

LAMPIRAN

Lampiran 1. Denah Lokasi Pengambilan Sampel



Gambar 1. Peta Lokasi Pengambilan Sampel (Perairan Kenjeran)



Gambar 2. Peta Lokasi Pengambilan Sampel (Perairan Banyu Urip dan Ngembah)

Lampiran 2. Alat dan Bahan yang Digunakan dalam Penelitian

A. Alat dan Fungsi

Nama Alat	Fungsi Alat
pH meter	Mengukur pH pada perairan
Refraktometer	Mengukur salinitas pada perairan
Termometer	Mengukur suhu pada perairan
DO meter	Mengukur oksigen terlarut pada perairan
Akuarium	Sebagai tempat sementara kerang
Pipet tetes	Mengambil larutan dalam skala kecil
Beaker glass	Sebagai tempat larutan
Perangkat aerasi	Sebagai suplai oksigen pada perairan
Erlenmeyer	Sebagai tempat menghomogenkan larutan
Cawan petri	Sebagai wadah aquades untuk membilas kantong celovan
Mortar dan Alu	Untuk menghaluskan sampel
Autoclave	Untuk mensterilisasikan alat dan bahan
Sectio set	Untuk membedah kerang hijau
Microplate	Untuk mengambil laputan dalam skala yang sudah ditentukan
Spatula	Untuk mengaduk bahan
Eppendorf 1; 1,5 dan 2 ml	Untuk meletakkan sampel
Falcon 15 dan 50 ml	Untuk menyimpan bahan dalam skala tertentu
mikropipet 20, 200, dan 1000 μ l	Untuk mengambil larutan dalam skala mikroliter
Blue tip	Untuk mengambil larutan pada skala 2000 mikroliter
Yellow tip	Untuk mengambil larutan dalam skala 1000 mikroliter
Deepfreezer -80°C	Untuk menyimpan sampel kerang hijau
Freezer -20°C	Untuk menyimpan bahan
Sentriuge 4°C	Untuk memisahkan supernatan dan residu
Refrigerator 4°C	Untuk menyimpan bahan
Spuir 1 cc 1/2"X26G	Untuk mengambil bahan dalam skala kecil
Timbangan analitik	Untuk menimbang sampel dengan ketelitian 10^{-2}
Nanodrop spektrofometer	Untuk mengukur kadar protein
Magnetik stirrer	Untuk membantu menghomogenkan larutan
Sendok erlenmeyer	Untuk megambil bahan
Kantong celovan	Untuk memisahkan protein murni dalam proses dialisa
Tubing petri disk	Untuk menjepit kantong celovan
Hot plate	Untuk memanaskan PBS dan Na-EDTA
Spatula	Untuk membantu menghomogenkan larutan
Tabung nitrogen cair	Sebagai tempat nitrogen cair

Chamber	Sebagai tempat melakukan proses SDS-PAGE
Water bath shaker	Sebagai tempat pembilasan
Seperangkat alat elektroforesis (SDS-PAGE)	Untuk mengukur kadar protein
Seperangkat alat Western Blot	Untuk mengukur metallothionein
Nampan	Sebagai wadah alat dan bahan
Kotak penyimpanan gel	Sebagai wadah penyimpanan gel SDS-PAGE
Kamera	Untuk mengambil gambar pengamatan

B. Bahan Fungsi

Nama Bahan	Fungsi Bahan
Kerang Hiau (<i>Perna viridis</i> L.)	Sebagai biota yang akan dianalisis
Buffer ekstrak	sebagai penyeimbang pH
Phospat Buffer Saline (PBS)	Untuk menjaga integritas sel atau tidak merusak sel
Masker	Untuk melindungi bahan dari kontaminasi
Sarung tangan	Untuk melindungi bahan dari kontaminasi
Alkaline Phospatase Subtrat (chromogen NBT)	Untuk membentuk senyawa berwarna
Aquadest	Untuk mengkalibrasi alat dan bahan
Stacking gel 5%, terdiri dari : 1. Akrilamid 30%, 2. Tris HCL 1.5 M pH 6.8, 3. dH ₂ O, 4. Sodium Dodecyl Sulfate (SDS) 10%, 5. Ammonium Persulfat (APS) 10%, 6. Tetra ethylene diamine (TEMED)	Sebagai bahan membuat gel pada proses SDS-PAGE
Separating gel 12,5%, terdiri dari : 1. Acrilamid 30%, 2. Tris HCL 1.5 M pH 8.8, 3. dH ₂ O, 4. SDS 10%, 5. 10%, 6. TEMED 7. Reducing Sampel Buffer (RBS) dengan perbandingan 1:1 (RSB : sampel)	Sebagai bahan membuat gel pada proses SDS-PAGE
Marker GangNam-STAIN™	Sebagai acuan untuk mengetahui ukuran BM hasil ampifikasi
Staining solution (commasie blue)	Sebagai pewarna dalam proses SDS-PAGE
Destaining solution	Untuk memisahkan molekul-molekul

