkan bahwa kerang melakukan penyaringan makanan setiap saat.

Kerang tergolong *filter feeder* yaitu jenis hewan yang mendapatkan makanan dengan jalan menyaring air yang masuk ke dalam tubuhnya. Volume air yang dapat disaring oleh tiram adalah 2,5 liter/jam. Makanan yang masuk bersama air tadi digerakkan, diperas, lalu dicerna dengan bantuan cilia (rambut getar) pada tubuhnya. Cilia mampu bergerak 2-20 kali per detik. Makanan tiram dapat berupa zooplankton, fitoplankton, bakteri, flagellata, protozoa, detritus, alga, dan berbagai zat yang tersuspensi dalam perairan tempat tinggalnya. Alat pencernaannya berturut-turut terdiri dari mulut yang tidak berahang atau bergigi, sepasang labial pals yang bersilia, esofagus, lambung, usus, rektum, dan anus. Selain alat pencernaan, di dalam tubuh kerang terdapat pula hati yang menyelubungi dinding lambung, ginjal, pembuluh darah, dan pembuluh urat saraf (Ricomarsen, 2010).

Mekanisme penyerapan makanan pada kerang menurut Galtsoff (1964), makanan yang sudah sampai di mulut akan masuk ke esophagus diteruskan ke lambung. Makanan akan dipecah-pecah dalam proses pencernaan kemudian yang tercerna dalam lambung akan diserap. Partikel makanan yang relatif besar dan belum tercerna di lambung akan dimasukkan ke *crystallin style sac* untuk dicerna lebih lanjut. Proses pencernaan dilambung dan *crystallin sac* selain dipecah-pecah juga dibantu oleh enzim yang ada di dalamnya. Langkah

selanjutnya makanan akan masuk ke usus, partikel makanan yang sudah tercerna akan didorong oleh silia untuk di masukkan ke dalam vakuola dari sel-sel digestif kemudian diaktifkan oleh enzim dan diedarkan ke sel-sel lain.

2.2 Metallothionein

Metallothionein merupakan protein yang sangat peka dan akurat sebagai indikator pencemaran. Hal ini didasarkan pada suatu fenomena alam di mana logam-logam dapat tersekap di dalam jaringan tubuh organisme yang dimungkinkan karena adanya protein tersebut. Dengan demikian, metallothionein merupakan protein pengikat logam (*metal-binding protein*) yang berfungsi dan berperan dalam proses pengikatan/penyekapan logam di dalam jaringan setiap makhluk hidup (Noel-Lambot *et al.*, 1978).

Menurut Murthy *et al.* (2011), Metallothioneins (MT) adalah protein yang mengikat logam berat yang kaya sistein ditemukan di berbagai organisme termasuk bakteri, jamur serta semua spesies tanaman dan hewan eukariotik. MTs mengikat logam berat esensial dan non esensial. Produksi MT dievaluasi dengan metodologi spektrofotometri sederhana. Studi ini dijelaskan bahwa konsentrasi metallothionein dengan berbagai konsentrasi timbal meningkatnya konsentrasi timbal.

Menurut Amiard *et al.* (2006), Metallothionein (MT) adalah protein non-enzimatik dengan berat molekul rendah, konten sistein tinggi, tidak ada asam amino aromatik dan stabilitas panas. Kelompok tiol (-SH) dari sistein residu memungkinkan MT untuk mengikat logam berat tertentu. MT pertama ditemukan di korteks ginjal kuda dan MT seperti protein telah dilaporkan di banyak vertebrata termasuk banyak spesies ikan. Metallothioneins juga tampaknya memiliki peran lain termasuk perlindungan terhadap radiasi pengion dan pertahanan antioksidan yang lebih umum. Sehingga organisme sebelum terkena

logam seperti kadmium akan menolak stres pengoksidasi yang lebih baik, sebagai akibat dari induksi MT yang tanpanya membatasi efek hidroksil (OH) dan superoksida (O_2^-).

2.3 Pengikatan Logam Berat oleh Metallothionein

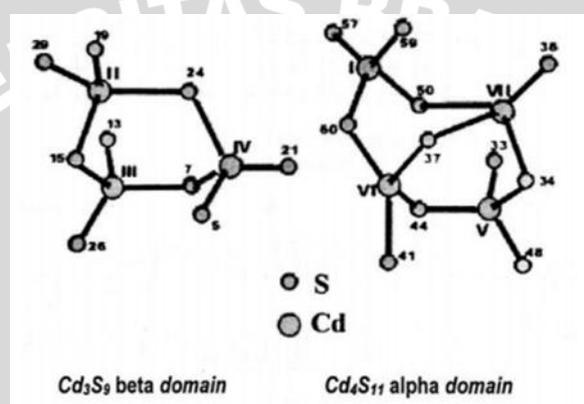
Metallothionein merupakan protein pengikat logam (*metal-binding protein*) yang berperan dalam proses pengikatan ataupun pengekapan logam di dalam jaringan setiap makhluk hidup. Biomarker merupakan akhir dari uji ekotoksikologi yang menunjukkan efek pada organisme hidup. Salah satu kunci fungsi dari biomarker adalah sebagai tanda peringatan dini, dari suatu pengaruh senyawa toksik secara biologi dan biomarker dipercaya sebagai respon pada sub organisme (molekuler, biokimia dan fisiologi) reaksi awal sebelum respon terjadi pada tingkatan organisasi (*spektrum*) biologi yang lebih tinggi (Hanson 2008).

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, dimana 1 atom logam tersebut misalnya Cd, Zn, atau Hg (Lasut, 2002).

Soemirat (2005) menyatakan bahwa pengikatan logam berat membentuk metallothionein tersebut diyakini sebagai mekanisme untuk pertahanan dan perlindungan yang mencegah logam tersebut mempengaruhi protein-protein lain yang penting dalam proses metabolisme tubuh. Dengan kata lain logam-logam

berat tersebut dapat menginduksi sintesis metallothionein. Metallothionein mampu mengikat logam berat dan dapat digunakan sebagai penanda adanya logam berat yang berpotensi racun.

Pada manusia dan mamalia, Metallothionein 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 (Nugroho, 2004).

2.4 Ekspresi Metallothionein dengan Prosedur Imunohistokimia

Imunohistokimia adalah suatu metode pedeteksi keberadaan molekul atau macam-macam komponen yang terdapat di dalam sel atau jaringan dengan menggunakan prinsip reaksi antara antigen dengan antibodi. Metode imunohistokimia berdasarkan pada penggunaan suatu antibodi yang spesifik yang dilabel dengan ikatan kimia pada suatu zat. (Unitly *et al.*, 2010).

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

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

Metode imunohistokimia dulunya diperkenalkan dalam mempelajari reaksi imun organisme. Kepentingan imunohistokimia sangat besar karena pada kenyataannya, kita dapat menentukan asal sel dari hormon tertentu. Spesifitas metode seluruhnya tergantung pada, apakah antigen yang digunakan dapat dipisahkan tanpa kontaminasi zat lainnya. Karena itu penting kontrol metode ini yang terdiri atas pemeriksaan kemurnian antigen (Geneser, 1994).

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

2.5 Logam Berat

2.5.1 Timbal (Pb)

Menurut Muhaemin (2005), kelarutan Pb dalam air media sangatlah tergantung pada kondisi pH, konsentrasi klorida dan suhu air. Kondisi pH tinggi, potensial redoks akan rendah sehingga logam-logam biasanya akan menjadi lebih aktif dalam pembentukan kompleks dengan senyawa organik dan dapat pula membentuk senyawa lebih mudah larut dalam air. Pada pH 6 reaksi hidrolisis dan presipitasi Pb fosfat dan Pb sulfide dapat membentuk kompleks

$\text{Pb}(\text{OH})^+$ terlarut yang dominan pada pH antara 8,1 - 8,2. Tetapi bila konsentrasi ion klorida cukup tinggi, maka kompleks tersebut menjadi tak dominan dan digantikan oleh senyawa PbCl_2 . Senyawa $\text{Pb}(\text{OH})_2$ yang tak larut akan terbentuk sampai pH 10.

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

2.5.2 Kadmium (Cd)

Logam Cd atau kadmium mempunyai penyebaran yang sangat luas di alam. Sumber kadmium dapat berasal dari pabrik peleburan besi, baja, produksi semen, pembakaran sampah, dan penggunaan logam yang berhubungan dengan hasil produksinya (pabrik baterai, aki, pigmen warna, pestisida, gelas, dan keramik) (Darmono, 1995). Sementara itu, sumber Cd dalam laut terutama berasal dari alam yaitu letusan gunung berapi, debu yang terbawa angin, lahan pertanian yang menggunakan pupuk yang mengandung kadmium dan aliran sungai yang berasal dari lahan tersebut. Sumber lainnya merupakan hasil buangan manusia berasal dari pertambangan, ekstraksi dan pengolahan Zn (Laws, 1993).

Keracunan kadmium dapat bersifat akut dan kronis. Organ tubuh yang menjadi sasaran keracunan kadmium adalah ginjal dan hati. Kadmium lebih beracun bila terhisap melalui saluran pernafasan dari pada saluran pencernaan. Kasus keracunan akut kadmium kebanyakan dari menghisap debu dan asap

kadmium, terutama kadmium oksida (CdO) yang dapat menyebabkan emfisema atau gangguan paru-paru yang jelas terlihat (Darmono, 1995).

2.5.3 Merkuri (Hg)

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

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

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

Menurut FAO (1998), mengemukakan bahwa merkuri yang dapat diakumulasi adalah merkuri yang berbentuk methyl merkuri, yang mana dapat

diakumulasi oleh ikan atau shellfish, dan juga merupakan racun bagi manusia. Salah satu dampak dari pencemaran merkuri ini adalah pada ikan, apabila merkuri masuk ke dalam air yang mengakibatkan zat tersebut larut di dalam air dan ikan-ikan disana memakan tumbuhan yang ada di air dimana tumbuhan tersebut telah tercemar zat merkuri maka penyakit yang ditimbulkan antara lain terjadinya toksisitas.

2.6 Kualitas Fisika dan Kimia Air

2.6.1 Suhu

Suhu merupakan salah satu variabel lingkungan yang sangat penting. Kenaikan suhu dalam tubuh yang pada hakekatnya dapat meningkatkan laju metabolisme yaitu mengakibatkan naiknya kecepatan reaksi kimiawi. Kenaikan suhu akan meningkatkan laju pertumbuhan dalam tubuh sampai batas tertentu dan pada kenaikan suhu yang drastis justru menurunkan laju pertumbuhan dalam tubuh (Rahardjo *et al.*, 2011).

Setiap kenaikan suhu sebesar 10 °C kecepatan reaksi kimia dan biologis meningkat 2 kali lipat. Antara lain oksigen yang terlarut dalam air, kecepatan dari proses metabolisme dan percepatan proses dekomposisi (Boyd, 1982). Menurut Rahman (2006), suhu yang optimal yang baik untuk pertumbuhan kerang air tawar adalah pada suhu yang berkisar antara 15°C -25°C.

2.6.2 pH

Salah satu parameter kimia dalam memantau kestabilan parameter (derajat keasaman suatu perairan). Perubahan nilai pH pada suatu perairan terhadap organisme akuatik mempunyai batasan tertentu dengan nilai pH yang bervariasi, tergantung pada suhu air laut, konsentrasi oksigen terlarut dan adanya anion dan kation (Simanjuntak, 2009).

Organisme air dapat hidup dalam suatu perairan yang mempunyai nilai pH netral dengan kisaran toleransi antara asam lemah sampai basa lemah. Karena jika tidak berada pada rentang kisaran toleransi terhadap pH akan menyebabkan gangguan metabolisme dan respirasi organisme perairan (Barus, 2001). Menurut Chay (1990), besarnya angka pH dalam suatu perairan dapat dijadikan indikator adanya keseimbangan unsur-unsur kimia dan unsur-unsur hara yang bermanfaat bagi kehidupan vegetasi akuatik. Kondisi pH air juga mempunyai peran penting bagi kehidupan kerang dan fauna lain yang hidup di perairan tersebut. Umumnya perairan dengan tingkat $pH < 4,8$ dan $pH < 9,2$ sudah dianggap tercemar.

2.6.3 Dissolved Oxygen (DO)

Dissolved Oxygen (DO) adalah gas oksigen yang terlarut dalam air. Oksigen terlarut merupakan faktor penting dalam pengaturan proses metabolisme, pertumbuhan dan proses berkembang biak dari suatu organisme. Sumber dari oksigen terlarut dalam perairan yaitu berasal dari difusi O_2 yang terdapat di atmosfer atau difusi dari udara (Novonty, 1994 dalam Yuliana, 2005).

Biota air membutuhkan oksigen yang digunakan untuk pembakaran bahan bakarnya (makanan) untuk melakukan aktivitas, seperti aktivitas berenang, pertumbuhan, reproduksi dan sebaliknya. Oleh karena itu, ketersediaan oksigen bagi biota air menentukan lingkaran aktivitas dan konversi pakannya. Laju pertumbuhan pun bergantung pada oksigen, asalkan kondisi lainnya optimum. Oleh karena itu kekurangan oksigen dalam air dapat mengganggu kehidupan biota air, termasuk kecepatan pertumbuhannya (Kordi, 2008)

3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

Materi dalam penelitian ini adalah kadar logam berat Pb, Cd dan Hg di perairan dan insang kerang jawa (*Corbicula javanica*) dan ekspresi densitas dan intensitas Metallothionein (MT) pada insang kerang jawa di IBAT Punten Kota Batu Jawa Timur. Parameter kualitas air yang digunakan adalah parameter fisika yaitu suhu dan parameter kimia yaitu derajat keasaman (pH), oksigen terlarut (DO).

3.2 Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan pada penelitian skripsi, terlampir pada **Lampiran 1**.

3.3 Metode Pengumpulan Data

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

Dalam penelitian ini, peneliti mengamati ekspresi densitas dan intensitas Metallothionein pada insang kerang jawa dari beberapa stasiun di kolam budidaya IBAT Punten Kota Batu. Kerang dari lokasi tersebut kemudian dibedah, dan diambil insang dan dilakukan pengamatan dengan teknik imunohistokimia untuk mengetahui densitas dan intensitas metallothionein. Kegiatan berikutnya

adalah pengamatan kualitas air kolam pada saat sampling untuk mengetahui hubungan ekspresi densitas dan intensitas metallothionein pada insang kerang jawa.

3.4 Penentuan Stasiun

Penelitian ini dilaksanakan dengan melakukan survei lokasi terlebih dahulu di Instalasi Budidaya Air Tawar (IBAT) Punten Kota Batu yang ditinjau dari kadar logam berat Pb, Cd dan Hg. Lokasi pengambilan sampel terletak di 3 stasiun yang berada di kolam budidaya di IBAT Punten Kota Batu di 3 plot (inlet, tengah dan outlet) dan 3 kali ulangan. Penentuan stasiun ini didasarkan pada kolam yang berbeda sumber aliran airnya dan lokasi dari kolam tersebut. Berdasarkan pertimbangan tersebut dan hasil pengamatan di lapang, maka stasiun (1) merupakan kolam semi beton dan digunakan sebagai kolam induk. Kolam ini terletak diatas dan sumber airnya berasal dari parit kecil yang dilairkan ke kolam yang airnya berasal dari sumber aliran sungai perambatan sebelum masuk ke area IBAT Punten Kota Batu dan melewati area permukiman warga sekitar. Stasiun (2) merupakan kolam tradisional (kolam benih) dan terletak di tengah yang aliran airnya melalui parit kecil , sedangkan stasiun (3) merupakan kolam semi beton yang terletak paling bawah. Kolam ini berdekatan dengan kolam pengedapan yang berada di pintu keluar air.

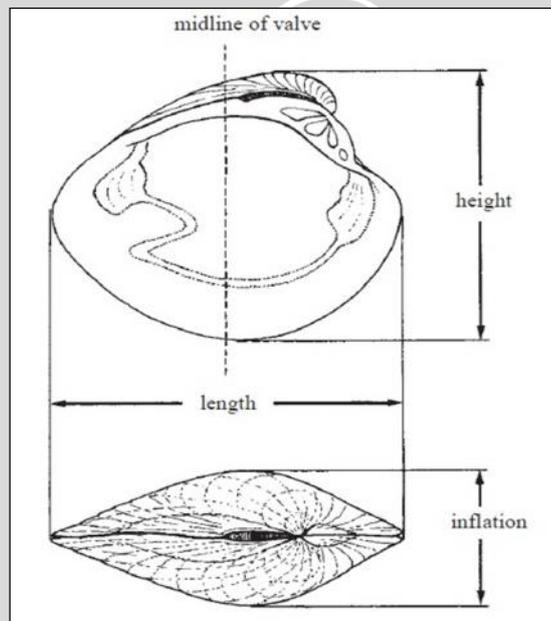
3.5 Prosedur

3.5.1 Pengambilan sampel

Prosedur pengambilan sampel pada penelitian skripsi ini menggunakan metode random sampling. Pengambilan sampel dilakukan pada 3 stasiun yang telah ditentukan. Pengamatan dilakukan sebanyak 3 kali dalam 1 stasiun agar data yang didapat lebih akurat dan dapat mewakili semua kerang jawa yang terdapat di tiap-tiap stasiun yang telah di tentukan.

3.5.2 Prosuder Pengukuran Kerang

Prosedur yang dilakukan untuk mengukur panjang, lebar dan tinggi kerang yaitu disiapkan jangka sorong yang digunakan untuk mengukur panjang, lebar serta tinggi kerang. 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 kerang menggunakan jangka sorong. Dicatat hasilnya. FAO (1998) mengutarakan bagian dari sisi-sisi cangkang kerang 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).

3.5.3 Preparasi Sampel

Metode preparasi sampel yang dilakukan selama proses penelitian skripsi ini yaitu dengan langkah – langkah sebagai berikut:

- Mengambil kerang jawa pada stasiun yang telah ditentukan.
- Membersihkan kerang jawa dengan air yang mengalir hingga bersih dari lumpur dan parasit.

- Memasukkan kerang jawa yang telah dibersihkan kedalam wadah kantong plastik ukuran 1 kg.
- Selanjutnya mengikat kantong plastik yang telah terisi kerang jawa dengan karet gelang kemudian memberikan label dan keterangan untuk menandai biota agar tidak tertukar.
- Setelah itu, memasukkannya ke dalam cool box yang berisi es batu dalam kemasan agar biota tidak membusuk saat perjalanan.
- Selanjutnya membuat irisan jaringan kerang jawa di Laboratorium

3.5.4 Pembuatan Irisan Jaringan

1. Pembedahan dan Pengawetan Insang Kerang

Menurut Farabi (2012), pembedahan dan pengawetan insang kerang dapat dilakukan dengan cara:

- a. Membuka cangkang kerang menggunakan “betel” tipis
- b. Membedah organ dalam menggunakan sectio set
- c. Mengambil insang kerang dan ditimbang
- d. Memasukkan Insang kedalam botol kaca yang telah diisi dengan larutan formalin 10%.

2. Pengamatan Histopatologi

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

- a. **Organ difiksasi dengan formalin 10% selama semalam.**
- b. **Pemotongan jaringan Makros.**
 - Mengambil organ yang telah difiksasi.
 - Memotong jaringan dengan ketebalan 2 - 3 mm

- Menyusun jaringan kedalam *tissue cassette* sesuai dengan kode.
 - Memasukkan *tissue cassette* ke dalam keranjang khusus.
- c. Proses Dehidrasi**
- Memasukan keranjang ke dalam *tissue tex processor* untuk diproses secara otomatis.
 - Jaringan mengalami proses dehidrasi bertahap dengan putaran waktu : alkohol 70% (2 jam), alkohol 80% (2 jam), alkohol 90% (2 jam), alkohol absolut (2 jam), alkohol absolut (2 jam), xylol (2 jam), xylol (2 jam).
- d. Proses Vakum**
- Meletakkan keranjang di dalam mesin vakum untuk penghilangan udara dari jaringan dengan temperatur (50-60°C) selama 30 menit.
 - Mengambil keranjang dan mengeluarkan *tissue cassette*.
- e. Pengeblokan**
- Menghangatkan parafin cair, pinset dan cetakan.
 - Menuangkan parafin cair ke dalam cetakan.
 - Memasukkan jaringan dari *Tissue Tex Prosesor* kedalam cetakan yang telah diisi parafin cair, tekan jaringan agar semakin menempel di dasar cetakan.
 - Mengambil tutup cetakan, letakkan diatasnya dan menekannya. Lalu selanjutnya memasang etiket di pinggir.
 - Membiarkan sample sampai membeku.
 - Setelah beku, mengeluarkan dari cetakan. Lalu merapikan sisi-sisi blok dan mengganti etiket dengan yang permanen.
 - Sebelum memotong , harus mendinginkan paraffin blok dengan es batu terlebih dahulu sampai ± 30 menit.
- f. Pemotongan dengan Mikrotom**
- Menjepit blok pada mikrotom

- Memotong blok paraffin dengan pisau mikrotom dengan kemiringan: $\pm 30^\circ$.
Tebal $\pm 3-5$ mikron.
- Memasukkan hasil pemotongan (berupa pita/irisan tipis yang saling bersambung) ke dalam waterbath yang diisi air yang sudah hangat 40°C - 50°C . Kemudian mengambilnya dengan kaca objek (Meletakkan potongan di waterbath tidak boleh terbalik).
- Menyusun kaca objek dalam *object glass box*.
- Memasukkan *Object glass box* ke dalam inkubator bersuhu 60°C .
- Lakukan medeparafinasi preparat (blok parafin) dengan xylol sebanyak 3 kali masing-masing 3 menit.
- merehidrasi preparat dengan menggunakan etanol 100%, 95% dan 70%. Masing-masing selama 2 menit, 2 menit, dan 1 menit.

3.5.5 Pewarnaan Imunohistokimia

Prosedur pewarnaan dengan menggunakan sampel bagian insang kerang jawa (*Corbicula javanica*) dilakukan di Laboratorium FAAL Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang. Menurut Larasati (2010), yaitu sebagai berikut:

- Masing-masing sample ditetesi Phospate Buffer Saline (PBS) sebanyak 3 kali setiap 5 menit. PBS berfungsi dalam menstabilkan pH jaringan.
- Menetesi EDTA (ethylene diamine tetra acetic acid) dan dibiarkan selama 10 menit. Berfungsi sebagai fiksasi jaringan.
- Menetesi Na-sitrat dan dibiarkan selama 10 menit.
- Membilas dengan PBS sebanyak 3 kali setiap 5 menit.
- Menetesi H_2O_2 0,3% dan dibiarkan selama 30 menit.
- Membilas dengan PBS sebanyak 3 kali setiap 5 menit.
- Menginkubasi serum 1% di PBS dan menunggu selama 30 menit.



- Menetesi antibodi Metallothionein dan diinkubasi di kulkas selama 1 malam.
- Membilas dengan PBS sebanyak 3 kali setiap 5 menit.
- Menetesi 2ndAB in PBS dengan perbandingan 1:200 dan dibiarkan selama 60 menit.
- Membilas dengan PBS sebanyak 3 kali setiap 5 menit.
- Menetesi detection antibodi (SAHRP) hingga terendam dan dibiarkan selama 60 menit.
- Membilas dengan PBS sebanyak 2 kali setiap 5 menit.
- Mencuci dengan aquades dan dibiarkan selama 5 menit.
- Menetesi DAB (Dimetil Amino Benzaldehid) dengan perbandingan 1:45 hingga berwarna coklat.
- Membilas dengan D2H2O.
- Menetesi dengan haematoxylin selama 10 menit.
- Membilas dengan D2H2O.
- Membilas dengan air kran.
- Memberi tutup berupa cover glass.

3.5.6 Pengamatan dengan Mikroskop

Pada pengamatan mikroskop, digunakan mikroskop Olympus CX31 dengan prosedur :

- Menyalakan power on pada mikroskop.
- Mengatur diafragma pada mikroskop
- Meletakkan preparat pada meja mikroskop dan jepit menggunakan penjepit mikroskop.
- Mengatur perbesaran pada mikroskop dengan perbesaran 400 x
- Mengamati bagian insang kerang jawa (*Corbicula javanica*)

- Mengambil gambar menggunakan kamera digital Casio QV-R200

3.5.7 Perhitungan Densitas dan Intensitas

Prosedur analisis densitas Metallothionein dapat dilakukan dengan menggunakan software ImageJ. Prosedur penggunaan ImageJ adalah sebagai berikut:

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

http://biodev.ece.ucsb.edu/projects/bioimage/downloader/download/category/7/file/34/ICTN_1_6.jar

- Meplugin ITCN di program files > imageJ > plugins > paste
- Membuka imageJ
- Memilih file > open > memilih gambar yang akan di analisis
- Menekan edit > invert, untuk mengetahui bagian yang akan dihitung
- Menekan image > type > 8 bit, untuk mengubah gambar menjadi grayscale
- Menekan Plugins > ITCN > count
- Menekan Result, hasil jumlah MT pada gambar akan muncul

Prosedur analisis intensitas metallothionein dapat dilakukan dengan menggunakan software ImageJ dengan prosedur sebagai berikut :

- Membuka imageJ
- Memilih file > open > pilih gambar yang akan di analisis
- Menekan analyze > set measurement > mencentang Area, Mean Gray Value, Integrated Density, Stdev dan Display label, Redirect to pada gambar yang dianalisis > OK
- Menekan "OVAL", elliptical or brush selections

- Mengarahkan ke gambar, untuk menyamakan lingkaran di gambar yang lain perhatikan navigation bar, catat weight dan height.
- Menekan M pada keyboard untuk mengetahui hasil ukuran warna.

3.5.8 Analisis Data

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

$$Y = a + bX$$

Keterangan:

Y :Variabel terikat (kadar densitas dan intensitas metallothionein pada insang kerang jawa)

a : Intersep atau perpotongan dengan sumbu tegak (y)

b : Kemiringan atau gradien variabel bebas

X : variabel bebas (kadar logam berat Pb, Cd, Hg pada insang kerang jawa)

3.5.9 Analisis Kualitas Air Pendukung

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

1. Suhu

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

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

2. pH

Menurut Armita (2011), prosedur atau tata cara pengukuran pH dengan pH *paper* adalah sebagai berikut :

- Menyiapkan pH paper dan kotak standart pH
- Mencilupkan pH paper ke air sampel, dan ditunggu \pm 2 menit
- Mengangkat pH paper lalu dikibas-kibaskan hingga setengah kering
- Mencocokkan perubahan warna pH paper dengan Kontak Standart pH
- Mencatat hasil pH nya.

3. Oksigen terlarut

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

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

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

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

Keterangan :

v : ml larutan Natrium Thiosulfat untuk titrasi

N : Normalitas larutan Natrium thiosulfat

V : Volume botol DO

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

1. Pengukuran logam berat pada sampel air

Pengukuran dilakukan dengan menggunakan metode AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometry*) yang dilakukan di laboratorium Kimia Analitik, Fakultas MIPA Universitas Brawijaya, Malang. Pengukuran sampel (dalam



bentuk cairan) dilakukan dengan menggunakan lampu katoda, metode yang biasa digunakan di laboratorium tersebut adalah sebagai berikut :

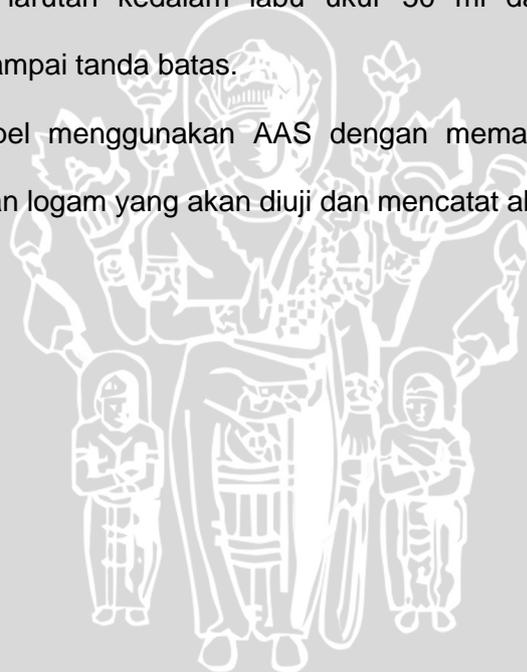
- Mengambil air sampel dengan pipet volume (50ml) kemudian memasukkannya ke erlenmeyer (100 ml).
- Menambahkan aquaregia sebanyak 5 ml kemudian memanaskannya diatas hot plate sampai kering lalu mendinginkannya.
- Menambahkan HNO₃ 2.5 N sebanyak 5 ml kemudian memanaskannya hingga mendidih lalu mendinginkannya.
- Menyaring sampel yang sudah dingin sebanyak 10 ml ke labu ukur dan menambahkan aquades sampai tanda batas kemudian dikocok sampai homogen.
- Mengukur sampel menggunakan AAS dengan memakai lampu katoda yang sesuai dengan logam yang akan diuji dan mencatat absorbansinya. (Misal : jika ingin menentukan kadar logam Pb maka menggunakan lampu Pb, begitu juga dengan logam lainnya menggunakan lampu yang sesuai) hingga didapatkan hasil.

2. Pengukuran logam berat pada Insang *Corbicula javanica*

Pengukuran kadar logam berat sampel *corbicula javanica* dilakukan dengan menggunakan metode AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometry*) yang dilakukan di Laboratorium Kimia Analitik, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya, Malang. Pengukuran sampel (dalam bentuk padatan) dilakukan dengan menggunakan lampu katoda, metode yang biasa digunakan di laboratorium tersebut adalah sebagai berikut :

- Menimbang sampel kering sebanyak 2gr kemudian memasukkan kedalam *beaker glass*.

- Menambahkan HNO₃ pekat sebanyak 30 ml dan mendinginkan 1 malam untuk permulaan proses dekomposisi.
- Memanaskan sampel selama 2 jam dan menjaga agar tidak sampai meluap.
- Menambahkan HNO₃ pekat sebanyak 10 ml kedalam beaker glass dan memanaskannya selama 2 jam.
- Menambahkan HNO₃ pekat lagi sebanyak 10 ml dan memanaskannya lagi selama 3 jam atau sampai diperoleh larutan jernih kekuning-kuningan (pemanasan dianjurkan sampai sisa HNO₃ menguap kemudian didinginkan).
- Memindahkan larutan kedalam labu ukur 50 ml dan menambahkan pelarut akuades sampai tanda batas.
- Mengukur sampel menggunakan AAS dengan memakai lampu katoda yang sesuai dengan logam yang akan diuji dan mencatat absorbansinya.



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Deskripsi Lokasi Penelitian

Instalasi Budidaya Air Tawar (IBAT) Punten berada di desa Sidomulyo, Kota Batu, Provinsi Jawa Timur. Lokasi desa terletak sekitar 1.100 meter dari permukaan air laut, dengan suhu udara berkisar antara 19°C-28°C, sedangkan suhu air berkisar antara 17°C-23°C, curah hujan rata-rata 2.000 mm per tahun. Pencapaian kearah lokasi relatif mudah, karena IBAT Punten terletak dipinggir jalan raya Malang-Batu, dan jarak dari ibu kota Kotatiff ± 10 Km. Adapun batas-batas IBAT Punten adalah :

- Sebelah Utara : Desa Punten
- Sebelah Selatan : Kota Batu
- Sebelah Barat : Gunung Sari
- Sebelah Timur : Desa Bumiaji

4.1.1 Stasiun Pengamatan I

Stasiun 1 di IBAT Punten Kota Batu merupakan kolam semi beton yang digunakan sebagai kolam induk, dengan luas kolam 720 m². Kolam semi beton merupakan suatu kolam yang pada bagian dasarnya merupakan kolam tanah dan pada bagian pinggiran kolam berupa beton. Stasiun 1 ini dipilih sebagai kolam pengambilan sampel karena mewakili kondisi kolam yang berada dibagian atas. Denah kolam di IBAT Punten disajikan pada **lampiran 2**. Sumber air dari stasiun 1 ini berasal dari parit kecil yang dialirkan ke kolam yang airnya berasal dari sumber Prambatan. Sebelum masuk ke area IBAT Punten Kota Batu, air ini melewati area pertanian milik warga sekitar Punten. Lokasi stasiun 1 di IBAT Punten Kota Batu dapat terlihat pada **Gambar 5**.



Gambar 5. Lokasi Stasiun 1

4.1.2 Stasiun Pengamatan II

Stasiun 2 di IBAT Punten Kota Batu ini yang dijadikan suatu tempat pengambilan sampel merupakan kolam tradisional yang digunakan sebagai kolam benih. Kolam tradisional merupakan suatu kolam yang seluruh bagiannya terbuat dari tanah, yaitu memiliki dasar kolam dan pinggirannya masih berupa tanah. Pada stasiun ini dipilih sebagai kolam pengambilan sampel karena mewakili kolam dibagian tengah. Denah kolam di IBAT Punten disajikan pada **lampiran 2**. Sumber airnya berasal dari parit kecil yang berasal dari aliran kolam yang berada di atas. Lokasi stasiun 2 tempat pengambilan sampel dapat terlihat pada **Gambar 6**.



Gambar 6. Lokasi Stasiun II

4.1.3 Stasiun Pengamatan III

Stasiun 3 yang ada di IBAT Punten Kota Batu ini dijadikan untuk tempat pengambilan sampel. Kolam ini merupakan kolam semi beton yang digunakan sebagai kolam pembesaran. Letaknya dibagian bawah di IBAT Punten Kota Batu. Kolam semi beton merupakan kolam yang bagian dasarnya berupa tanah dan bagian pinggirnya berupa beton. Stasiun 3 ini dipilih sebagai daerah pengambilan sampel *Corbicula javanica* karena mewakili kondisi kolam yang berada dibagian bawah yang ada di IBAT Punten Kota Batu. Pada stasiun 3 ini merupakan kolam yang berdekatan dengan kolam pengendapan yang berada di pintu keluar air dan dekat dengan kegiatan pertanian. Denah kolam di IBAT Punten disajikan pada **lampiran 2**. Sumber airnya, berasal dari berbagai macam kolam dan parit kecil yang airnya berasal dari kolam yang berada di atas. Lokasi stasiun 3 di IBAT Punten Kota Batu ini dapat terlihat pada **Gambar 7**.



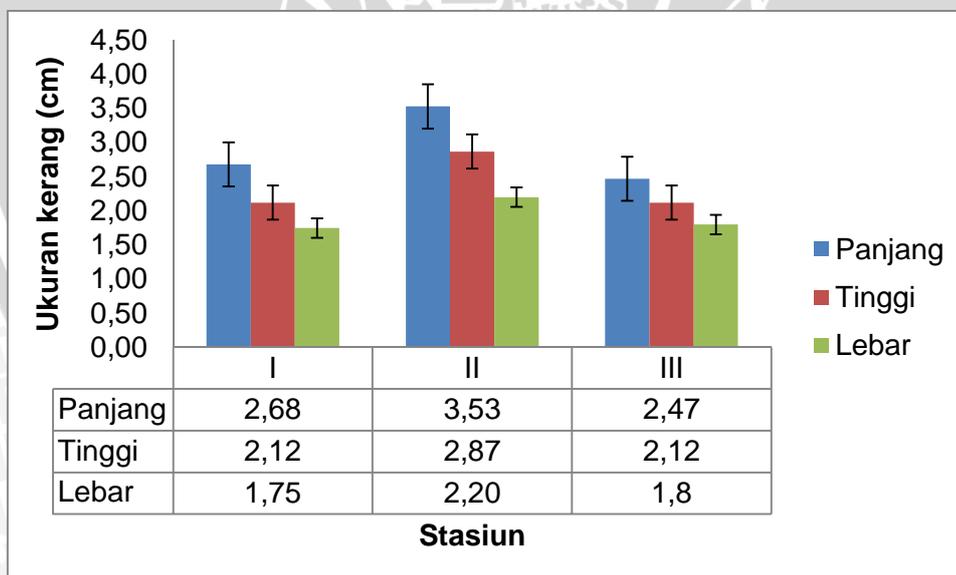
Gambar 7. Lokasi Stasiun III

4.2 Sebaran Ukuran Sampel

Sebaran ukuran sampel yang didapat pada saat penelitian yaitu dengan cara mengukur panjang, lebar dan tinggi dari cangkang kerang *Corbicula javanica* sebanyak 3 kali ulangan di 3 plot (inlet, tengah dan outlet) dalam masing-masing stasiun. Rata-rata ukuran sampel kerang *Corbicula javanica* yang didapatkan pada masing-masing stasiun berbeda-beda. Data ukuran kerang ini, didapatkan dari pengambilan sampel kerang pada masing-masing stasiun. Pada

stasiun I, rata-rata panjang kerang yaitu 2.63 cm, rata-rata lebar kerang 2,12 cm dan rata-rata tinggi kerang 1,75 cm. Pada stasiun II, rata-rata panjang kerang yaitu 3,53 cm, rata-rata lebar kerang 2,87 cm dan rata-rata tinggi kerang 2,20 cm. Pada stasiun III, rata-rata panjang kerang yaitu 2,47 cm, rata-rata lebar kerang 2,12 cm dan rata-rata tinggi kerang 1.8 cm. Sebaran ukuran sampel kerang *Corbicula javanica* dapat dilihat pada **Lampiran 4**.