	protein berdasarkan berat molekul
<i>Running buffer</i>	Memisahkan protein dengan bantuan arus listrik
Es batu	Untuk menjaga kerang hijau dari kerusakan
Glicyn	Sebagai pelarut pada saat isolasi protein
Na-EDTA	Untuk menjaga larutan agar tidak menggumpal
Air laut	Sebagai media hidup kerang hijau
<i>Aluminium foil</i>	Untuk menyimpan bahan pada suhu ekstrim
Alkohol 70%	Untuk sterilisasi alat yang akan digunakan
Anti MT	Sebagai antibodi primer pada saat melakukan <i>Western Blot</i>
Anti goat poliklonal	Sebagai antibodi sekunder pada saat melakukan <i>Western Blot</i>
PVDF	Sebagai membran protein
TBST	Untuk pencucian sampel protein
Plastik klip	Untuk menyimpan organ setelah dihaluskan
Isolasi kertas	Untuk memberi label pada alat dan bahan



Lampiran 3. Road Map Hasil Penelitian Sebelumnya

No	Sumber	Judul	Lokasi	Hasil Penelitian
1.	Verlanda (2015)	Analisis konsentrasi logam berat Cu pada kerang hijau (<i>Perna viridis</i>) dan kerang darah (<i>Anadara granosa</i>) di perairan Ujung Pangkah kabupaten Gresik.	Perairan Ujung Pangkah Kabupaten Gresik	Kandungan Cu Air = $0,045 \pm 0,020$ ppm Sedimen = $1,019 \pm 0,376$ ppm Kerang = $0,292 \pm 0,079$ ppm
2.	Rahmandari (2015)	Analisis kandungan logam berat timbal (Pb) pada air, sedimen, dan daging kerang hijau (<i>Perna viridis</i> L) dari Perairan Laut Ketapang, Probolinggo, Jawa Timur	Perairan Ketapang, Probolinggo	Kandungan Pb Air = 0,007-0,00766 ppm Sedimen = 0,769-0,751 ppm Kerang = 0,089-0,1023 ppm
3.	Eshmat, et al. (2014)	Analisis terhadap kandungan logam berat di perairan Ngembah dan Kenjeran pernah dilakukan, seperti Analisis kandungan logam berat timbal (Pb) dan kadmium (Cd) pada kerang hijau (<i>Perna viridis</i> L.) di Perairan Ngembah Kabupaten Gresik Jawa Timur	Perairan Ngembah, Gresik	Kandungan Pb, Air 0,003-0,055 ppm Sedimen = 1,919-2,023 ppm Kerang = 0,871 – 0,161 ppm
4.	Hutagaol (2012)	Kajian kandungan logam berat timbal (Pb) pada air, sedimen, dan kerang hijau (<i>Perna viridis</i> , Linn.) di Perairan Muara Kamal, Provinsi DKI Jakarta	Perairan Muara Kamal, DKI Jakarta	Kandungan Pb Air = 0,089-0,071 ppm Sedimen = 16,012-12,546 ppm Kerang = 43,023-41,387

				ppm
5.	Putri, <i>et al.</i> (2012)	Keragaman bivalvia dan peranannya sebagai bioindikator logam berat kromium di perairan Kenjeran Surabaya, Kecamatan Bulak, Kota Surabaya	Perairan Kenjeran, Surabaya	Kandungan Kromium Air = 0,049-0,056 ppm Sedimen = 19,601-26,391 ppm Otot = 46,76-52,58 ppm
6.	Komara (2014)	Analisis kandungan logam berat timbal Pb pada organisme kerang hijau (<i>Perna viridis</i> L) sebagai bioindikator lingkungan di muara sungai Ujung Pangkah Desa Banyu Urip Kabupaten Gresik	Muara sungai Desa Banyu Urip Kabupaten Gresik	Kandungan Pb Air = 9,16 ppm Sedimen = 7,287 ppm Kerang = 0,02 ppm

Lampiran 4. Data Hasil Pengukuran Logam Berat (Hg, Pb dan Cd) dan Kualitas Air

A. Tabel Hasil Pengukuran Logam Berat Hg

No	Lokasi	Sampel	Kandungan Hg (ppm)				
			Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata	Standar Deviasi
1	Kenjeran	Air	0,015	0,013	0,017	0,015	0,002
		Sedimen	0,174	0,268	1,825	0,756	0,927
		Insang	0,286	0,147	0,275	0,236	0,077
		Lambung	0,229	0,248	0,291	0,256	0,032
		Otot	0,234	0,264	0,283	0,260	0,025
2	Banyu Urip	Air	0,008	0,009	0,007	0,008	0,001
		Sedimen	0,716	0,626	0,769	0,704	0,072
		Insang	0,152	0,175	0,172	0,166	0,013
		Lambung	0,181	0,241	0,129	0,184	0,056
		Otot	0,296	0,257	0,215	0,256	0,041
3	Ngemboh	Air	0,011	0,014	0,008	0,011	0,003
		Sedimen	0,659	1,879	0,449	0,996	0,772
		Insang	0,292	0,211	0,251	0,251	0,041
		Lambung	0,183	0,179	0,198	0,187	0,010
		Otot	0,296	0,234	0,176	0,235	0,060