Ukuran yang didapatkan pada masing-masing stasiun berbeda-beda. Ukuran ini menentukan jumlah Metallothionein yang terkandung pada kerang *Corbicula javanica*. Pada stasiun II didapatkan ukuran kerang yang lebih besar dibandingkan ukuran kerang pada stasiun I dan III. Menurut Ramon and Richardsdson (1992), ukuran kerang sekaligus mempresentasikan usia dari kerang, yang biasanya dapat dilihat melalui ukuran cangkang sekaligus jumlah *bend* yang terdapat pada cangkang kerang tersebut. Hasil penentuan sebaran ukuran sampel yang terbesar hingga terkecil dapat dilihat pada **Gambar 8**.



Gambar 8. Hasil Ukuran Rata-Rata Ukuran Kerang jawa (*Corbicula javanica*)

Ukuran kerang dari masing-masing stasiun berbeda-beda, dimana ukuran rata-rata kerang paling besar berada di stasiun II, dan ukuran kerang terkecil berada di stasiun III. Ukuran kerang juga akan mempengaruhi kadar

Metallothionein pada kerang tersebut. Selain itu umur kerang juga sangat berpengaruh terhadap daya akumulasi logam berat yang ada di lingkungannya. Diduga semakin besar ukuran kerang (tua), semakin banyak kerang tersebut menyerap logam berat dan semakin banyak pula produksi Metallothionein yang dihasilkan oleh kerang tersebut. Hal ini sesuai menurut Amiard *et al.* (2006) bahwa metabolisme dan ukuran kerang sangat mempengaruhi terhadap kandungan Metallothionein pada kerang tersebut, dimana semakin besar ukuran kerang maka kadar Metallothionein juga semakin tinggi. Begitu juga Carpena *et al.*, (2007), mengatakan salah satu faktor yang berpengaruh terhadap kadar Metallothionein dalam kerang yaitu umur kerang.

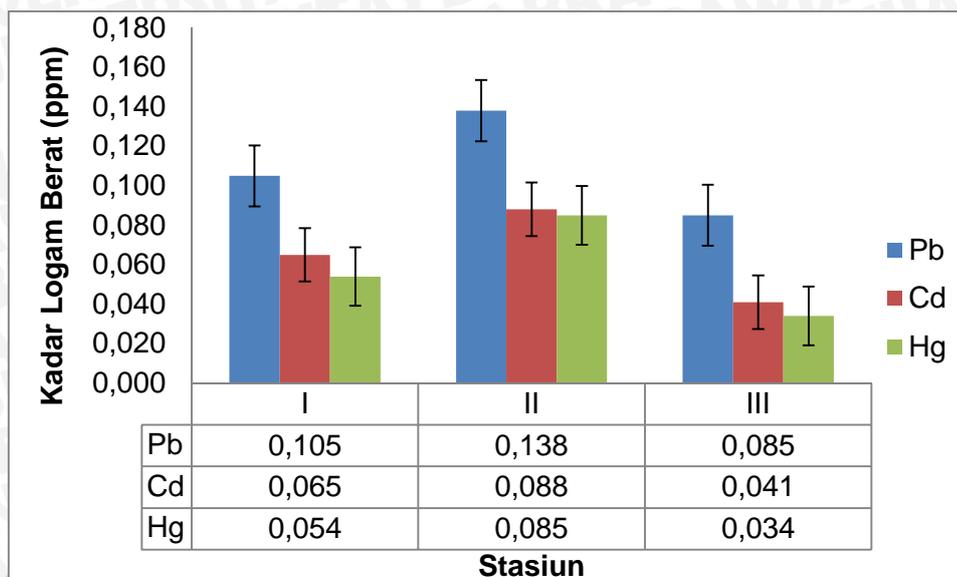
Tingkat kemampuan individu untuk menyaring dan mengekskresikan logam yang ada dalam tubuhnya berbeda-beda. Faktor-faktor yang mempengaruhi konsentrasi dan akumulasi logam antara lain *bioavailability* logam, ukuran dan berat, dan komposisi jaringan (Otchere, 2003). Konsentrasi logam pada kelompok kerang-kerangan dalam satu lokasi yang sama berbeda antara individu satu dengan individu yang lain. Hal ini tergantung kemampuan/kapasitas masing-masing individu untuk mengakumulasi logam (Otchere, 2003). Semakin besar ukuran tubuhnya (semakin tua) maka kandungan logam berat dalam tubuh juga akan semakin meningkat. Terjadinya peningkatan ini dikarenakan logam berat yang masuk ke dalam tubuhnya akan terus diakumulasi (Prasetyo, 2009).

Menurut Rudiyanthi (2009), menyatakan bahwa kerang yang memiliki ukuran kecil mempunyai kemampuan akumulasi yang lebih besar jika dibandingkan dengan kerang yang berukuran lebih besar. Hal ini diduga semakin besar ukuran kerang maka akan semakin baik kemampuannya dalam mengeliminasi logam berat. Perbedaan umur dari kerang dapat ditentukan dengan ukuran besar kecilnya dari kerang tersebut. *Growth ring* merupakan alur

pola pada bagian luar cangkang yang berfungsi untuk mengetahui umur dari kerang (Aditya, 2012). Kerang yang paling muda biasanya ukurannya lebih pendek daripada kerang yang paling tua. Perbedaan suatu ukuran pada kerang juga dapat mempengaruhi laju penyerapan suatu logam berat. Sesuai pendapat Killeen *et al.*, (2004), bahwa semakin besar ukuran dari bivalvia maka penyerapan suatu logam berat Pb akan semakin besar. Pada bivalvia dengan ukuran yang berbeda mempunyai laju penyerapan logam Pb yang berbeda.

4.3 Hasil Analisis Logam Berat pada Insang *Corbicula javanica*

Kerang merupakan organisme filter feeder karena kemampuannya dalam mendapatkan makanan dengan cara menyaring air yang ada disekitar tempat hidupnya seperti yang dijelaskan oleh Darmono (1995), bahwa hewan air jenis kerang-kerangan dapat mengakumulasi logam lebih besar daripada hewan air lainnya karena sifatnya yang menetap, lambat untuk dapat menghindarkan diri dari pengaruh polusi dan mempunyai toleransi yang tinggi terhadap konsentrasi logam tertentu. Menurut Ramakritinan *et al.*, (2012), logam berat yang masuk kedalam perairan dapat terakumulasi dalam tubuh organisme. Bivalvia digunakan sebagai organisme uji kadar logam berat dikarenakan bersifat *filter feeder* dan *sedentary*. Hasil penyerapan logam berat oleh insang kerang berbeda pada setiap stasiun. Hasil kandungan logam berat Pb, Cd dan Hg pada kerang jawa (*Corbicula javanica*) dapat dilihat pada **Lampiran 5**. Rata-rata kandungan logam berat Pb, Cd dan Hg pada kerang pada tiap stasiun penelitian dapat dilihat pada **Gambar 9**.



Gambar 9. Grafik Rata-Rata Kandungan Logam Berat Pb, Cd dan Hg pada Insang *Corbicula javanica*

Diagram pada gambar 9 diatas menunjukkan bahwa insang kerang jawa lebih banyak menyerap timbal (Pb) daripada kadmium (Cd) maupun merkuri (Hg). Pada stasiun II, respon insang kerang jawa terhadap penyerapan logam berat terutama Pb lebih tinggi jika dibandingkan dengan stasiun I dan stasiun III. Rata-rata kadar logam berat Pb di insang kerang jawa *Corbicula javanica* pada stasiun I sebesar 0,105 mg/l, pada stasiun II sebesar 0,138 mg/l dan pada stasiun III sebesar 0,85 mg/l. Rata-rata kadar logam berat Cd di insang kerang jawa *Corbicula javanica* pada stasiun I sebesar 0,065 mg/l, pada stasiun II sebesar 0,088 mg/l dan pada stasiun III sebesar 0,041 mg/l. Rata-rata kadar logam berat Hg di insang kerang jawa *Corbicula javanica* pada stasiun I sebesar 0,054 mg/l, pada stasiun II sebesar 0,085 mg/g dan pada stasiun III sebesar 0,034 mg/l.

Kandungan logam berat pada insang kerang jawa relatif lebih tinggi jika dibandingkan dalam air. Hal ini menunjukkan tingkat akumulasi logam berat dalam kerang jawa cukup tinggi. Menurut Saeni (2003), kerang adalah salah satu hewan laut yang paling efisien mengakumulasi logam berat. Hal ini disebabkan,

kerang hidup di lapisan sedimen dasar perairan, bergerak sangat lambat, dan makanannya adalah detritus di dasar perairan, sehingga peluang masuk logam berat ke dalam tubuh sangat besar. Sitorus (2011) menjelaskan bahwa, bila konsentrasi logam berat tinggi dalam air, ada kecenderungan konsentrasi logam berat tersebut tinggi dalam sedimen, dan akumulasi logam berat dalam tubuh hewan demersal semakin tinggi.

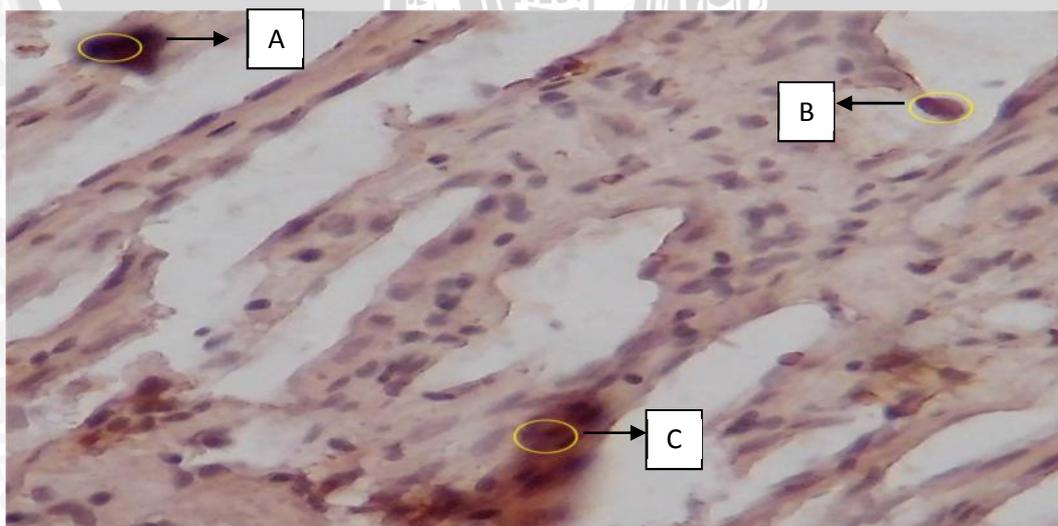
Menurut Wulandari (2010), faktor akumulasi pada setiap jenis biota laut relatif berbeda, hal ini disebabkan oleh perbedaan sifat-sifat biologis (jenis, umur dan fisiologis) masing-masing jenis biota, juga disebabkan oleh perbedaan sifat fisik dan kimia serta aktivitas masing-masing lokasi sebagai contohnya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

Akumulasi logam berat dapat juga terjadi dalam tubuh organisme. Masuknya logam berat ke dalam tubuh organisme dapat melalui tiga cara yaitu difusi melalui permukaan tubuh, tersaring insang dan masuk bersama rantai makanan. Sedangkan cara keluar logam berat dari tubuh organisme dengan melalui dua cara yaitu ekskresi melalui feses dan urine. Sebagian besar masuknya logam berat ke dalam tubuh organisme adalah melalui rantai makanan, sedikit saja yang diambil langsung dari air melalui proses adsorpsi insang. (Wardhani, 2009).

4.4 Ekspresi Metallothionein pada Insang *Corbicula javanica* dengan Teknik Imunohistokimia

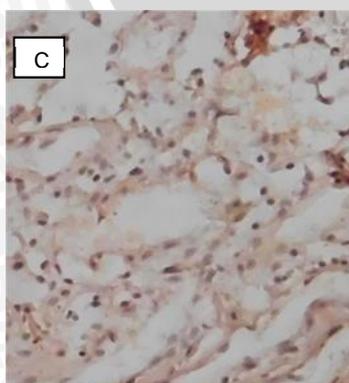
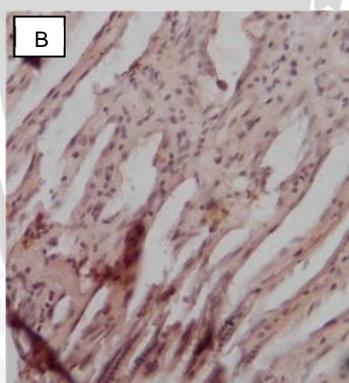
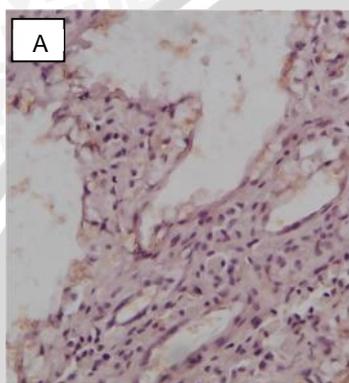
Ekspresi metallothionein pada insang *Corbicula javanica* dengan teknik imunohistokimia yang terdapat pada tiga stasiun dengan kolam yang berbeda menunjukkan bahwa metallothionein terekspresi pada gambar berupa blok-blok warna cokelat. Menurut Irvan (2007) dalam Hertika *et al.*, (2014), bahwa metode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

Hasil penelitian Hertika *et al.* (2014) menunjukkan bahwa ekspresi metallothionein reaksi positif kuat nilai intensitasnya yaitu 51.999 pixel, reaksi positif sedang sebesar 39.889 pixel dan positif lemah sebesar 12.138 pixel. Semakin tua dan semakin meratanya warna cokelat yang terlihat menunjukkan semakin banyak jumlah metallothionein terekspresi maka semakin tinggi pula kadar logam berat. Ekspresi metallothionein dapat dilihat pada **Gambar 10**.



Gambar 10. Ekspresi Metallothionein (A) positif kuat (B) positif sedang (C) positif lemah

Sama halnya seperti kandungan logam berat, metallothionein terlihat muncul dan berwarna cokelat tua pada jaringan insang kerang untuk mengikat logam berat yang masuk pada saat kerang melakukan pernafasan banyak ditemukan pada stasiun II yang merupakan kolam tradisional, sedangkan metallothionein yang terlihat sedikit muncul terdapat pada stasiun I dan stasiun III yang merupakan kolam semi tradisional. Ekspresi metallothionein pada masing-masing stasiun dapat dilihat pada **Gambar 11**.



Gambar 11. Ekspresi Metallothionein

Keterangan :

(A) stasiun I, terdapat reaksi positif

adanya metallothionein

(B) stasiun II, terdapat reaksi positif

adanya metallothionein

(C) stasiun III, terdapat reaksi positif

adanya metallothionein

Proses terbentuknya warna coklat dijelaskan oleh Ramos dan Vara (2005), bahwa prinsip pewarnaan imunohistokimia metode peroksidase, yaitu antigen yang ada pada jaringan diikat dengan antibodi primer yang spesifik. Lalu antibodi primer yang terikat antigen kemudian diikat pula dengan antibodi sekunder (anti antibodi primer) yang telah dilabel enzim peroksidase. Penambahan substrat yang berisi kromogen dan H_2O_2 akan memunculkan endapan berwarna coklat dan H_2O . Endapan coklat merupakan hasil penguraian substrat (kromogen dan H_2O) oleh enzim peroksidase. Warna coklat yang muncul menandakan reaksi positif (+), yang artinya didalam jaringan terdapat antigen. Apabila di jaringan tersebut tidak terdapat antigen, maka tidak akan muncul warna coklat.

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

4.5 Hasil Analisis Densitas dan Intensitas Metallothionein pada Insang *Corbicula javanica*

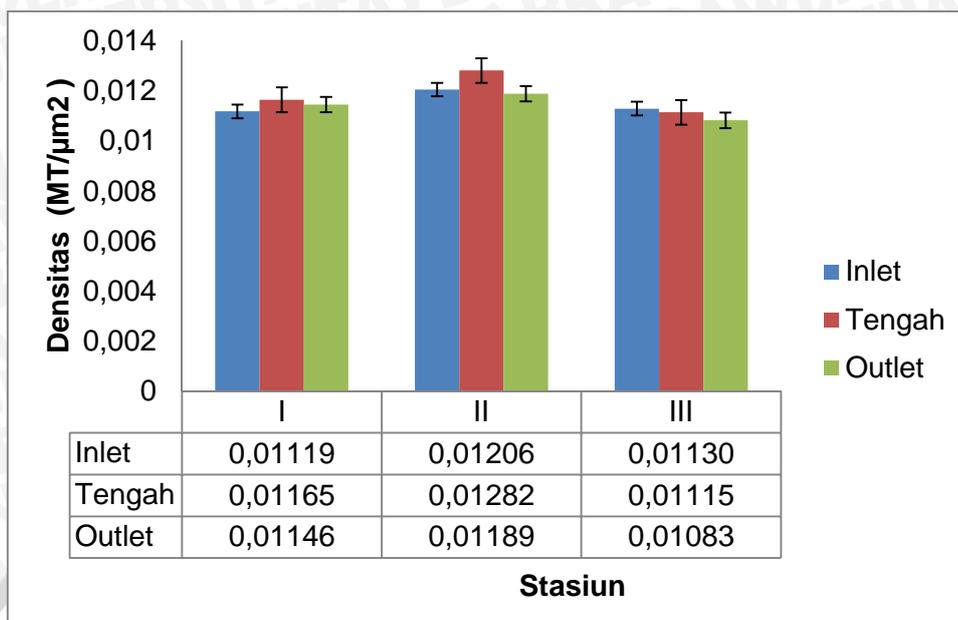
4.5.1 Hasil Analisis Densitas Metallothionein pada Insang *Corbicula javanica*

Densitas metallothionein merupakan kuantitas biofisik yang berhubungan langsung dengan penentuan jumlah metallothionein per luas lapang pandang. Hasil perhitungan jumlah metallothionein di sajikan pada **Lampiran 6**. Rata-rata hasil densitas dari ketiga stasiun, dimana masing-masing stasiun terdapat tiga ulangan disajikan pada **Tabel 1** berikut ini.

Tabel 1. Data Hasil Analisis Densitas Metallothionein

PLOT/ ULANGAN	DENSITAS METALLOTHIONEIN (MT/ μm^2)								
	STASIUN								
	I			II			III		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	0.01042	0.01092	0.01124	0.01193	0.01271	0.01173	0.01214	0.01144	0.01172
2	0.01122	0.01230	0.01080	0.01282	0.01299	0.0122	0.00961	0.01108	0.01081
3	0.01193	0.01174	0.01233	0.01144	0.01275	0.01174	0.01215	0.01091	0.00997
RERATA	0.01119	0.01165	0.01146	0.01206	0.01282	0.01189	0.01130	0.01115	0.01083

Seperti halnya kandungan logam berat pada insang kerang dan metallothionein yang terekspresi pada gambar, hasil penelitian menunjukkan densitas metallothionein tertinggi ditemukan pada stasiun II yang merupakan kolam tradional, sedangkan densitas terendah pada stasiun III yaitu kolam semi tradisional. Dari hasil penelitian, ditemukan bahwa nilai densitas Metallothionein pada stasiun I berkisar antara $10,42 \times 10^{-3} \text{ MT}/\mu\text{m}^2 - 12,33 \times 10^{-3} \text{ MT}/\mu\text{m}^2$, stasiun II berkisar antara $11,44 \times 10^{-3} \text{ MT}/\mu\text{m}^2 - 12,99 \times 10^{-3} \text{ MT}/\mu\text{m}^2$ dan stasiun III berkisar antara $9,61 \times 10^{-3} \text{ MT}/\mu\text{m}^2 - 12,15 \times 10^{-3} \text{ MT}/\mu\text{m}^2$. Hasil densitas metallothionein sesuai dengan respon insang kerang jawa terhadap penyerapan logam berat yang menunjukkan kadar logam berat dalam kerang pada stasiun II lebih tinggi jika dibandingkan dengan stasiun I dan III. Hal ini terlihat jelas pada grafik rata-rata densitas Metallothionein yang disajikan pada **Gambar 12**.



Gambar 12. Grafik Rata-Rata Densitas Metallothionein pada Ingsang *Corbicula javanica*

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

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

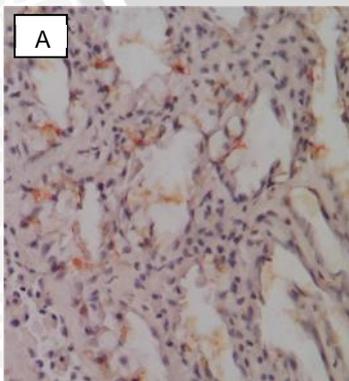
metallothionein akan mencapai tingkat maksimum. Hal inilah yang menjadikan bivalvia mampu bertahan pada lingkungan perairan yang tercemar logam berat.

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

4.5.2 Hasil Analisis Intensitas Metallothionein pada Insang *Corbicula javanica*

Intensitas metallothionein diketahui dengan menggunakan software imageJ pada area 5024 dengan lebar 80 dan tinggi 80. Hasil pengamatan intensitas metallothionein pada insang *Corbicula javanica* ditunjukkan pada

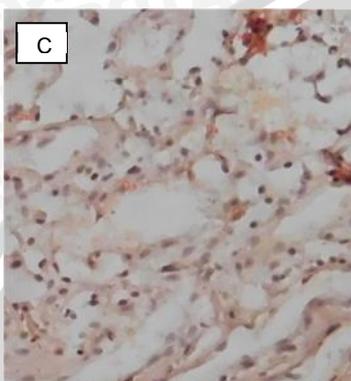
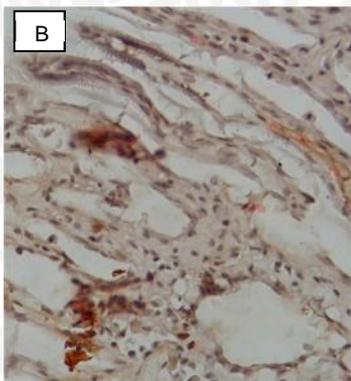
Gambar 13.



Gambar 13. Intensitas Metallothionein

Keterangan :

- (A) stasiun I
- (B) stasiun II
- (C) stasiun III



Cara untuk mengetahui nilai intensitas Metallothionein pada masing-masing area disajikan pada **Lampiran 7** dan **Lampiran 8**. Sehingga didapatkan hasil rata-rata intensitas metallothionein pada masing-masing lapang pandang yang ditunjukkan pada **Tabel 2** berikut ini.

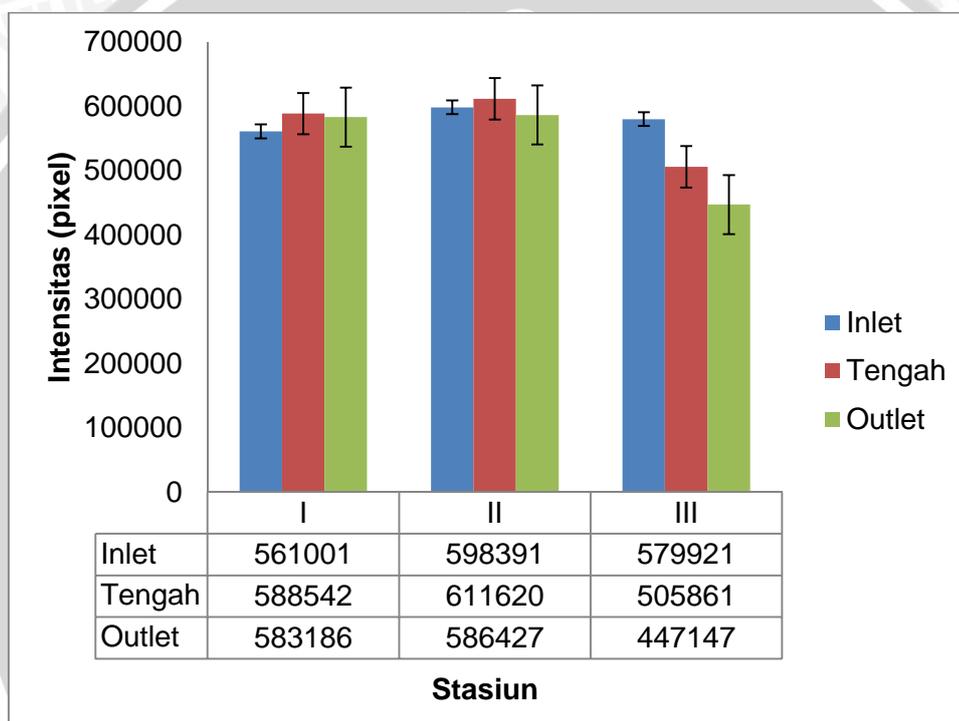
Tabel 2. Data hasil analisis Rata-Rata Intensitas Metallothionein

PLOT / ULANGAN	INTENSITAS METALLOTHIONEIN (pixel)								
	STASIUN								
	I			II			III		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	561831	630220	726050	544135	577343	536697	693255	654791	374925
2	477173	593621	627816	672363	660618	695002	595188	379361	583705
3	643998	541786	395693	578677	596900	527582	451321	483430	382810
RERATA	561001	588542	583186	598391	611620	586427	579921	505861	447147

Seperti halnya dengan hasil analisis densitas metallothionein pada insang kerang, hasil penelitian terhadap intensitas Metallothionein menunjukkan bahwa densitas dan intensitas metallothionein memiliki hubungan yang linear.



Intensitas Metallothionein yang ditemukan tertinggi pada stasiun II yang merupakan kolam tradisional. Intensitas Metallothionein pada stasiun I berkisar antara 477173 pixel – 726050 pixel, stasiun II berkisar antara 527582 pixel – 695002 pixel dan pada stasiun III berkisar antara 374925 pixel – 693255 pixel. Intensitas warna Metallothionein berbeda-beda pada setiap stasiun tergantung pada tingkat penyerapan logam berat oleh tubuh kerang. Grafik rata-rata intensitas Metallothionein dapat dilihat pada **Gambar 14**.



Gambar 14. Grafik rata-rata Intensitas Metallothionein pada Ingsang *Corbicula javanica*

Pada grafik rata-rata intensitas Metallothionein didapatkan pada stasiun II rata-rata intensitas Metallothionein pada masing-masing ulangan perbedaannya tidak terlalu tinggi, sehingga nilai rata-rata intensitas Metallothionein pada stasiun II lebih tinggi dibandingkan stasiun I dan III. Menurut Amiard *et al.*, (2006), bahwa beberapa peneliti menjelaskan bahwa suatu organisme yang hidup pada daerah yang tercemar logam berat mempunyai konsentrasi Metallothionein yang lebih tinggi. Menurut Ringwood *et al.*, (2004) menjelaskan bahwa ada hubungan positif



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

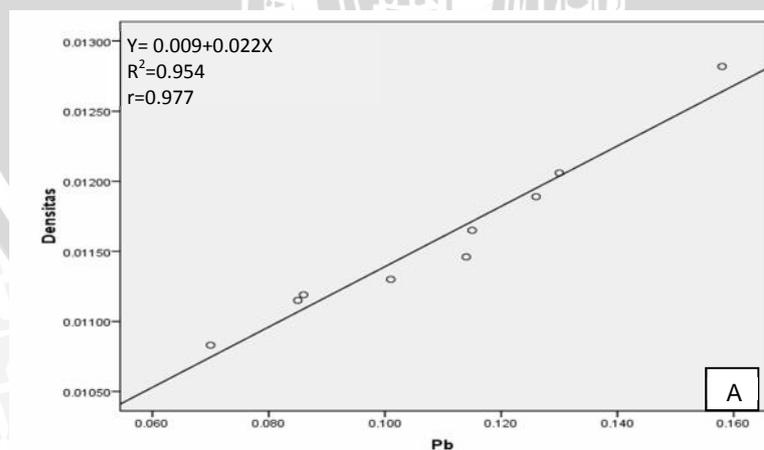
Satuan pixel untuk intensitas Metallothionein dijelaskan oleh Cregger *et al.*, (2006), bahwa pixel merupakan dasar satuan komparasi analisis kuantitatif untuk ekspresi protein dalam penggunaan imunofluorescent untuk mengenali dan sebagai pembeda warna gelap untuk Metallothionein. Algoritma ini digunakan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

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

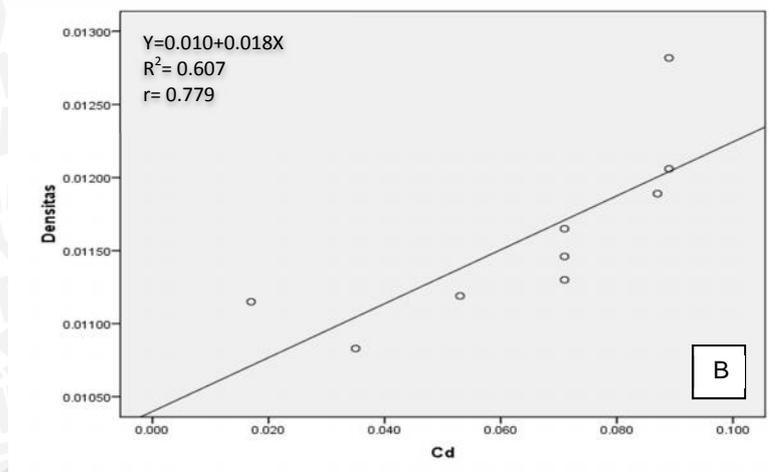
Roesijadi (1994) menjelaskan bahwa penyerapan logam berat yang tinggi ada kaitannya dengan meningkatnya aktivitas sistem dalam sel di hepatopankreas kerang. Lebih lanjut juga dijelaskan bahwa tempat utama terjadinya penyerapan ion logam melalui transport aktif dan pasif terjadi di insang kerang selanjutnya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

4.6 Analisis Hubungan Densitas Metallothionein dengan Logam Berat pada Insang *Corbicula javanica*

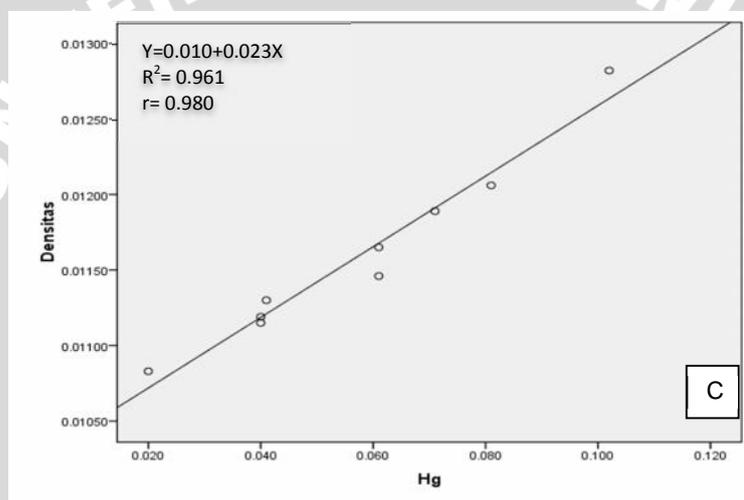
Hasil analisis regresi linier sederhana menunjukkan besarnya kandungan logam berat yang terpapar pada insang kerang mempengaruhi besarnya kandungan Metallothionein yang ada pada insang kerang. Densitas Metallothionein akan terus meningkat sesuai dengan kenaikan konsentrasi logam berat pada insang kerang. Grafik hubungan antara logam berat dengan densitas Metallothionein pada insang kerang tersaji pada **Gambar 15**.



Gambar 15 A. Grafik hubungan densitas Metallothionein dan logam berat Pb



Gambar 15 B. Grafik hubungan densitas Metallothionein dan logam berat Cd



Gambar 15 C. Grafik hubungan densitas Metallothionein dan logam berat Pb

Hasil analisis regresi densitas Metallothionein dan logam berat Pb menunjukkan nilai koefisien determinasi pada insang kerang dinyatakan dengan R² sebesar 0.954, dengan koefisien korelasi (r) 0.977, hal ini menunjukkan bahwa hubungan linier densitas Metallothionein dan logam berat Pb pada insang kerang sebesar 95,4% dengan pengaruh lain sebesar sebesar 4,6%. Dilihat dari nilai koefisien korelasi (r), maka dapat dikatakan bahwa secara statistik tingkat hubungan densitas Metallothionein dan kadar logam berat Pb pada insang kerang jawa (*Corbicula javanica*) tergolong sangat kuat. Menurut Sarwono (2006), bahwa tingkat korelasi tergolong sangat kuat apabila termasuk dalam

interval nilai 0.75–0.99. Hasil analisis regresi sekaligus menunjukkan bahwa densitas Metallothionein dipengaruhi kadar logam berat Pb sebesar 94.5%.

Hasil analisis regresi densitas Metallothionein dan logam berat Cd menunjukkan nilai koefisien determinasi pada insang kerang dinyatakan dengan R^2 sebesar 0.607, dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0.779, hal ini menunjukkan bahwa hubungan linier densitas Metallothionein dan logam berat Cd pada kerang jawa (*Corbicula javanica*) sebesar 60,7% dengan pengaruh lain sebesar 39.3%. Dilihat dari nilai koefisien korelasi (r), maka dapat dikatakan bahwa secara statistik tingkat hubungan densitas Metallothionein dan kadar logam berat Cd pada insang kerang jawa (*Corbicula javanica*) tergolong kuat. Menurut Sarwono (2006), bahwa tingkat korelasi tergolong sangat kuat apabila termasuk dalam interval nilai 0.75–0.99. Hasil analisis regresi sekaligus menunjukkan bahwa densitas Metallothionein dipengaruhi kadar logam berat Cd sebesar 60,7 %.

Hasil analisis regresi densitas Metallothionein dan logam berat Hg menunjukkan nilai koefisien determinasi pada insang kerang dinyatakan dengan R^2 sebesar 0.961, dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0.980, hal ini menunjukkan bahwa hubungan linier densitas Metallothionein dan logam berat Hg pada insang kerang jawa (*Corbicula javanica*) sebesar 96,1% dengan pengaruh lain sebesar 3,9 %. Dilihat dari nilai koefisien korelasi (r), maka dapat dikatakan bahwa secara statistik tingkat hubungan densitas Metallothionein dan kadar logam berat Hg pada insang kerang jawa (*Corbicula javanica*) tergolong sangat kuat. Menurut Sarwono (2006), bahwa tingkat korelasi tergolong sangat kuat apabila termasuk dalam interval nilai 0.75–0.99. Hasil analisis regresi sekaligus menunjukkan bahwa densitas Metallothionein dipengaruhi kadar logam berat Hg sebesar 96,1%.

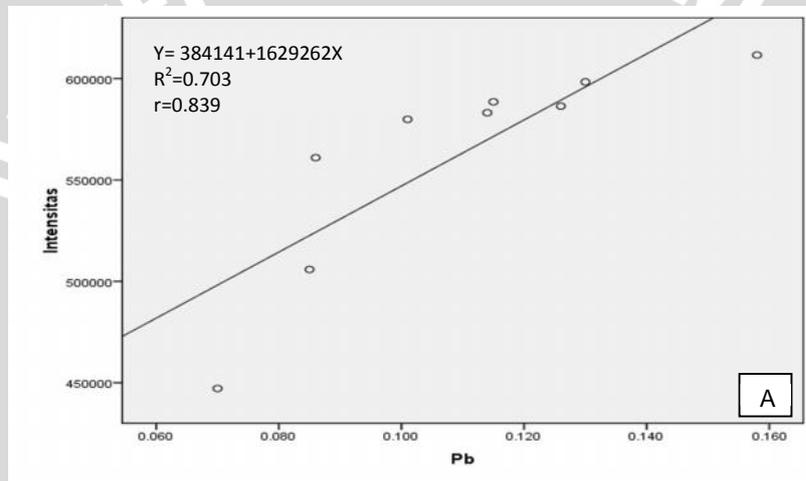
Kandungan densitas Metallothionein berkaitan dengan kadar logam berat pada insang kerang jawa (*Corbicula javanica*), dimana semakin tinggi kandungan logam berat pada kerang maka produksi Metallothionein akan meningkat pula. Hubungan regresi linier antara logam berat dan densitas metallothionein disajikan pada **Lampiran 9**. Menurut Febryanto *et al.*, (2009), semakin tinggi kandungan logam berat (Pb) pada perairan maka akan semakin banyak logam berat yang terakumulasi dalam tubuh organisme.