B. Hasil Pengukuran Logam Berat Pb

No	Lokasi	Sampel	Kandungan Pb (ppm)				
			Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata	Standar Deviasi
1	Kenjeran	Air	0,02	0,024	0,002	0,015	0,012
		Sedimen	1,529	2,334	1,255	1,706	0,561
		Insang	0,319	0,321	0,289	0,310	0,092
		Lambung	0,349	0,231	0,291	0,291	0,059
		Otot	0,334	0,252	0,376	0,321	0,063
2	Banyu Urip	Air	0,009	0,011	0,008	0,009	0,002
		Sedimen	1,022	1,136	1,009	1,056	0,070
		Insang	0,182	0,252	0,139	0,291	0,057
		Lambung	0,154	0,211	0,240	0,202	0,044
		Otot	0,297	0,226	0,182	0,235	0,058
3	Ngemboh	Air	0,016	0,01	0,019	0,015	0,005
		Sedimen	1,036	1,314	1,026	1,125	0,163
		Insang	0,212	0,231	0,221	0,221	0,056
		Lambung	0,192	0,251	0,237	0,227	0,031
		Otot	0,354	0,212	0,283	0,283	0,071

C. Hasil Pengukuran Logam Berat Cd

No	Lokasi	Sampel	Kandungan Cd (ppm)				
			Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata	Standar Deviasi
1	Kenjeran	Air	0,007	0,006	0,009	0,007	0,002
		Sedimen	0,576	0,467	0,654	0,566	0,094
		Insang	0,202	0,188	0,295	0,228	0,058
		Lambung	0,119	0,153	0,102	0,125	0,026
		Otot	0,291	0,249	0,185	0,242	0,053
2	Banyu Urip	Air	0,007	0,005	0,009	0,007	0,002
		Sedimen	0,311	0,389	0,280	0,327	0,056
		Insang	0,188	0,191	0,195	0,191	0,004
		Lambung	0,190	0,138	0,223	0,184	0,043
		Otot	0,134	0,169	0,151	0,151	0,018
3	Ngemboh	Air	0,009	0,012	0,007	0,009	0,003
		Sedimen	0,638	0,823	0,545	0,669	0,142
		Insang	0,186	0,252	0,220	0,219	0,033
		Lambung	0,172	0,221	0,306	0,233	0,068
		Otot	0,285	0,236	0,221	0,247	0,033

D. Hasil Pengukuran Kualitas Air

No	Lokasi	Ulangan ke-	Data Kualitas Air				
			Suhu (°C)	Salinitas (‰)	pH	DO (mg/L)	TOM (mg/L)
1	Kenjeran	1	32	25	8,7	5,7	31,6
		2	32	25	8,4	6,3	44,24
		3	33	25	7,6	5,6	17,69
		Rata-rata	32,34	25	8,24	5,87	31,17
		Standar Deviasi	0,58	0	0,57	0,38	13,28
2	Banyu Urip	1	32	28	8,3	3,5	21,48
		2	31	26	8,7	4,1	12,64
		3	32	26	8,6	5	8,84
		Rata-rata	31,67	26,67	8,54	4,2	14,32
		Standar Deviasi	0,58	1,15	0,2	0,75	6,49
3	Ngemboh	1	31	26	7,9	7,38	18,96
		2	31	26	8,1	8,12	42,97
		3	31	26	8,3	6,16	18,96
		Rata-rata	31	26	8,1	7,22	26,96
		Standar Deviasi	0	0	0,2	0,99	13,87

Lampiran 5. Perhitungan Analisis Ragam Logam Berat pada Air, Sedimen, Insang, Lambung dan Otot pada Lokasi Penelitian

A. Variabel Air

$$\begin{aligned} FK &= \frac{(\sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^n \sum_{k=1}^m Y_{ijk})^2}{p \cdot n \cdot m} \\ &= \frac{(0,292)^2}{3 \times 3 \times 3} \\ &= 0,003157926 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Total} &= (\sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^n \sum_{k=1}^m Y_{ijk})^2 - FK \\ &= (0,008^2 + 0,009^2 + \dots + 0,007^2) - 0,003157926 \\ &= 0,000658074 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ T} &= \frac{\sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^n (\sum_{k=1}^m Y_{ijk})^2}{n \cdot m} - FK \\ &= \frac{(0,073^2 + 0,113^2 + 0,106^2)}{3 \times 3} - 0,003157926 \\ &= 0,000101407 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ L} &= \frac{\sum_{i=1}^p \sum_{k=1}^m (\sum_{j=1}^n Y_{ijk})^2}{p \cdot n} - FK \\ &= \frac{(0,102^2 + 0,119^2 + 0,071^2)}{3 \times 3} - 0,003157926 \\ &= 0,00013163 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ TL} &= \frac{\sum_{i=1}^p (\sum_{j=1}^n \sum_{k=1}^m Y_{ijk})^2}{p} - FK \\ &= \frac{(0,024^2 + 0,028^2 + \dots + 0,021^2)}{3} - 0,003157926 \\ &= 0,000283407 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Galat} &= JK \text{ Total} - JK \text{ T} - JK \text{ L} - JK \text{ TL} \\ &= 0,000658074 - 0,000101407 - 0,00013163 - 0,000283407 \\ &= 0,00014163 \end{aligned}$$

Tabel Anova

SK	db	JK	KT	Fhitung	F0,05	F0,01
T	2	0,00010141	0,00005070	6,4440377	3,55	6,01
L	2	0,00013163	0,00006581	8,3645397	3,55	6,01
TL	4	0,00028341	0,00007085	9,0047071	2,93	4,58
Galat	18	0,00014163	0,00000787			
Total	26	0,00065807	0,00002531			

Kesimpulan:

1. $F_{\text{hitung}} (T) > F_{0,01}$ menunjukkan bahwa lokasi sampling memberikan perbedaan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap air.
2. $F_{\text{hitung}} (L) > F_{0,01}$ menunjukkan bahwa logam berat memberikan perbedaan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap air.
3. $F_{\text{hitung}} (TL) > F_{0,01}$ menunjukkan bahwa lokasi sampling dan logam berat menunjukkan interaksi yang sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap air.

UJI BNJ

1) Berdasarkan Lokasi Sampling

SE 0,000311672
BNT 1% 0,00146486

Perlakuan	Rataan	Notasi
BU	0,024333333	a
NG	0,035333333	b
KJ	0,037666667	c**

0,011
0,002333333

2) Berdasarkan Logam Berat

SE 0,000311672
BNT 1% 0,00146486

Perlakuan	Rataan	Notasi
Cd	0,023666667	a
Hg	0,034	b
Pb	0,039666667	C**

0,010333333
0,005666667

3) Berdasarkan Hubungan antara Lokasi Sampling

SE 0,000935017
BNT 1% 0,005684904

Perlakuan	Rataan	Notasi
BU Cd	0,0070000	a
KJ Cd	0,0073333	a
BU Hg	0,0080000	a
BU Pb	0,0093333	ab
NG Cd	0,0093333	ab
NG Hg	0,0110000	abc*
KJ Hg	0,0150000	bc*
NG Pb	0,0150000	bc*
KJ Pb	0,0153333	c**

0,0003333
0,0010000
0,0023333
0,0023333
0,0040000
0,0080000
0,0056667
0,0060000
0,0043333
0,0003333
0,0003333
0,0060000

Keterangan :

- ** : berbeda sangat nyata atau memberikan pengaruh paling signifikan
* : berbeda nyata atau memberikan pengaruh cukup signifikan

B. Variabel Sedimen

$$\begin{aligned} FK &= \frac{(\sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^n \sum_{k=1}^m Y_{ijk})^2}{p \cdot n \cdot m} \\ &= \frac{(23,709)^2}{3 \times 3 \times 3} \\ &= 20,819136 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Total} &= (\sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^n \sum_{k=1}^m Y_{ijk})^2 - FK \\ &= (0,716^2 + 0,626^2 + \dots + 0,545^2) - 20,819136 \\ &= 7,527477 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ T} &= \frac{\sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^n (\sum_{k=1}^m Y_{ijk})^2}{n \cdot m} - FK \\ &= \frac{(6,258^2 + 9,082^2 + 8,369^2)}{3 \times 3} - 20,819136 \\ &= 0,479247 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ L} &= \frac{\sum_{i=1}^p \sum_{k=1}^m (\sum_{j=1}^n Y_{ijk})^2}{p \cdot n} - FK \\ &= \frac{(7,365^2 + 11,661^2 + 4,683^2)}{3 \times 3} - 20,819136 \\ &= 2,753379 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ TL} &= \frac{\sum_{i=1}^p (\sum_{j=1}^n \sum_{k=1}^m Y_{ijk})^2}{p} - FK \\ &= \frac{(2,111^2 + 3,167^2 + \dots + 2,006^2)}{3} - 20,819136 \\ &= 3,848601 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Galat} &= JK \text{ Total} - JK \text{ T} - JK \text{ L} - JK \text{ TL} \\ &= 7,527477 - 0,479247 - 2,753379 - 3,848601 \\ &= 0,446250 \end{aligned}$$

Tabel Anova

SK	db	JK	KT	Fhitung	F0,05	F0,01
Tempat	2	0,479247	0,239623	9,665488	3,55	6,01
Logam berat	2	2,753379	1,376689	4,755102	3,55	6,01
TL	4	3,848601	0,962150	3,323279	2,93	4,58
Galat	18	0,446250	0,024792			
Total	26	7,527477	0,289518			

Kesimpulan:

1. $F_{\text{hitung}} (T) > F_{0,01}$ menunjukkan bahwa lokasi sampling memberikan perbedaan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap sedimen.
2. $F_{\text{hitung}} (L) > F_{0,01}$ menunjukkan bahwa logam berat memberikan perbedaan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap sedimen.
3. $F_{\text{hitung}} (TL) > F_{0,05}$ menunjukkan bahwa lokasi sampling dan logam berat menunjukkan interaksi yang nyata ($P < 0,05$) terhadap sedimen.