Menurut Rumahlatu *et al.* (2012), semakin banyak logam berat Cd yang terakumulasi dalam kompartemen tubuh *Deadema setosum* maka semakin banyak sel yang mengalami ekspresi protein MT-1. Kenyataan ini menunjukkan bahwa ekspresi protein MT-1 berkaitan dengan fungsinya sebagai protein pengikat logam berat dan detoksifikasi logam berat. Protein MT diketahui memiliki 2 fungsi utama yaitu detoksifikasi logam berat dan *scavenger* radikal bebas. Hal ini mengindikasikan bahwa MT sebagai protein terlibat dalam metabolisme logam berat yang penting dalam menjalankan fungsi sel suatu organisme. Karena itu, MT bukan hanya mengikat jumlah logam di dalam sebuah sel, tapi juga mengembalikan kemampuan fungsi protein yang tidak aktif akibat logam cadmium (Cd).

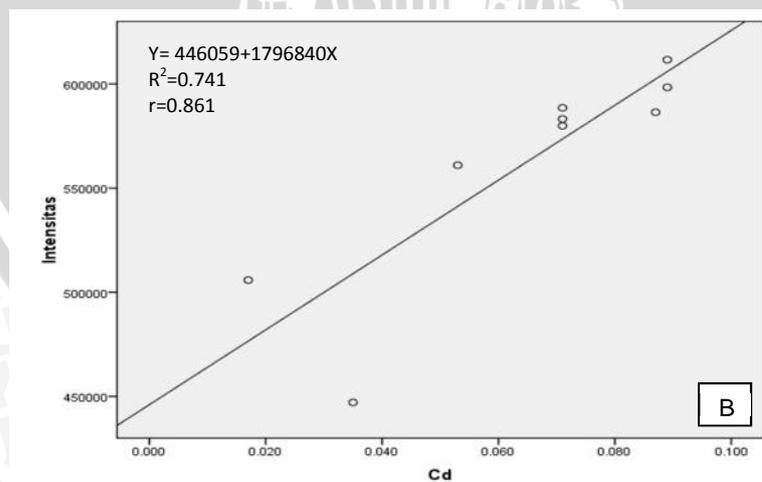
Menurut Geffart *et al.* (2007), mengatakan bahwa umumnya peran utama metallothionein adalah homeostasis logam esensial seperti Cu dan Zn, namun protein ini juga terlibat dalam detoksifikasi logam non-esensial seperti Ag, Cd dan Hg. Jadi bisa dikatakan bahwa logam berat Hg ini juga berpengaruh pada Metallothionein yang terdapat di insang kerang jawa (*Corbicula javanica*).

4.7 Analisis Hubungan Intensitas Metallothionein dengan Logam Berat pada Insang *Corbicula javanica*

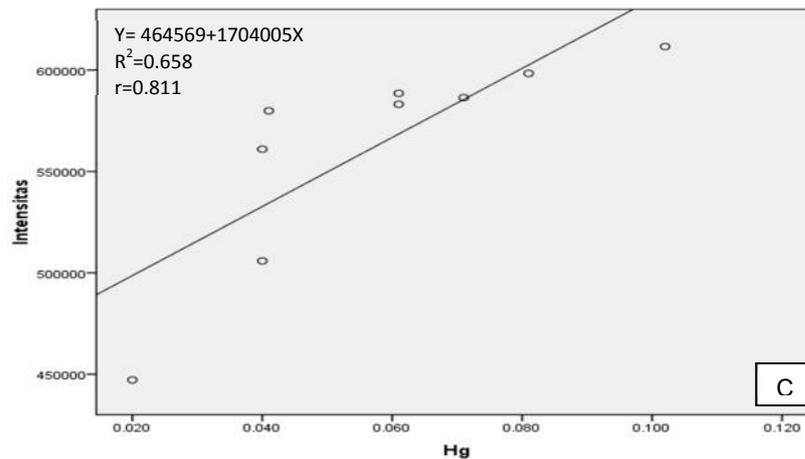
Hasil analisis regresi linier sederhana menunjukkan besarnya kandungan logam berat yang terpapar pada insang kerang mempengaruhi besarnya kandungan Metallothionein yang ada pada insang kerang. Intensitas Metallothionein akan terus meningkat sesuai dengan kenaikan konsentrasi logam berat pada insang kerang. Grafik hubungan antara intensitas Metallothionein, dan logam berat pada insang kerang tersaji pada **Gambar 16**.



Gambar 16 A. Grafik hubungan intensitas Metallothionein dan logam berat Pb



Gambar 16 B. Grafik hubungan intensitas Metallothionein dan logam berat Cd



Gambar 16 C. Grafik hubungan intensitas Metallothionein dan logam berat Hg.

Hasil analisis regresi intensitas Metallothionein dan logam berat Pb menunjukkan nilai koefisien determinasi pada insang kerang dinyatakan dengan R² sebesar 0.703, dengan koefisien korelasi (r) 0.839, hal ini menunjukkan bahwa hubungan linier intensitas Metallothionein dan logam berat Pb pada insang kerang sebesar 70.3% dengan pengaruh lain sebesar sebesar 29.7%. Dilihat dari nilai koefisien korelasi (r), maka dapat dikatakan bahwa secara statistik tingkat hubungan intensitas Metallothionein dan kadar logam berat Pb pada insang kerang jawa (*Corbicula javanica*) tergolong sangat kuat. Menurut Sarwono (2006), bahwa tingkat korelasi tergolong sangat kuat apabila termasuk dalam interval nilai 0.75–0.99. Hasil analisis regresi sekaligus menunjukkan bahwa intensitas Metallothionein dipengaruhi kadar logam berat Pb sebesar 70.3%.

Hasil analisis regresi intensitas Metallothionein dan logam berat Cd menunjukkan nilai koefisien determinasi pada insang kerang dinyatakan dengan R² sebesar 0.741, dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0.861, hal ini menunjukkan bahwa hubungan linier intensitas Metallothionein dan logam berat Cd pada kerang jawa (*Corbicula javanica*) sebesar 74,1% dengan pengaruh lain

sebesar 25,9%. Dilihat dari nilai koefisien korelasi (r), maka dapat dikatakan bahwa secara statistik tingkat hubungan intensitas Metallothionein dan kadar logam berat Cd pada insang kerang jawa (*Corbicula javanica*) tergolong sangat kuat. Menurut Sarwono (2006), bahwa tingkat korelasi tergolong sangat kuat apabila termasuk dalam interval nilai 0.75–0.99. Hasil analisis regresi sekaligus menunjukkan bahwa intensitas Metallothionein dipengaruhi oleh kadar logam berat Cd sebesar 74.1%.

Hasil analisis regresi intensitas Metallothionein dan logam berat Hg menunjukkan nilai koefisien determinasi pada insang kerang dinyatakan dengan R^2 sebesar 0.658, dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0.811, hal ini menunjukkan bahwa hubungan linier intensitas Metallothionein dan logam berat Hg pada insang kerang jawa (*Corbicula javanica*) sebesar 65.8% dengan pengaruh lain sebesar 34,2%. Dilihat dari nilai koefisien korelasi (r), maka dapat dikatakan bahwa secara statistik tingkat hubungan intensitas Metallothionein dan kadar logam berat Hg pada insang kerang jawa (*Corbicula javanica*) tergolong sangat kuat. Menurut Sarwono (2006), bahwa tingkat korelasi tergolong sangat kuat apabila termasuk dalam interval nilai 0.75–0.99. Hasil analisis regresi sekaligus menunjukkan bahwa intensitas Metallothionein dipengaruhi panjang tiram dan kadar logam berat Hg sebesar 65,8 %.

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

Kandungan intensitas Metallothionein berkaitan dengan kadar logam berat pada insang kerang jawa (*Corbicula javanica*), dimana semakin tinggi kandungan logam berat pada kerang maka produksi Metallothionein akan meningkat pula. Hubungan regresi linier antara logam berat dan intensitas Metallothionein disajikan pada **Lampiran 9**. Menurut Stillman *et al.* (1987), kadmium, seng, dan tembaga biasanya berhubungan dengan metallothionein MT, berbagai logam lain juga mengikat protein, antara lain adalah merkuri dan lain-lain. Tidak semua logam ini merangsang biosintesis protein. Dalam beberapa kasus, biosintesis diinduksi, namun protein hanya mengikat seng atau tembaga.

4.8 Analisis Parameter Kualitas Air

Pada penelitian ini dilakukan pengamatan parameter kualitas air baik secara fisika maupun kimia yang mendukung kehidupan kerang jawa (*Corbicula javanica*) di habitatnya yaitu Suhu, pH, DO (oksigen terlarut) dan logam berat pada air. Data kualitas air pada penelitian ini disajikan pada **Tabel 3** berikut:

Tabel 3. Data Rata-Rata Analisis Kualitas Air di IBAT Punten

Parameter	Stasiun			Standar Baku Mutu
	I	II	III	
Suhu (°C)	26-27	27-28	26.5-27	28-32 (Kordi dan Andi,2007)
pH	7-8	7.5-8	7-8	7-8.5 (Effendi, 2003)
DO (mg/l)	6.4-8.5	6.2-8.6	5.9-7.7	5 (Kordi dan Andi, 2007)

4.8.1 Suhu

Berdasarkan hasil pengamatan kualitas air, suhu perairan di IBAT Punten berkisar antara 26°C- 27°C. Dari nilai tersebut menunjukkan bahwa suhu pada IBAT Punten masih belum dikatakan baik dan masih bisa ditoleransi dengan organisme perairan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Kordi dan Andi (2007),

kisaran suhu optimal bagi biota di perairan tropis adalah antara 28-32°C. Sedangkan menurut pendapat Bardach *et al.*, (1972), toleransi suhu untuk beberapa tiram tidak sama. Menurut Harnah 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.

Keberadaan logam di badan perairan dipengaruhi oleh beberapa faktor lingkungan di antaranya adalah suhu, pH, dan salinitas. Menurut Widodo, (2005) menyatakan bahwa absorpsi logam berat oleh kerang paling efisien terjadi pada temperatur 30°C daripada 20°C pada logam Hg dan Cd, sedangkan logam Pb hanya sedikit naik. Temperatur berpengaruh terhadap kelarutan merkuri di perairan. Naiknya suhu disuatu perairan akan menyebabkan penurunan konsentrasi Hg, karena senyawa Dimetil-Hg sangat mudah menguap ke udara dengan adanya proses fisika di udara seperti cahaya (pada reaksi fotolisa) sehingga akan terurai menjadi senyawa-senyawa metana, etana dan logam HgO (Palar, 2009).

4.8.2 pH

Berdasarkan hasil pengamatan kualitas air, pH di IBAT Punten berkisar antara 7-8. Dari data hasil pengukuran pH dapat diketahui bahwa perairan yang berada di IBAT Punten masih dalam keadaan optimal dan masih baik untuk pertumbuhan organisme perairan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Effendi (2013) sebagian biota akuatik sensitive terhadap perubahan pH dan menyukai nilai pH sekitar 7-8.5. Suatu organisme perairan mempunyai kemampuan berbeda dalam mentoleransi pH perairan. Menurut Suwondo *et al.*, (2012) yang menyatakan bahwa kisaran pH air yang mendukung kehidupan bivalvia berkisar antara 6-9.

Menurut Sitorus (2011), pH air dan pH sedimen juga mempengaruhi akumulasi logam berat dalam tubuh hewan air, karena semakin rendah pH air dan pH sedimen, maka logam berat semakin larut dalam air (bentuk ion) sehingga semakin mudah masuk ke dalam tubuh hewan air, baik melalui insang, bahan makanan, ataupun melalui difusi.

4.8.3 Dissolved Oksigen (DO)

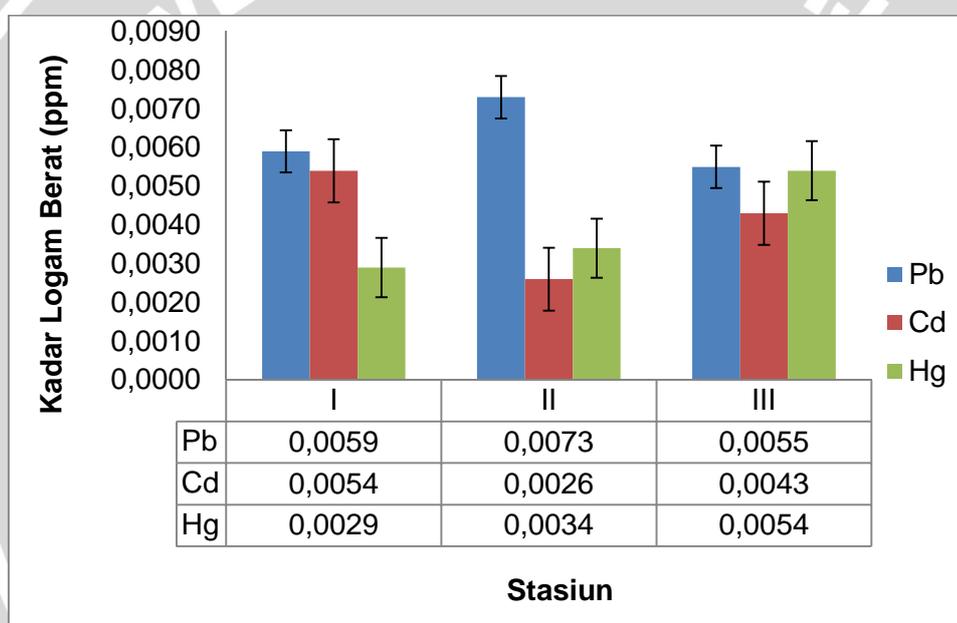
DO merupakan nilai dari kandungan oksigen terlarut dalam air. Oksigen yang diperlukan biota air untuk pernafasannya harus terlarut dalam air. Oksigen juga merupakan faktor pembatas, apabila ketersediaannya didalam air tidak mencukupi kebutuhan biota maka segala aktivitas biota akan terhambat. Berdasarkan hasil pengamatan kualitas air, oksigen terlarut (DO) di IBAT Punten didapatkan kisaran 5.9-8.6 mg/l. Dari hasil pengamatan ini dapat diketahui bahwa nilai DO masih dalam keadaan yang optimal dan masih baik untuk pertumbuhan organisme akuatik. Menurut Kordi dan Andi (2007), bahwa konsentrasi DO minimum yang masih dapat diterima sebagian besar spesies biota air untuk hidup dengan baik adalah 5 ppm.

Selain berpengaruh terhadap biota perairan, oksigen terlarut juga berpengaruh terhadap toksisitas logam berat di perairan. Menurut Effendi (2003), dengan meningkatnya kadar oksigen terlarut dan kesadahan akan mengurangi toksisitas timbal (Pb) terhadap organisme akuatik. Wahyuni *et al.* (2013), menambahkan bahwa pengaruh oksigen terlarut terhadap logam berat yaitu berbanding terbalik dimana semakin rendah kadar oksigen terlarut, semakin tinggi toksisitas logam berat, begitu juga sebaliknya.

4.8.4 Analisis Logam Berat di Air

Analisa logam berat Pb, Cd dan Hg dilakukan di Laboratorium Lingkungan Kimia Dasar Fakultas MIPA. Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa kandungan logam berat Pb, Cd dan Hg di air pada setiap stasiun memiliki konsentrasi yang berbeda-beda (data kandungan logam berat dapat dilihat pada **Lampiran 5**).

Kadar logam berat Pb pada stasiun I, II dan III lebih tinggi dibandingkan dengan Cd maupun Hg. Grafik kandungan logam berat Pb, Cd dan Hg di air pada tiga stasiun disajikan pada **Gambar 17**.



Gambar 17. Kadar Logam Berat Pb, Cd dan Hg di Air pada Tiga Stasiun

Grafik pada **Gambar 17** diatas menunjukkan bahwa pada stasiun I, II dan III logam berat Pb paling tinggi dibandingkan logam berat Cd dan Hg. Tingginya kadar Pb disebabkan karena banyaknya masukan limbah padat maupun cair domestik yang dibuang langsung ke perairan, sedangkan tingginya Pb sendiri berasal dari buangan sisa bahan bakar motor dan wisata bahari, mengingat di semua stasiun dekat pemukiman warga. Menurut Palar (2009), 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. Berdasarkan grafik di atas, kadar logam berat Pb berkisar antara 0.0055 ppm-0.0073ppm. Dari hasil tersebut dapat dilihat bahwa kadar Pb masih dapat dibawah baku mutu sesuai dengan Peraturan Pemerintah No. 82 Tahun 2001 yaitu baku mutu Pb untuk perairan sebesar 0,03 ppm. Kadar logam berat Cd berkisar antara 0.0026 ppm-0.0054 ppm. Dari hasil tersebut dapat dilihat bahwa kadar Cd masih dibawah baku mutu sesuai dengan Peraturan Pemerintah No. 82 Tahun 2001 yaitu baku mutu Cd yang untuk perairan sebesar 0,01 ppm. Kadar logam berat Hg berkisar antara 0.0029ppm-0.0054ppm. Dari hasil tersebut dapat dilihat bahwa kadar Hg sudah berada di atas baku mutu yaitu sesuai Peraturan Pemerintah No. 82 Tahun 2001, nilai baku mutu Hg untuk perairan tidak boleh lebih dari 0,002 mg/l

Menurut Murtini dan Peranginangin (2006) menjelaskan 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 Darmono (1995), logam berat timbal (Pb) berbahaya karena bersifat biomagnifikasi, yaitu dapat terakumulasi dan tinggal dalam jaringan tubuh organisme dalam jangka waktu yang lama sebagai racun yang terakumulasi. Fardiaz (1992) menambahkan bahwa daya racun dari logam berat ini disebabkan terjadi penghambatan proses kerja enzim oleh ion-ion Pb^{2+} . Penghambatan tersebut menyebabkan terganggunya pembentukan hemoglobin

Menurut Sarjono (2009), merkuri merupakan salah satu limbah yang banyak dihasilkan dari aktivitas manusia seperti pembakaran bahan bakar fosil dan produksi baja, semen serta fosfat. Dalam lingkup industri, pemakaian utama merkuri adalah pabrik alkalklor, industri bubuk kayu dan pabrik perlengkapan listrik. Selain itu, limbah pertanian, pencampuran logam, katalis pada

pertambangan, kedokteran gigi, obat-obatan dan laboratorium sebagian besar dibuang ke laut sehingga menyumbang banyak limbah merkuri di perairan. Menurut Neustadt and Pieczenik (2007), selain berasal dari limbah industri, merkuri juga berasal dari tanah sekitar perairan pantai melalui *leaching* khususnya yang diakibatkan oleh aktivitas pertambangan.