UJI BNJ

1) Berdasarkan Lokasi Sampling

SE 0,01749485
BNT 1% 0,0822258

Perlakuan	Rataan	Notasi
BU	2,086	a
NG	2,790	b
KJ	3,027	c

0,704
0,238

2) Berdasarkan Logam Berat

SE 0,01749485
BNT 1% 0,0822258

Perlakuan	Rataan	Notasi
Cd	1,561	a
Hg	2,455	b
Pb	3,887	c

0,894
1,432

3) Berdasarkan Hubungan antara Lokasi Sampling dan Logam Berat

SE 0,05248455
BNT 1% 0,31910608

Perlakuan	Rataan	Notasi
BU Cd	0,326667	a
KJ Cd	0,565667	ab
NG Cd	0,668667	b
BU Hg	0,703667	bc
KJ Hg	0,755667	bcd
NG Hg	0,995667	cde
BU Pb	1,055667	de
NG Pb	1,125333	e
KJ Pb	1,706000	F*

0,239000 0,103000
0,342000 0,327000
0,138000 0,292000
0,190000 0,240000 0,300000
0,430000 0,060000 0,129667
0,352000 0,069667
0,369667
0,710333

Keterangan :

- ** : berbeda sangat nyata atau memberikan pengaruh paling signifikan
* : berbeda nyata atau memberikan pengaruh cukup signifikan

C. Variabel Insang

$$\begin{aligned} \text{FK} &= \frac{(\sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^n \sum_{k=1}^m Y_{ijk})^2}{p \cdot n \cdot m} \\ &= \frac{(6,044)^2}{3 \times 3 \times 3} \\ &= 1,352961 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK Total} &= (\sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^n \sum_{k=1}^m Y_{ijk})^2 - \text{FK} \\ &= (0,152^2 + 0,175^2 + \dots + 0,22^2) - 1,352961 \\ &= 0,073109 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK T} &= \frac{\sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^n (\sum_{k=1}^m Y_{ijk})^2}{n \cdot m} - \text{FK} \\ &= \frac{(1,646^2 + 2,322^2 + 2,076^2)}{3 \times 3} - 1,352961 \\ &= 0,026015 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK L} &= \frac{\sum_{i=1}^p \sum_{k=1}^m (\sum_{j=1}^n Y_{ijk})^2}{p \cdot n} - \text{FK} \\ &= \frac{(1,961^2 + 2,166^2 + 1,917^2)}{3 \times 3} - 1,352961 \\ &= 0,003925 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK TL} &= \frac{\sum_{i=1}^p (\sum_{j=1}^n \sum_{k=1}^m Y_{ijk})^2}{p} - \text{FK} \\ &= \frac{(0,499^2 + 0,573^2 + \dots + 0,658^2)}{3} - 1,352961 \\ &= 0,041277 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK Galat} &= \text{JK Total} - \text{JK T} - \text{JK L} - \text{JK TL} \\ &= 0,073109 - 0,026015 - 0,003925 - 0,041277 \\ &= 0,001894 \end{aligned}$$

Tabel Anova

SK	db	JK	KT	Fhitung	F0,05	F0,01
Tempat	2	0,026015	0,0130073	123,641214	3,55	6,01
Logam berat	2	0,003925	0,0019623	18,652363	3,55	6,01
TL	4	0,041277	0,0103192	98,089579	2,93	4,58
Galat	18	0,001894	0,0001052			
Total	26	0,07310941	0,0028119			

Kesimpulan:

1. $F_{\text{hitung}} (T) > F_{0,01}$ menunjukkan bahwa lokasi sampling memberikan perbedaan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap insang.
2. $F_{\text{hitung}} (L) > F_{0,01}$ menunjukkan bahwa logam berat memberikan perbedaan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap insang.
3. $F_{\text{hitung}} (TL) > F_{0,05}$ menunjukkan bahwa lokasi sampling dan logam berat menunjukkan interaksi yang sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap insang.

UJI BNJ

1) Berdasarkan Lokasi Sampling

SE 0,00114
BNT 1% 0,005356

Perlakuan	Rataan	Notasi
BU	0,549	a
NG	0,692	b
KJ	0,774	c

0,143
0,082

2) Berdasarkan Logam Berat

SE 0,00114
BNT 1% 0,005356

Perlakuan	Rataan	Notasi
Cd	0,639	a
Hg	0,654	b
Pb	0,722	c

0,015 0,068
0,083

3) Berdasarkan Hubungan antara Lokasi Sampling dan Logam Berat

SE 0,003419
BNT 1% 0,020787

Perlakuan	Rataan	Notasi
BU Hg	0,166333	a
BU Pb	0,191000	b
Bu Cd	0,191333	b
NG Cd	0,219333	c
NG Pb	0,221333	c
KJ Cd	0,228333	c
KJ Hg	0,236000	cd
NG HG	0,251333	d
KJ Pb	0,309667	e*

0,024667
0,000333 0,028000
0,028333
0,002000
0,009000 0,023000
0,016667 0,015333
0,032000
0,073667

Keterangan :

- ** : berbeda sangat nyata atau memberikan pengaruh paling signifikan
- * : berbeda nyata atau memberikan pengaruh cukup signifikan

D. Variabel Lambung

$$FK = \frac{(\sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^n \sum_{k=1}^m Y_{ijk})^2}{p \cdot n \cdot m}$$

$$= \frac{(5,744)^2}{3 \times 3 \times 3}$$

$$= 1,221983$$

$$JK \text{ Total} = (\sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^n \sum_{k=1}^m Y_{ijk})^2 - FK$$

$$= (0,181^2 + 0,241^2 + \dots + 0,306^2) - 1,221983$$

$$= 0,086447$$

$$JK \text{ T} = \frac{\sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^n (\sum_{k=1}^m Y_{ijk})^2}{n \cdot m} - FK$$

$$= \frac{(1,790^2 + 2,015^2 + 1,939^2)}{3 \times 3} - 1,221983$$

$$= 0,002911$$

$$JK \text{ L} = \frac{\sum_{i=1}^p \sum_{k=1}^m (\sum_{j=1}^n Y_{ijk})^2}{p \cdot n} - FK$$

$$= \frac{(1,879^2 + 2,158^2 + 1,707^2)}{3 \times 3} - 1,221983$$

$$= 0,011512$$

$$JK \text{ TL} = \frac{\sum_{i=1}^p (\sum_{j=1}^n \sum_{k=1}^m Y_{ijk})^2}{p} - FK$$

$$= \frac{(0,551^2 + 0,605^2 + \dots + 0,699)^2}{3} - 1,221983$$

$$= 0,054021$$

$$JK \text{ Galat} = JK \text{ Total} - JK \text{ T} - JK \text{ L} - JK \text{ TL}$$

$$= 0,086447 - 0,002911 - 0,011512 - 0,054021$$

$$= 0,018003$$

Tabel Anova

SK	db	JK	KT	Fhitung	F0,05	F0,01
Tempat	2	0,0029112	0,001456	1,455371	3,55	6,01
Logam berat	2	0,0115121	0,005756	5,755161	3,55	6,01
TL	4	0,0540212	0,013505	13,503240	2,93	4,58
Galat	18	0,0180027	0,001000			
Total	26	0,0864472	0,003325			

Kesimpulan:

1. $F_{\text{hitung}} (T) > F_{0,01}$ menunjukkan bahwa lokasi sampling memberikan perbedaan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap lambung.
2. $F_{\text{hitung}} (L) > F_{0,01}$ menunjukkan bahwa logam berat memberikan perbedaan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap lambung.
3. $F_{\text{hitung}} (TL) > F_{0,05}$ menunjukkan bahwa lokasi sampling dan logam berat menunjukkan interaksi yang sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap lambung.

UJI BNJ

1) Berdasarkan Lokasi Sampling

SE 0,003514
BNT 1% 0,016515

Perlakuan	Rataan	Notasi
BU	0,597	a
NG	0,646	b
KJ	0,672	c

0,050
0,025

2) Berdasarkan Logam Berat

SE 0,003514
BNT 1% 0,016515

Perlakuan	Rataan	Notasi
Cd	0,569	a
Hg	0,626	b
Pb	0,719	c

0,057
0,093

3) Berdasarkan Hubungan antara Lokasi Sampling dan Logam Berat

SE 0,010542
BNT 1% 0,064094

Perlakuan	Rataan	Notasi
KJ Cd	0,124667	a
BU Hg	0,183667	ab
NG Hg	0,186667	ab
BU Pb	0,201667	b
BU Cd	0,211333	b
NG Pb	0,226667	bc
NG Cd	0,233000	b
KJ Hg	0,256000	c
KJ Pb	0,291000	d*

0,059000 0,018000
0,062000 0,003000
0,077000 0,015000
0,027667 0,009667
0,043000 0,015333
0,049333 0,006333
0,072333
0,107333

Keterangan :

- ** : berbeda sangat nyata atau memberikan pengaruh paling signifikan
* : berbeda nyata atau memberikan pengaruh cukup signifikan