Berdasarkan hasil yang diperoleh, dapat diketahui bahwa kadar logam berat tertinggi pada IBAT Punten pada ketiga stasiun yaitu Pb, kemudian Cd, dan yang terakhir adalah Hg. Tingginya kadar logam berat Timbal (Pb) pada perairan IBAT Punten diduga karena semakin banyaknya pemakaian Pb oleh masyarakat di sekitar, khususnya penggunaan bahan bakar yang mengandung banyak logam berat Pb. Berdasarkan pembahasan di atas, kadar logam berat Pb dan Cd masih berada dibawah ambang batas normal, sedangkan logam berat Hg pada IBAT Punten telah melewati ambang batas yang ditetapkan. Hal ini akan sangat membahayakan bagi biota atau organisme maupun masyarakat sekitar karena logam-logam berat yang terlarut dalam badan perairan pada konsentrasi tertentu akan menjadi sumber racun bagi ekosistem suatu perairan

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan kandungan logam berat di air pada IBAT Punten untuk Pb dan Cd memiliki nilai yang masih dibawah baku mutu sedangkan nilai Hg sudah berada diatas baku mutu untuk perairan dikarenakan telah melewati ambang batas baku mutu yang telah ditentukan. Hasil analisis kadar Densitas dan Intensitas Metallothionein pada insang kerang jawa menunjukkan bahwa kadar metallothionein pada insang Kerang jawa baik pada Densitas dan Intensitas tertinggi terdapat pada Stasiun II yaitu kolam jenis tradisional. Hasil analisis hubungan antara Densitas Metallothionein dengan logam berat Pb, Cd dan Hg sangat kuat, karena r korelasinya berkisar antara 0.779-0.980. Begitu pula dengan Intensitas Metallothionein yang memiliki dengan logam berat Pb, Cd dan Hg sangat kuat, karena r korelasinya berkisar antara 0.811-0.861.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, kadar logam berat Pb, Cd dan Hg memiliki korelasi yang sangat kuat terhadap Metallothionein. Oleh karena itu, disarankan untuk menggunakan Metallothionein dalam kerang sebagai biomarker terhadap pencemaran logam berat Pb, Cd dan Hg. Di samping itu juga perlu dilakukan pengawasan lebih lanjut dan pengendalian terhadap pencemaran logam berat baik di perairan maupun di kerang dengan cara meminimalisir pembuangan limbah yang mengandung logam berat ke dalam perairan serta untuk pemanfaatan kerang perlu dilakukan pengolahan terlebih dahulu sebelum dikonsumsi.

DAFTAR PUSTAKA

- Aditya, Fibo. 2012. **Fresh Water Mussel/ Kijing Air Tawar**. <http://www.scribd.com/doc/924458221/Kijing-Air-Tawar#collection>
- Amiard J C., C. Amiard-Triquet., S. Barka., J. Pellerin and P. S Rainbowd. 2006. Metallothioneins in aquatic invertebrates: Their role in metal detoxification and their use as biomarkers. **Aquatic Toxicology**. 76: 160-202
- Armita, D. 2011. **Analisis Perbandingan Kualitas Air Di Daerah Budidaya Rumput Laut Dengan Daerah Tidak Ada Budidaya Rumput Laut, Di Dusun Malelaya, Desa Punaga, Kecamatan Mangarabombang, Kota Takalar**. Skripsi. Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan Jurusan Perikanan Fakultas Ilmu Kelautan Dan Perikanan Universitas Hasanuddin. Makassar
- Bachok, Z., P. L. Mfilinge and M. Tsuchiya. 2006. Food Sources of Coexisting Suspension-Feeding Bivalves as Indicated by Fatty Acid Biomarkers, Subjected to the Bivalves Abundance on a Tidal Flat. **Journal of Sustainability Science and Management**. 1 : 92-111.
- Bardach, J. E., H. Ryther, dan W. O. Mc Larney. 1972. **The Farming and Husbandary of Freshwater and Marine Organism**. Wiley interscience. Advision of Jhon Wiley & Sons, Inc. *Aquaculture*. New York. London Sidney. Toronto. P. 676-742
- Baron, J. dan C. Jacques. 1992. Effects of Environment Factors on the distribution of the Edible Bivalves *Atactodea striata*, *Gafrarium tumidum* and *Anadara scapha* on the Coast of New Caledonia (SW Pacific). **Aquatika Living Resour**. 5 : 107 – 114.
- Barus T.A .2004. **Pengantar Limnologi Studi Tentang Ekosistem Sungai Dan Danau**. Medan: Program Studi Biologi Fakultas MIPA. BIO SCIENTIAE vol 4(2):43-52
- Boyd, C E. 1979. **Water Quality in Warm Fish Ponds**. Dept Of Fisheries and Applied Aquaculture. Elsevier Scientific Publishing Company: New York.
- Broom, M. J.1985. Analysis of the Growth of *Anadara granosa* (Bivalvia: Arcidae) in Natural, Artificially Seeded and Experimental Populations. **Marine Ecology-Progress Series** (9): 69-79
- Brotowidjoyo. 1994. **Zoologi Dasar**. Erlangga. hlm : 110.
- Carpene E., Giulia A., and Gloria I. 2007. **Metallothionein function and structural characteristics**. Jurnal of trace elements in medicine and biology 21 S1 : 35-39.
- Castro, P. dan M. E. Huber. 2007. **Marine Biology, Sixth Edition**. Published by McGraw-Hill. hlm : 133-134.

- Chay. A. 1990. **Hidrologi Dan Pengelolaan Daerah Aliran Sungai**. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.
- Couillard Yves, Peter G.C., Campbell and Andre Tessier. 1993. **Response of Metallothionein concentration in a freshwater bivalve (*Anodonte grandis*) along an environmental cadmium gradient**. American society of limnology and oceanography 38 (2) :299-313
- Cregger Melissa A., Christospher W.S., Nate G.M., William T.P and Almee.T Classen. 2016. Response of The Soil Microbial Community to Changes in Precipitation in A Semi-arid Ecosystem. **Applied and Environmental Microbiology**. 8 (24) : 8587-8594
- Darmono. 1995. **Logam dalam Sistem Makhluk hidup**. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Debenay, J. P. dan D. L. Tack. 1994. Environmental conditions, growth and production of *Anadara senilis* (Linnaeus, 1758) in a Senegal Lagoon. **Journal Mollusca Study**. 60 : 113-121
- Effendi, H. 2003. **Telaah Kualitas Air :Bagi Pengelolaan Sumberdaya dan Lingkungan Perairan**. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Farabi, Makhyan J., 2012. **Teknik ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)**. <http://makhyanjibril.blogspot.com/2012/03/teknik-elisa-enzyme-linked.html>. Diakses pada tanggal 22 November 2015
- Fardiaz, S. 1992. **Polusi air dan udara**. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Fazry, L. 2008. **Komresi Citra Fraktal**. FMIPA. UI. Jakarta
- Febryanto J Kosasih., A.N Sunarso.,J Ju., Y.H.Indraswati.N dan Ismadji S. 2009. Equilibrium and Kinetic Studies in Adsorption of Heavy Metals Using Biosorbent: a Summary of Recent Studies. **Journal of Hazardous Materials**. 162 (2-3): 616-645
- Food and Agriculture Organization of The United Nations. 1998. **The Living Marine Resources Of The Western Central Pasific Volume 1 Seaweed Corals, Bivalves and Gastropods**. Rome
- Galtsoff, P. S. 1964. **The American Oyster (*Crassostrea virginica*)**. Fishery Bulletin of The Fish and Wildlife Service. Vol 64: 489 p.
- Geffart O.,Cachot J dan Augagneur.2007. Evidence of Genotoxicity Related to High PAH Content of Sediments in The Upper Part of The Seinje Estuary. **Aquat Toxicol**. 79:257-267
- Geneser, Finn. 1994. **Buku Teks Histologi**. Jilid 2. Binarupa Aksara: Jakarta.
- Hanson N, Andrew L. 2008. **Biomarker Analyses in Fish Suggest Exposure to Pollutants in an Urban Area With a Landfill**. Submitted Manuscript.

- Harnah, M.S., dan Nababan, B. 2009. **Studi Pertumbuhan dan Kelangsungan Hidup Anakan Kerang Mutiara (*Pinctada maxima*) Pada Kedalaman Berbeda di Teluk Kapontori, Pulau Bulon.** *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. Vol. 1(2): 22-32..
- Hertika, A.M.S., Marsoedi., Diana. A., dan Soemarno. 2014. **Density and Intensity of METallothionein in Gill and Interior Cavity of Taiwan Mussels (*Anodonta woodiana*) after Exposure to Lead (Pb) at Sub-Chronic Level Using Immunohistochemical Technique.** *Journal of Natural Science Research*. Vol 4 (6).
- Irianto, A., Sipatuhar dan A Sudrajat. 1994. **Observasi Tiram *Crassostrea spp* di Tanjung Pinang dan Perairan Bintan, Kepulauan Riau.** Sub Balai Penelitian Perikanan Budidaya Pantai Tanjung Pinang. Riau
- Kastoro. W.W. 1977. Mengapa Keong-keong dan Kerang-kerang Laut Berwarna? **Pewarta Oseana**. 3 (6) : 1-5.
- Killeen, I.J., D. C. Aldridge And P. G. Oliver, 2004 **Freshwater Bivalves Of Great Britain And Ireland.– Field Studies Council Aidgap Series.** Fsc Publications: Shresbury. 114 p.
- Kordi, K M.G.H dan Andi B. T. 2007. **Pengelolaan Kualitas Air dalam Budidaya Perairan.** PT. Rhineka Cipta: Jakarta.
- Kordi, K. 2008. **Budidaya Perairan.** PT Citra Aditya Bakti: Bandung
- Krisnadi. 2012. **Pixel, Megapixel dan RGB.** MK Photography. Media. Jakarta
- Kristanto, P.2002. **Ekologi Industri.** Andi Offset: Yogyakarta
- Larasati. 2010. **Prosedur Tetap Pengecetan Immunohistokimia p53. Cancer Chemoprevention Research Center.** Fakultas Farmasi. UGM
- 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 p
- Lesmana, G.L., Arfiati, D., Maizar, A.2013. Pengamatan Jaringan Lambung Kijing Taiwan (*Anodonta Woodiana*) Yang Terdedah Pestisida Diazinon) EC Pada Beberapa Kosentrasi. **Journal Experimental Life Science**. Vol 3 :2
- Lu, F.C. 2006. **Toksologi Dasar Asas, Organ Sasaran dan Penelitian Resiko.** Penerbit UI Press. Jakarta.
- Michin, Dan. 2008. **Corbicula fluminea. Delivering Alien Invasive Species Inventoties for Europe** :1-3
- Muhaemin, M. 2005. **Kemampuan pengikatan metaloprotein asam amino methionine terhadap Pb pada *Dunaliella salina*.** Tesis IPB. Bogor.

- Muntiha, M. 2001. **Teknik Pembuatan Preparat Histopatologi dari Jaringan Hewan dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (H&E)**. Balai Penelitian Veteriner. Temu Teknis Fungsional Non Peneliti.
- Murthy, S., Geetha Bali, S.K. Sarangi. 2011. **Effect of lead on metallothionein concentration in Lead-Resistant Bacteria bacillus cereus isolated from industrial effluent**. African journal of biotechnology Vol 10 (71) pp 15966-15972.
- Murtini, J. T. dan R. Peranginangin. 2006. **Kandungan Logam Berat pada Kerang Kepah (*Meritrix meritrix*) dan Air Laut di Perairan Banjarmasin**. *Jurnal Perikanan*. Vol. VIII (2): 177–184.
- Neustadt, J., dan S. Pieczenik. 2007. **Heavy Metal Toxicity – with Emphasis on Mercury (Research Review)**. *Integrative Medicine*. Vol 6(2). Pp: 26-32
- Noel-Lambot, F. J. M. Bouquegneau, F. Frankenne & A. Disteche. 1978. Le-rolé des metallothioneins dans le-stockage des métaux lourds chez les-animaux marins. *Revue Internationale d’Oceanographic Medicale* 49: 13-20.
- Nugroho, A.P. 2004. **Ekotoksikologi**. Buku Ajar: Fakultas Biologi Universitas Gajah Mada
- Nurdin, J. 2009. **Ekologi Populasi dan Siklus Reproduksi Kerang Kopah *Gafrarium tumidum* Rodin (*Bivalvia: Veneridae*) di Perairan Pantai Teluk Kabung, Padang, Sumatera Barat**. Program Pascasarjana Universitas Indonesia. Depok
- Nurdin, J., N Marusin., Izmiarti., A Asmara., R Deswandi dan J Marzuki. 2006. **Kepadatan Populasi dan Pertumbuhan Kerang Darah *Anadara antiquate* L. (*Bivalvia: Arcidae*) di Teluk Sungai Pisang , Kota Padang**. Sumatera Barat. MAKARA. SAINS 10 (2):96-101
- Nurtoni, R., Perangin-rangin, dan Tampubolon. 1984. **Penelitian Mutu kerang hijau rebus yang disimpan pada suhu rendah**. Laporan penelitian teknologi perikanan. Balai penelitian teknologi perikanan : Jakarta
- Otchere, F. A. 2003. **Heavy Metals concentration and Burden in The Bivalves (*Anadara(senilia) senilis*, *Crassostrea tulipa* and *Perna perna*) from Lagoons in Ghana : Modelto Describe of Accumulation/ Excretion**. *African Journal of Biotechnology*. 2 (9) : 280-287.
- Palar, H. 2009. **Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat**. Rineka Cipta.Jakarta.
- Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 82 Tahun 2001 **Tentang Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air**. Jakarta
- Pigneur, L, Jonathan Marescaux, Kathleen Roland, Emilie Etoundi, Jean-Pierre Descy and Karine Van Doninck. 2011. **Phylogeny and androgenesis in**

the invasive *Corbicula* clams (*Bivalvia*, *Corbiculidae*) in Western Europe. <http://www.biomedcentral.com/1471-2148/11/147>.

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

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

Rahardjo.M.F., Sjafei D.S., Affandi R., dan Sulistiono.2011. **Ikhtiologi**. CV Lubuk Agung .396 hlm

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

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

Ramon, M., dan Ricardson, C.A. 1992. **Age Determination and Shell Growth of *Chamelea gallina* (*Bivalvia* : *Veneridae*) in the Wastern Mediterran**. *Marine Ecology Progress Series*. Vol 89. Pp:15-23

Ramos dan Vara, JA. 2005. **Technical Aspect of Immunohistochemistry**. *Vet Pathol* 42 (4): 405-426.

Ricomarsen. 2010. **Intoksikasi Logam Berat. Marsen's-Opinion and Sciences.htm.wordpress.com**. diakses pada tanggal 22 November 2015

Ringwood, H., J. Hoguet, C. Keppler and M. Gielazyn. 2004. **Linkages Between Cellular Biomarker Responses and Reproductive Success in Oysters – *Crasostrea virginica***. *Marine Enviromental Res.*, 58 :151 – 155

Roesijadi, G. 1994. **Metallothionein Introduction as a Measure of Response to Metal Exposure in Aquatic Animal**. *Environ Health Perspect* 102 (Suppl 12): 91-96.

Rudiyanti, S. 2009. **Biokonsentrasi Kerang Darah (*Anadara granosa* Linn) Terhadap Logam Berat Cadmium (Cd) yang Terkandung dalam Media Pemeliharaan yang Berasal dari Perairan Kaliwungu, Kendal**. Artikel. Universitas Diponegoro. Semarang.

Rumahlatu, D., A. D. Corebima, M. Amin, F. Rachman. 2012. **Kadmium dan efeknya terhadap ekspresi protein metallothionein pada *deadema setosum* (*Echinoidea*; *Echinodermata*)**. *Jurnal Penelitian Perikanan*. 1 (1) : 26-35.

- Saeni, M.S. 2003. **Biologi Air Limbah**. Program Pascasarjana IPB, Bogor.
- Sambaz. 2010. **Budidaya Tiram Mutiara**. Zaldibiaksambas.files.wordpress.com/2010/10/ tiram-mutiara.pdf.diakses 25 November 2015.
- Sarjono, A. 2009. **Analisis Kandungan Logam Berat Cd, Pb dan Hg pada Air dan Sedimen di Perairan Kamal Muara, Jakarta Utara**. IPB. Bogor
- Sarwono, J., 2006. **Metode Penelitian Kuantitatif dan Kualitatif**. Penerbit Rineka Cipta. Jakarta
- Simanjuntak, Marojohan. 2009. **Hubungan Faktor Kimia, Fisika Terhadap Distribusi Plankton di Perairan Belitung**. LIPI. Jakarta
- Sitorus, Hasan. 2011. **Analisis Beberapa Parameter Lingkungan Perairan Yang Mempengaruhi Akumulasi Logam Berat Timbal Dalam Tubuh Kerang Darah Di Perairan Pesisir Timur Sumatera Utara**. *VISI*. 19 (1): 374-385.
- Soemirat, J. 2005. **Toksikologi Lingkungan**. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Stillman M.J., Wuhua C., dan Andrzej J.Z. 1987. Cadmium Binding to Metallothionein. **The Journal of Biological Chemistry**. Vol. 262, No. 10: 4538-4548
- Subarijanti, U.H.1990. **Kesuburan dan Pemupukan Perairan**. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang.
- Suhendrayatna. 2001. **Bioremoval Logam Berat dengan Menggunakan Microorganisme : Suatu Kajian Kepustakaan (Heavy Metal Bioremoval by Microorganism : A Literature Study**
- Sujianto, Agus Eko. 2009. **Aplikasi Statistik dengan SPSS 16.0**. PT. Prestasi Pustaka Karya. Jakarta
- Suprpto. 2011. **Metode Analisis Parameter Kualitas Air Untuk Budidaya Udang**. Shrimp club: Indonesia
- Surakhmad, W. 1998. **Pengantar Penelitian Ilmiah Dasar Metode Teknik**. Torsito Press. Bandung.
- Suryadiputra, I. N. 1995. **Pengolahan air limbah dengan metode biologi**. Fakultas perikanan dan ilmu kelautan. Institut pertanian bogor. Bogor.
- Suryono, C. Adhi. 2006. **Bioakumulasi Logam Berat Melalui Sistim Jaringan Makanan dan Lingkungan pada Kerang Bulu Anadara inflata**. *Jurnal Ilmu Kelautan*. Vol 11(1) : 19-22.
- Suwondo, Elya F., dan Nurida S. 2012. **Kepadatan dan Distribusi Bivalvia Pada Mangrove di Pantai Cermin Kabupaten Sendang Bedagai Provinsi Sumatera Utara**. *Jurnal Biogenesis*. 9 (1) : 45-50.

- Syarili, A. 2011. Biologi Kerang. <http://www.bumi-ilmu.htm.wordpress.com>. Diakses pada tanggal 22 November 2015
- Talman, S. G dan M.J Keough. 2001. **Impact of an exotic clam corbua on the commercial scallop pecten fumatus in Phillip, south-east Australia: evidence of resource retracted growth in sub tidal environment.** Marine Ecology Progress series.
- Tripod. 2010. **Mollusca.** <http://mollusca-din.tripod.com/klasifikasi.html>.
- Unity A.J. A., Dece Elisabeth Sahertian. 2010. Deteksi Kandungan Antioksidan Superoksida Dismustase(SOD) Pada Organ Ginjal Tikus *Rattus Norvegicus* dengan Pewarnaan Imunohistokimia. **Seminar Nasional Basic science II Proseding.** FMIPA. Universitas Pattimura. Ambon.
- Walpole, R. E. 1995. **Pengantar Statistika Edisi ke-3.** Penerbit Gramedia. Jakarta.
- Wahyuni, H., Sasongko, S.B., dan Sasongko, D.P. 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 2013** : 489-494
- Wardhani, E. 2009. **Identifikasi pencemaran logam berat raksa di Sungai itarum Hulu Jawa Barat.** *Jurnal Teknik Kimia Indonesia.* 8 (1) : 17-23.
- Widayati, D.E., Aunurohim dan Nurlita. 2011. **Studi Histopatologi Insang Ikan Mujair (*Oreochromis mossambicus*) Pada Kosentrasi Sublethal Air Lumpur Sidoarjo.** ITS. Surabaya
- Widodo. Agus.2005. Daya Adsorpsi monmorilonit teraktivasi terhadap rhodaminB. **Skripsi.** Jurdik Kimia. FMIPA.UNY
- Wijarni, 1990. **Avertebrata Air II. Diktat Kuliah.** LUW/ UNIBRAW/ FISH. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang
- Wulandari, E. 2010. **Analisis Kandungan Logam Berat Timbal (Pb) dan Karakteristik Haemocyte Tiram (*saccostrea glomerata*) dari Perairan Pelabuhan Perikanan Nusantara Prigi Trenggalek, Jawa Timur.** Universitas Brawijaya. Malang
- Yasuda, Y. 2000. **Environmental change in eurasia. Monsoon.** Vol 1(1), pp: 1-133.
- Yuliana, Silalahi. 2005. **Analisis Kualitas Air dan Hubungan dengan Keanekaragaman Vegetatif Akuatik di Perairan Belige Danau Toba.** Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Zipcodezoo, 2015. **Klasifikasi *Corbicula javanica* org.** Diakses tanggal 22 November 2015, pukul 13.00 WIB.

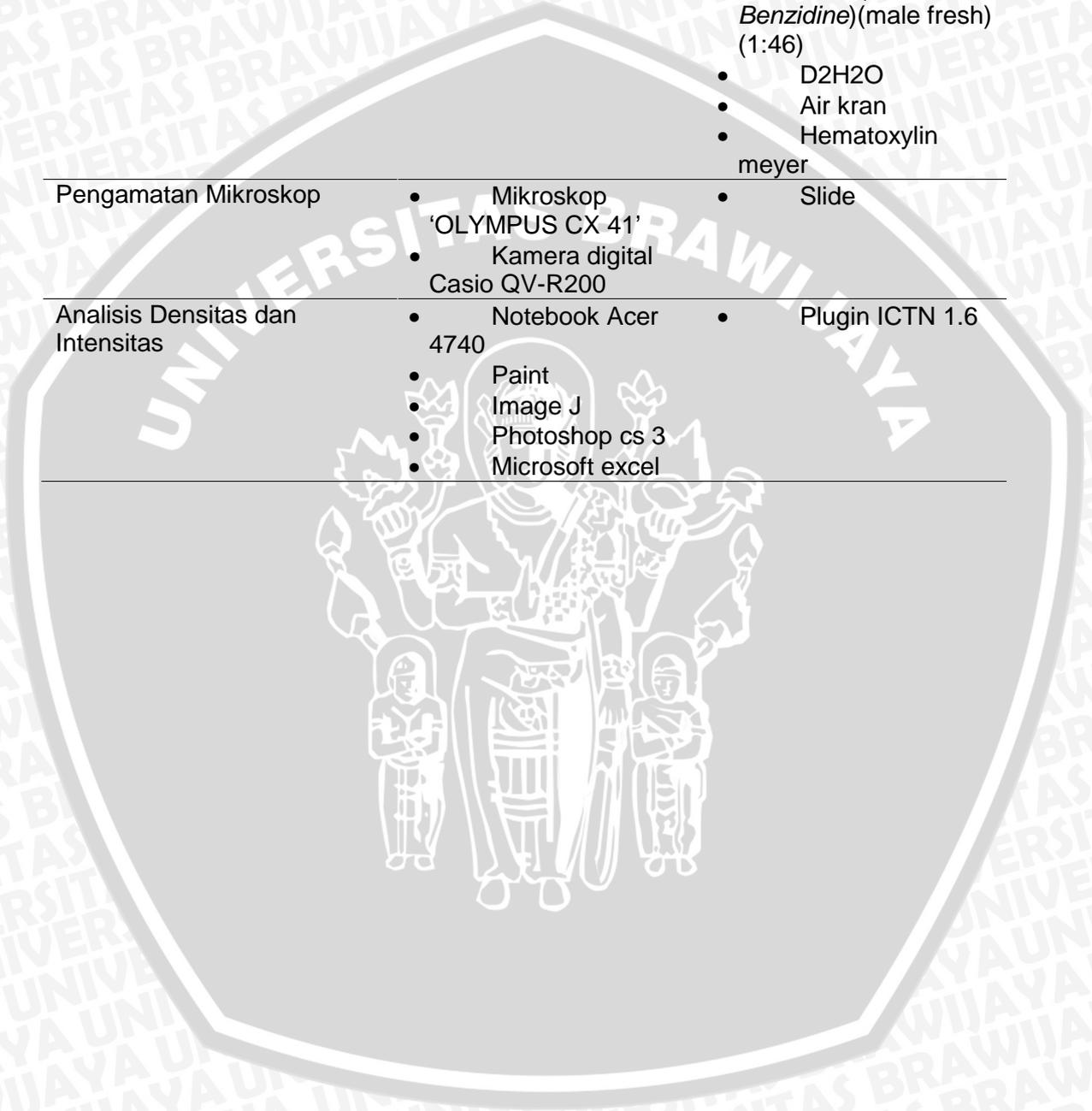
LAMPIRAN

LAMPIRAN 1. Alat dan Bahan Penelitian

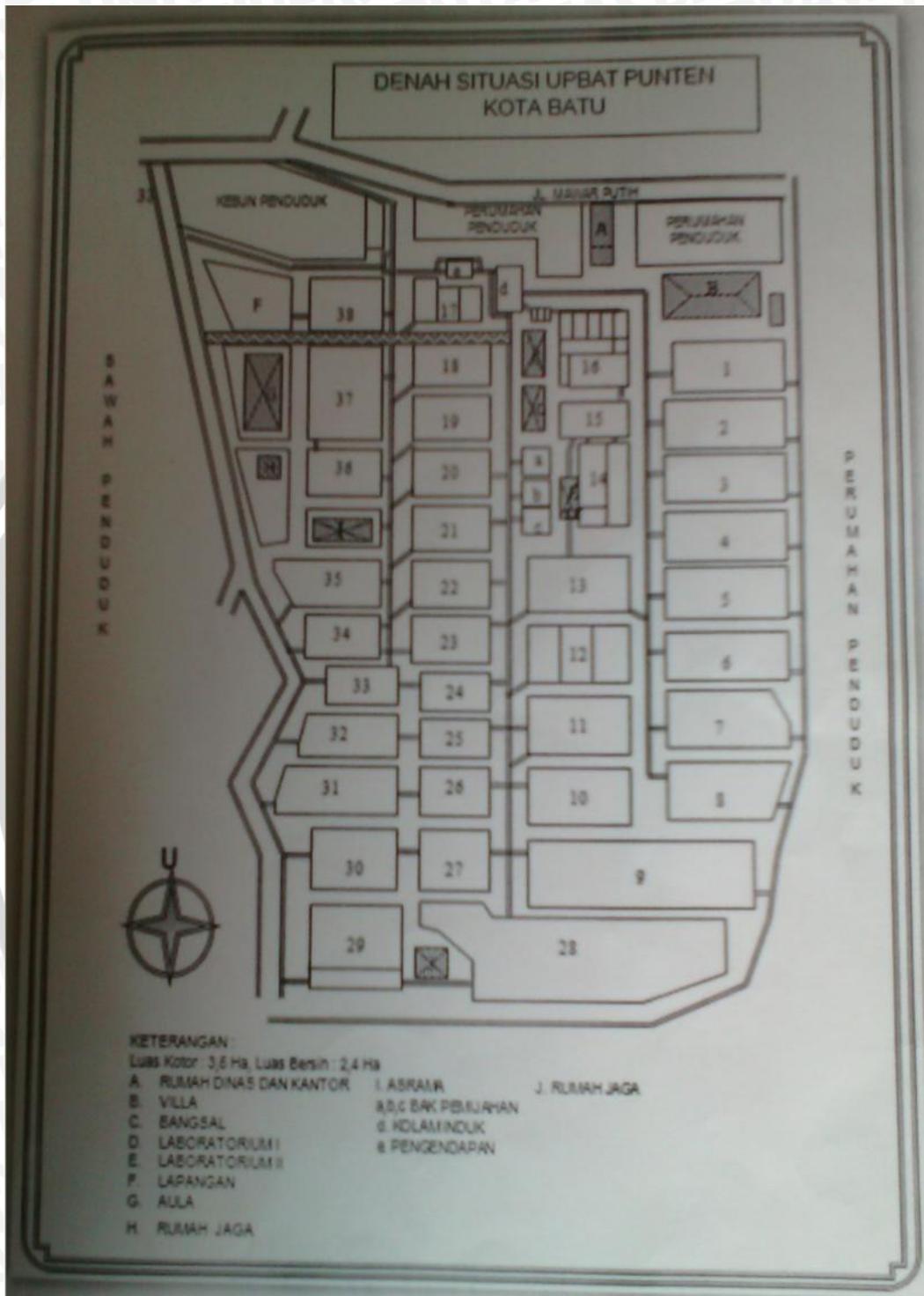
PROSEDUR	ALAT	BAHAN
Pengukuran Kualitas Air - Suhu - Oksigen Terlarut - pH	<ul style="list-style-type: none"> • Thermometer Hg • Pipet Volume • Bola Hisap • Pipet Tetes • Botol Winkler • Kotak standart • pH • Lampu Elektroda • Pb • Timbangan • Sartorius • Oven • Hot Plate • Beaker Glass • Labu Ukur •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



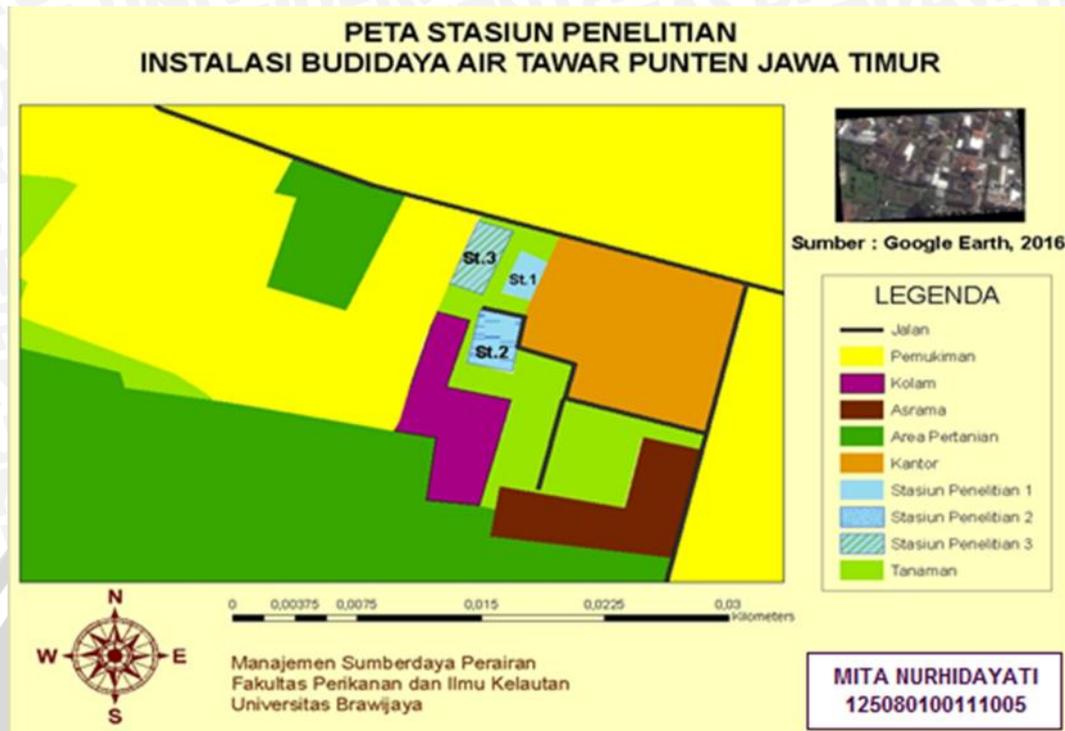
	<ul style="list-style-type: none"> • metallothionein • 2nd AB in PBS (1:200) • Detection antibody • Aquadest • DAB (<i>diamino Benzidine</i>)(male fresh) (1:46) • D2H2O • Air kran • Hematoxylin meyer
Pengamatan Mikroskop	<ul style="list-style-type: none"> • Mikroskop 'OLYMPUS CX 41' • Kamera digital Casio QV-R200
Analisis Densitas dan Intensitas	<ul style="list-style-type: none"> • Notebook Acer 4740 • Paint • Image J • Photoshop cs 3 • Microsoft excel
	<ul style="list-style-type: none"> • Plugin ICTN 1.6



LAMPIRAN 2. Denah kolom pada IBAT Punten



LAMPIRAN 3. Peta Lokasi Penelitian



LAMPIRAN 4. Sebaran Ukuran Kerang

Stasiun	Ulangan	Panjang (cm)	Tinggi (cm)	Lebar (cm)
1	1	2.60	2.00	1.80
	2	3.00	2.40	2.00
	3	2.45	1.95	1.45
Rata-rata		2.68	2.12	1.75
Standar Deviasi		0.28	0.25	0.28
2	1	3.80	3.00	2.60
	2	3.40	2.80	2.00
	3	3.40	2.80	2.00
Rata-rata		3.53	2.87	2.20
Standar Deviasi		0.23	0.12	0.35
3	1	2.60	2.05	1.85
	2	2.80	2.45	2.25
	3	2.00	1.85	1.30
Rata-rata		2.47	2.12	1.80
Standar Deviasi		0.42	0.31	0.48



LAMPIRAN 5. Data Logam Berat di Air dan Insang *Corbicula javanica*

a. Logam Berat di Air

Stasiun	Logam Berat (mg/l)		
	Pb	Cd	Hg
1	0.0059	0.0054	0.0029
2	0.0073	0.0026	0.0034
3	0.0055	0.0043	0.0054

b. Logam berat pada Insang *Corbicula javanica*

Stasiun	Ulangan	Logam Berat (mg/l)		
		Pb	Cd	Hg
1	1	0.086	0.053	0.040
	2	0.115	0.071	0.061
	3	0.114	0.071	0.061
	Rata-rata	0.105	0.065	0.054
	Standar Deviasi	0.016	0.010	0.012
2	1	0.130	0.089	0.081
	2	0.158	0.089	0.102
	3	0.126	0.087	0.071
	Rata-rata	0.138	0.088	0.085
	Standar Deviasi	0.017	0.001	0.016
3	1	0.101	0.071	0.041
	2	0.085	0.017	0.040
	3	0.070	0.035	0.020
	Rata-rata	0.085	0.041	0.034
	Standar Deviasi	0.015	0.027	0.012

Lampiran 6. Jumlah dan Densitas Metallothionein

b. Jumlah Metallothionein

PLOT/ ULANGAN	JUMLAH METALLOTHIONEIN								
	STASIUN								
	I			II			III		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	2044	2143	2205	2342	2495	2302	2383	2246	2301
2	2202	2413	2120	2515	2550	2395	1886	2175	2122
3	2342	2303	2420	2246	2502	2303	2384	2142	1956

c. Densitas Metallothionein

PLOT/ ULANGAN	DENSITAS METALLOTHIONEIN (MT/ μm^2)								
	STASIUN								
	I			II			III		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	0.01042	0.01092	0.01124	0.01193	0.01271	0.01173	0.01214	0.01144	0.01172
2	0.01122	0.01230	0.01080	0.01282	0.01299	0.0122	0.00961	0.01108	0.01081
3	0.01193	0.01174	0.01233	0.01144	0.01275	0.01174	0.01215	0.01091	0.00997
RERATA	0.01119	0.01165	0.01146	0.01206	0.01282	0.01189	0.01130	0.01115	0.01083

$$\text{Rumus Densitas (MT}/\mu\text{m}^2) = \frac{\text{Jumlah Metallothionein}}{\text{Luas Bidang Pandang}}$$