E. Variabel Otot

$$FK = \frac{(\sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^n \sum_{k=1}^m Y_{ijk})^2}{p \cdot n \cdot m}$$

$$= \frac{(6,692)^2}{3 \times 3 \times 3}$$

$$= 1,658625$$

$$JK \text{ Total} = (\sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^n \sum_{k=1}^m Y_{ijk})^2 - FK$$

$$= (0,296^2 + 0,257^2 + \dots + 0,215^2) - 1,658625$$

$$= 0,094335$$

$$JK \text{ T} = \frac{\sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^n (\sum_{k=1}^m Y_{ijk})^2}{n \cdot m} - FK$$

$$= \frac{(1,927^2 + 2,468^2 + 2,297^2)}{3 \times 3} - 1,658625$$

$$= 0,016993$$

$$JK \text{ L} = \frac{\sum_{i=1}^p \sum_{k=1}^m (\sum_{j=1}^n Y_{ijk})^2}{p \cdot n} - FK$$

$$= \frac{(2,255^2 + 2,516^2 + 1,921^2)}{3 \times 3} - 1,658625$$

$$= 0,019767$$

$$JK \text{ TL} = \frac{\sum_{i=1}^p (\sum_{j=1}^n \sum_{k=1}^m Y_{ijk})^2}{p} - FK$$

$$= \frac{(0,768^2 + 0,705^2 + \dots + 0,742^2)}{3} - 1,658625$$

$$= 0,049307$$

$$JK \text{ Galat} = JK \text{ Total} - JK \text{ T} - JK \text{ L} - JK \text{ TL}$$

$$= 0,094335 - 0,016993 - 0,019767 - 0,049307$$

$$= 0,008268$$

Tabel Anova

SK	db	JK	KT	Fhitung	F0,05	F0,01
Tempat	2	0,0169934	0,0084967	18,498235	3,55	6,01
Logam berat	2	0,0197667	0,0098834	21,517157	3,55	6,01
TL	4	0,0493074	0,0123269	26,8368782	2,93	4,58
Galat	18	0,0082679	0,0004593			
Total	26	0,0943354	0,0036283			

Kesimpulan:

1. $F_{\text{hitung}} (T) > F_{0,01}$ menunjukkan bahwa lokasi sampling memberikan perbedaan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap otot.
2. $F_{\text{hitung}} (L) > F_{0,01}$ menunjukkan bahwa logam berat memberikan perbedaan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap otot.
3. $F_{\text{hitung}} (TL) > F_{0,05}$ menunjukkan bahwa lokasi sampling dan logam berat menunjukkan interaksi yang sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap otot.

UJI BNJ

1) Berdasarkan Lokasi Sampling

SE 0,00238132
BNT 1% 0,0111922

Perlakuan	Rataan	Notasi
BU	0,642	a
NG	0,766	b
KJ	0,823	c

0,123
0,057

2) Berdasarkan Logam Berat

SE 0,00238132
BNT 1% 0,0111922

Perlakuan	Rataan	Notasi
Cd	0,640	a
Hg	0,752	b
Pb	0,839	c

0,111
0,087

3) Berdasarkan Hubungan antara Lokasi Sampling dan Logam Berat

SE 0,00714396
BNT 1% 0,04343526

Perlakuan	Rataan	Notasi
BU Cd	0,151333	a
BU Pb	0,235000	b
NG Hg	0,235333	b
KJ Cd	0,241667	bc
NG Cd	0,247333	bc
BU Hg	0,256000	bc
KJ Hg	0,260333	bc
NG Pb	0,283000	cd
KJ Pb	0,320667	d*

0,083667
0,000333
0,006667 0,041333
0,012333 0,035667
0,021000 0,027000
0,025333 0,022667
0,048000 0,037667
0,079000

Keterangan :

- ** : berbeda sangat nyata atau memberikan pengaruh paling signifikan
* : berbeda nyata atau memberikan pengaruh cukup signifikan

Lampiran 6. Perhitungan Berat Molekul Pita Protein dengan SDS-PAGE

A. Profil Protein Secara Keseluruhan

Profil Protein Otot Kerang Hijau (<i>Perna viridis</i> L.) di Kenjeran					
Pita	A (mm)	B (mm)	Rf (x)	$y = -0,818x + 1,8256$	BM (kDa)
1	29	80	0,363	1,529	33,812
2	32	80	0,400	1,498	31,506
3	36	80	0,450	1,458	28,675
4	39	80	0,488	1,427	26,719
5	45	80	0,563	1,365	23,199
6	48	80	0,600	1,335	21,617
7	52	80	0,650	1,294	19,674
8	66	80	0,825	1,151	14,150
9	75	80	0,938	1,059	11,448

B. Profil Protein Insang Kerang Hijau (*Perna viridis* L.)

Profil Protein Insang Kerang Hijau (<i>Perna viridis</i> L.) di Kenjeran					
Pita	A (mm)	B (mm)	Rf (x)	$y = -0,818x + 1,8256$	BM
1	35	80	0,438	1,468	29,358
2	42	80	0,525	1,396	24,897
3	54	80	0,675	1,273	18,769
4	63	80	0,788	1,181	15,185
5	77	80	0,963	1,038	10,921