Luas Bidang Pandang

$$= \frac{1}{4} \pi D^2$$

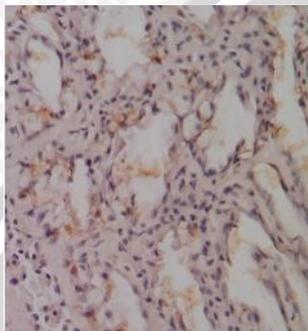
$$= \frac{1}{4} 3,14 \cdot 0,5^2$$

$$= 0,19625 \text{ mm}^2 = 196250 \mu\text{m}^2$$

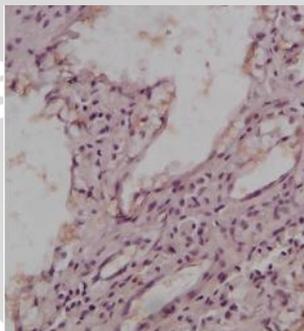
LAMPIRAN 7. Gambar Densitas dan Intensitas Metallothionein

Keterangan kode: K = Kolam
I = Insang
A= Inlet
B= Tengah
C= Outlet

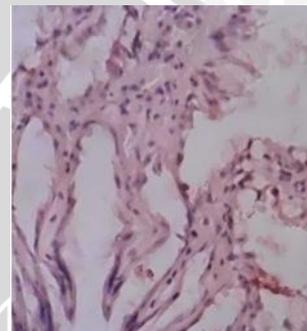
a. Stasiun 1 ulangan 1



K1 I A

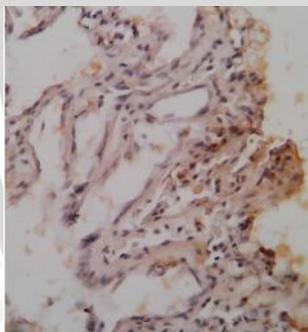


K1 I B

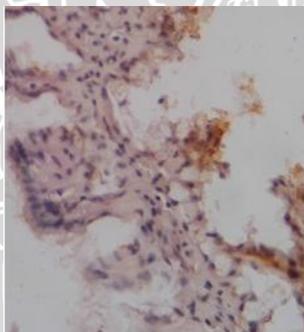


K1 I C

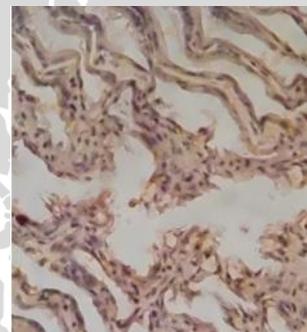
b. Stasiun 1 Ulangan 2



K1 I A

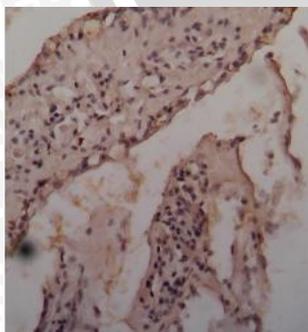


K1 I B

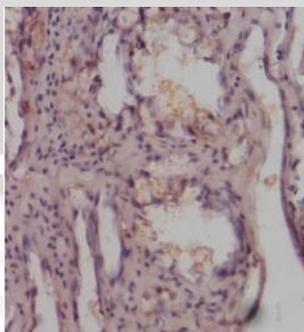


K1 I C

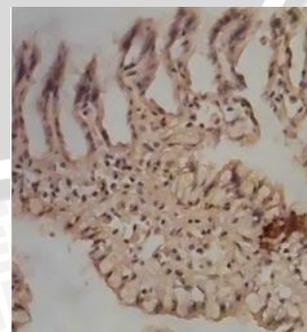
c. Stasiun 1 Ulangan 3



K1 I A

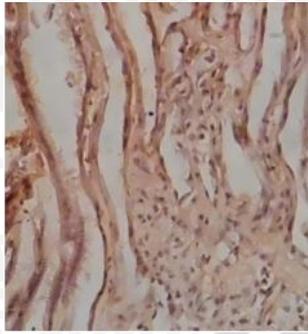


K1 I B

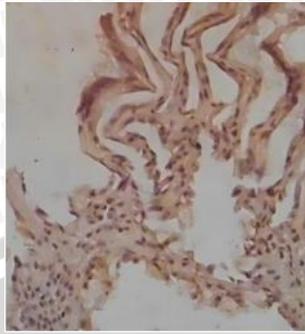


K1 I C

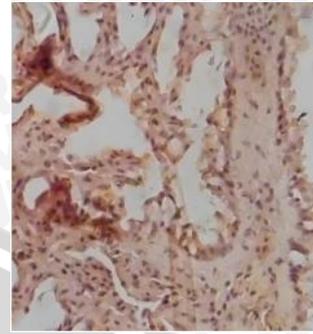
d. Stasiun 2 Ulangan 1



K2 I A

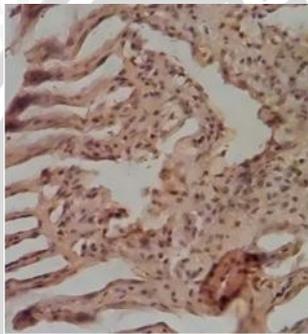


K2 I B

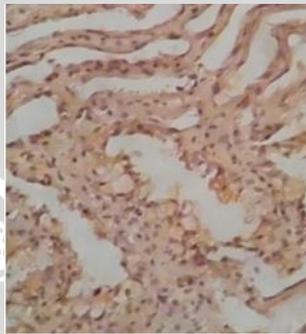


K2 I C

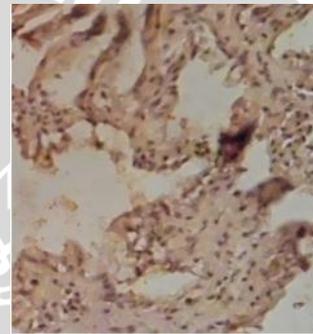
e. Stasiun 2 Ulangan 2



K2 I A

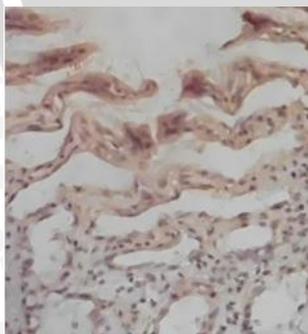


K2 I B

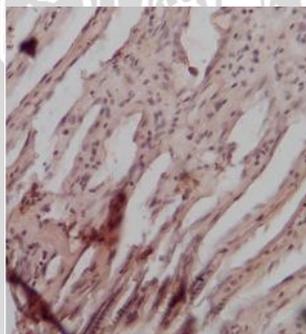


K2 I C

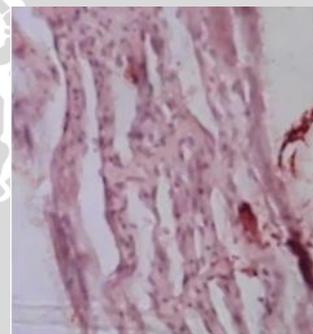
f. Stasiun 2 Ulangan 3



K2 I A



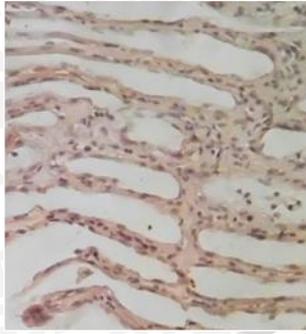
K2 I B



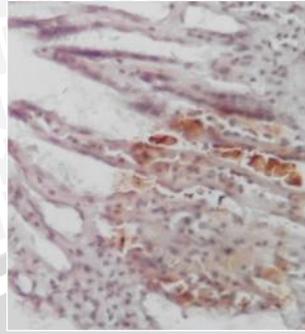
K2 I C



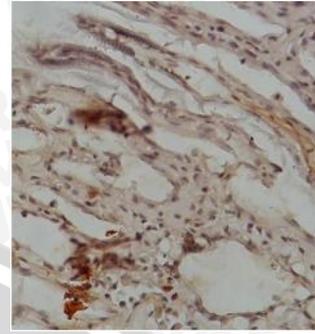
g. Stasiun 3 Ulangan 1



K3 I A

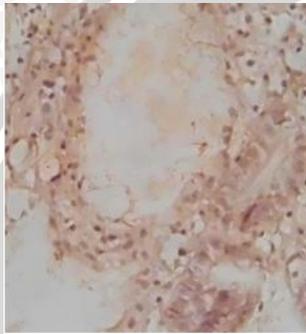


K3 I B



K3 I C

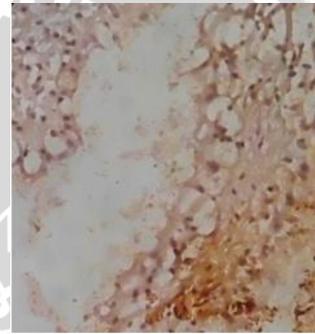
h. Stasiun 3 Ulangan 2



K3 I A



K3 I B

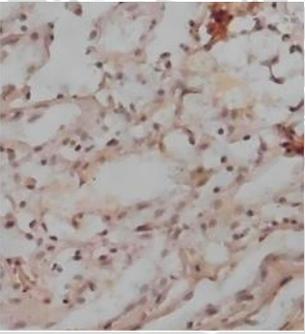


K3 I C

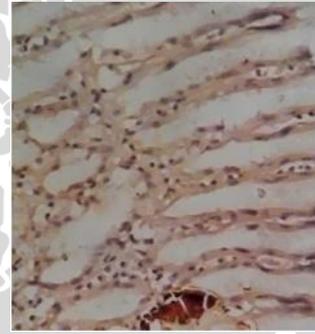
i. Stasiun 3 Ulangan 3



K3 I A



K3 I B



K3 I C



LAMPIRAN 8. Data Intensitas Metallothionein

PLOT/ ULANGAN	DATA INTENSITAS METALLOTHIONEIN (pixel)								
	STASIUN								
	I			II			III		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	538900	626935	662884	429613	530960	564808	676884	659663	336486
	552693	678715	787556	530619	459047	521600	737652	695682	348105
	365426	613610	670620	572818	527605	530970	681024	669439	413537
	471986	632257	746367	602426	542903	486215	601166	643497	476260
	648389	577012	800412	495938	648173	530689	749998	592920	327757
	672116	613550	755512	627258	591599	555465	685122	640878	336422
	638707	640931	646651	509061	558099	557043	741594	602849	404265
	637112	730972	723767	620822	655378	524649	738971	614810	438885
	573294	633124	739435	566264	598098	600260	689715	713838	306459
	519686	555093	727294	486526	661567	495271	630419	714337	361077
RERATA	561831	630220	726050	544135	577343	536697	693255	654791	374925
2	632607	600042	653625	637963	741613	672977	673401	449439	698990
	571998	609712	514739	605274	624083	763515	586757	401593	680638
	428411	598178	643251	715788	649899	742642	594917	337727	640830
	389987	535439	656282	716896	627091	644051	470364	342634	653168
	549454	581766	645509	635580	628140	649166	505604	402982	432526
	408684	644275	694389	592592	672497	709660	535539	487577	466538
	359106	522041	618934	619033	632849	701410	742831	300705	619280
	487817	616240	638707	690335	683877	697587	699403	329625	555625
	461007	597881	618550	708827	651712	655980	583277	304505	608961
	482659	630634	594173	801337	694422	713034	559789	436821	480498
RERATA	477173	593621	627816	672363	660618	695002	595188	379361	583705
3	595791	484801	261916	378254	646188	442532	372134	346611	287274
	577715	451593	336358	371058	569937	400043	423826	421136	379652
	587392	499381	381848	531181	582170	360923	462247	417447	309541
	629179	454572	417771	690040	591850	378648	454071	460233	269397
	647982	482421	355194	639406	672265	428652	359034	457335	297087
	649922	664643	348992	653036	614255	675392	514386	398300	468397
	695928	569426	259753	577658	616046	658498	526871	555319	554206
	669813	600442	571778	589166	555336	722470	457726	683037	505778
	712757	573463	544284	640898	588674	685249	499549	545439	279887
	673500	637117	479038	716074	532280	523408	443366	549443	476882
RERATA	643998	541786	395693	578677	596900	527582	451321	483430	382810



LAMPIRAN 9. Hasil Regresi SPSS

1. Regresi Densitas dengan Pb

Variables Entered/Removed^b

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	Pb ^a		.Enter

a. All requested variables entered.

b. Dependent Variable: Densitas

Model Summary^b

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.977 ^a	.954	.947	.00013706

a. Predictors: (Constant), Pb

b. Dependent Variable: Densitas

ANOVA^b

Model		Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	.000	1	.000	145.212	.000 ^a
	Residual	.000	7	.000		
	Total	.000	8			

a. Predictors: (Constant), Pb

b. Dependent Variable: Densitas

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	.009	.000		45.983	.000
	Pb	.022	.002	.977	12.050	.000

a. Dependent Variable: Densitas

2. Regresi Densitas dengan Cd

Variables Entered/Removed^b

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	Cd ^a		. Enter

a. All requested variables entered.

b. Dependent Variable: Densitas

Model Summary^b

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.779 ^a	.607	.550	.00040092

a. Predictors: (Constant), Cd

b. Dependent Variable: Densitas

ANOVA^b

Model		Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	.000	1	.000	10.790	.013 ^a
	Residual	.000	7	.000		
	Total	.000	8			

a. Predictors: (Constant), Cd

b. Dependent Variable: Densitas

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	.010	.000		26.821	.000
	Cd	.018	.006	.779	3.285	.013

a. Dependent Variable: Densitas

3. Regresi Densitas dengan Hg

Variables Entered/Removed^b

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	Hg ^a		. Enter

a. All requested variables entered.

b. Dependent Variable: Densitas

Model Summary^b

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.980 ^a	.961	.955	.00012614

a. Predictors: (Constant), Hg

b. Dependent Variable: Densitas

ANOVA^b

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	.000	1	.000	172.697	.000 ^a
	Residual	.000	7	.000		
	Total	.000	8			

a. Predictors: (Constant), Hg

b. Dependent Variable: Densitas

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	.010	.000		92.790	.000
	Hg	.023	.002	.980	13.141	.000

a. Dependent Variable: Densitas

4. Regresi Intensitas dengan Pb

Variables Entered/Removed^b

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	Pb ^a		Enter

a. All requested variables entered.

b. Dependent Variable: Intensitas

Model Summary^b

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.839 ^a	.703	.661	30683.931

a. Predictors: (Constant), Pb

b. Dependent Variable: Intensitas

ANOVA^b

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	1.561E10	1	1.561E10	16.579	.005 ^a
	Residual	6.591E9	7	9.415E8		
	Total	2.220E10	8			

a. Predictors: (Constant), Pb

b. Dependent Variable: Intensitas

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	T	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	384141.419	44971.838		8.542	.000
	Pb	1629262.159	400141.993	.839	4.072	.005

a. Dependent Variable: Intensitas

5. Regresi Intensitas dengan Cd

Variables Entered/Removed^b

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	Cd ^a		Enter

a. All requested variables entered.

b. Dependent Variable: Intensitas

Model Summary^b

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.861 ^a	.741	.703	28687.409

a. Predictors: (Constant), Cd

b. Dependent Variable: Intensitas

ANOVA^b

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	1.644E10	1	1.644E10	19.975	.003 ^a
	Residual	5.761E9	7	8.230E8		
	Total	2.220E10	8			

a. Predictors: (Constant), Cd

b. Dependent Variable: Intensitas

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	446059.789	27743.147		16.078	.000
	Cd	1796840.302	402037.058	.861	4.469	.003

a. Dependent Variable: Intensitas



6. Regresi Intensitas dengan Hg

Variables Entered/Removed^b

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	Hg ^a		. Enter

- a. All requested variables entered.
 b. Dependent Variable: Intensitas

Model Summary^b

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.811 ^a	.658	.609	32936.356

- a. Predictors: (Constant), Hg
 b. Dependent Variable: Intensitas

ANOVA^b

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	1.461E10	1	1.461E10	13.464	.008 ^a
	Residual	7.594E9	7	1.085E9		
	Total	2.220E10	8			

- a. Predictors: (Constant), Hg
 b. Dependent Variable: Intensitas

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	T	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	464569.482	28847.412		16.104	.000
	Hg	1704005.147	464389.048	.811	3.669	.008

- a. Dependent Variable: Intensitas

7. Multiple Regresi Densitas dengan Logam Berat (Pb, Cd dan Hg)

Variables Entered/Removed^b

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	Hg, Cd, Pb ^a		.Enter

a. All requested variables entered.

b. Dependent Variable: Densitas

Model Summary^b

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate	Durbin-Watson
1	.984 ^a	.969	.951	.00013294	1.883

a. Predictors: (Constant), Hg, Cd, Pb

b. Dependent Variable: Densitas

ANOVA^b

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	.000	3	.000	52.265	.000 ^a
	Residual	.000	5	.000		
	Total	.000	8			

a. Predictors: (Constant), Hg, Cd, Pb

b. Dependent Variable: Densitas

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	.010	.001		15.799	.000
	Pb	.015	.013	.684	1.136	.307
	Cd	-.003	.004	-.139	-.813	.453
	Hg	.010	.012	.417	.798	.461

a. Dependent Variable: Densitas

8. Multiple Regresi Intensitas dengan Logam Berat (Pb, Cd dan Hg)

Variables Entered/Removed^b

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	Hg, Cd, Pb ^a		Enter

a. All requested variables entered.

b. Dependent Variable: Intensitas

Model Summary^b

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.885 ^a	.782	.652	31075.851

a. Predictors: (Constant), Hg, Cd, Pb

b. Dependent Variable: Intensitas

ANOVA^b

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	1.737E10	3	5.790E9	5.996	.041 ^a
	Residual	4.829E9	5	9.657E8		
	Total	2.220E10	8			

a. Predictors: (Constant), Hg, Cd, Pb

b. Dependent Variable: Intensitas

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	438518.831	141811.011		3.092	.027
	Pb	73324.856	3.105E6	.038	.024	.982
	Cd	1212811.179	946279.956	.581	1.282	.256
	Hg	650159.799	2.912E6	.309	.223	.832

a. Dependent Variable: Intensitas

LAMPIRAN 10. Dokumentasi Kegiatan



Sampling



Pengambilan Sample DO



Pengukuran besar ukuran Kerang Jawa (*Corbicula javanica*)



Pembedahan Kerang



Pengeblokan dan Pembuatan Preparat



Pewarnaan Imunohistokimia



Pengamatan dengan Mikroskop