Profil Protein Insang Kerang Hijau (<i>Perna viridis</i> L.) di Banyu Urip					
Pita	A (mm)	B (mm)	Rf (x)	$y = -0,818x + 1,8256$	BM
1	35	80	0,438	1,468	29,358
2	42	80	0,525	1,396	24,897
3	54	80	0,675	1,273	18,769
4	66	80	0,825	1,151	14,150
5	77	80	0,963	1,038	10,921

Profil Protein Insang Kerang Hijau (<i>Perna viridis</i> L.) di Ngembah					
Pita	A (mm)	B (mm)	Rf (x)	$y = -0,818x + 1,8256$	BM
1	37	80	0,463	1,447	28,008
2	42	80	0,525	1,396	24,897
3	50	80	0,625	1,314	20,623
4	55	80	0,688	1,263	18,333
5	60	80	0,750	1,212	16,297
6	66	80	0,825	1,151	14,150
7	79	80	0,988	1,018	10,419

C. Profil Protein Lambung Kerang Hijau (*Perna viridis* L.)

Profil Protein Lambung Kerang Hijau (<i>Perna viridis</i> L.) di Kenjeran					
Pita	A (mm)	B (mm)	Rf (x)	$y = -0,818x + 1,8256$	BM
1	39	80	0,488	1,427	26,719
2	47	80	0,588	1,345	22,132
3	62	80	0,775	1,192	15,547
4	71	80	0,888	1,100	12,578
5	77	80	0,963	1,038	10,921

Profil Protein Lambung Kerang Hijau (<i>Perna viridis</i> L.) di Banyu Urip					
Pita	A (mm)	B (mm)	Rf (x)	$y = -0,818x + 1,8256$	BM
1	39	80	0,488	1,427	26,719
2	42	80	0,525	1,396	24,897
3	48	80	0,600	1,335	21,617
4	57	80	0,713	1,243	17,489
5	59	80	0,738	1,222	16,685
6	75	80	0,938	1,059	11,448

Profil Protein Lambung Kerang Hijau (<i>Perna viridis</i> L.) di Ngembah					
Pita	A (mm)	B (mm)	Rf (x)	$y = -0,818x + 1,8256$	BM
1	38	80	0,475	1,437	27,356
2	43	80	0,538	1,386	24,318
3	46	80	0,575	1,355	22,659
4	56	80	0,700	1,253	17,906
5	75	80	0,938	1,059	11,448

D. Profil Protein Otot Kerang Hijau (*Perna viridis* L.)

Profil Protein Otot Kerang Hijau (<i>Perna viridis</i> L.) di Kenjeran					
Pita	A (mm)	B (mm)	Rf (x)	$y = -0,818x + 1,8256$	BM
1	35	80	0,438	1,468	29,358
2	42	80	0,525	1,396	24,897
3	47	80	0,588	1,345	22,132
4	52	80	0,650	1,294	19,674
5	56	80	0,700	1,253	17,906
6	59	80	0,738	1,222	16,685
7	70	80	0,875	1,110	12,878
8	77	80	0,963	1,038	10,921

Profil Protein Otot Kerang Hijau (<i>Perna viridis</i> L.) di Banyu Urip					
Pita	A (mm)	B (mm)	Rf (x)	$y = -0,818x + 1,8256$	BM
1	35	80	0,438	1,468	29,358
2	42	80	0,525	1,396	24,897
3	47	80	0,588	1,345	22,132
4	52	80	0,650	1,294	19,674
5	56	80	0,700	1,253	17,906
6	59	80	0,738	1,222	16,685
7	70	80	0,875	1,110	12,878
8	77	80	0,963	1,038	10,921

Profil Protein Otot Kerang Hijau (<i>Perna viridis</i> L.) di Ngembah					
Pita	A (mm)	B (mm)	Rf (x)	$y = -0,818x + 1,8256$	BM
1	35	80	0,438	1,468	29,358
2	42	80	0,525	1,396	24,897
3	47	80	0,588	1,345	22,132
4	51	80	0,638	1,304	20,143
5	57	80	0,713	1,243	17,489
6	66	80	0,825	1,151	14,150
7	77	80	0,963	1,038	10,921

Lampiran 7. Perhitungan Berat Molekul Pita Protein Metallothionein

Profil Protein Kerang Hijau (<i>Perna viridis</i> L.)						
Lokasi	Pita	A (mm)	B (mm)	Rf (x)	$y = -0,818x + 1,8256$	BM
Kenjeran	1	38	80	0,475	1,437	27,356
Banyu Urip	2	38	80	0,475	1,437	27,356
Ngemboh	3	38	80	0,475	1,437	27,356



Lampiran 8. Dokumentasi Kegiatan



Pengukuran Salinitas



Pengukuran DO



Pengukuran pH



Pengambilan dan penyortiran Kerang Hijau (*Perna viridis* L.)



Pembedahan dan pengambilan organ Kerang Hijau (*Perna viridis* L.)



Organ Kerang Hijau (*Perna viridis* L.)

Lanjutan lampiran 8.

