

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Indonesia merupakan negara yang cukup luas dengan mempunyai banyak pulau-pulau kecil di sekelilingnya. Selain itu Indonesia juga mempunyai penduduk yang cukup banyak hampir sekitar ≥ 250 juta jiwa (Badan Pusat Statistik, 2013). Hal ini menyebabkan kebutuhan akan sandang pangan yang juga terus meningkat, seiring bertambahnya jumlah penduduk. Salah satunya di pulau Jawa yang juga merupakan tempat yang padat penduduk. Kebutuhan ini juga akan memicu bertambahnya produksi industri, sehingga limbah yang dihasilkan dari industri tersebut juga semakin meningkat.

Meningkatnya jumlah limbah yang dihasilkan oleh suatu industri menyebabkan Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) juga kurang efektif, bahkan terkadang ada pihak-pihak yang kurang patuh terhadap peraturan mengenai pengolahan limbah yang dihasilkan yang kemudian langsung dibuang ke perairan umum seperti sungai tanpa melewati proses IPAL dengan benar. Sungai merupakan ekosistem perairan yang bersifat terbuka artinya mudah dipengaruhi oleh daerah yang ada disekitarnya, baik secara alami maupun oleh berbagai kegiatan manusia (Sudaryanti dan Wijarni, 2006). Seperti aktivitas perindustrian, pertanian dan rumah tangga (domestik) yang akan menjadi limbah. Muara sungai merupakan tempat terakumulasinya limbah dengan bahan organik dan anorganik yang berasal dari aktivitas manusia tersebut.

Provinsi Jawa Timur memiliki beberapa sungai diantaranya yaitu Sungai Mas yang bermuara di pelabuhan Tanjung Perak Surabaya, Sungai Wonokromo yang bermuara di kawasan wisata mangrove Wonorejo, Sungai Porong yang bermuara di Pasuruan. Muara dari Sungai Porong ini mendapat masukan limbah

lumpur dari lumpur lapindo dan dari ketiga sungai ini merupakan daerah aliran Sungai Brantas dengan pengaruh bantaran yang mempunyai beberapa perbedaan antara lain muara Sungai Mas mendapatkan pengaruh dari tata guna lahan yaitu sebagai pelabuhan, muara Sungai Wonokromo sebagai lokasi wisata pohon mangrove, muara Sungai Porong mendapat pengaruh dari aliran lumpur lapindo. Alasan dari perbedaan pengaruh daerah aliran sungai dapat di mungkinakan akan mempunyai pengaruh dan efek yang berbeda pula terhadap organisme yang hidup di masing-masing muara dari aliran sungai tersebut. Ekosistem sungai mempunyai sifat aliran yang *unidirectional* yaitu mengalir satu arah dari hulu menuju hilir.

Bahan pencemar yang ada di perairan (dalam hal ini sungai) yang tergolong dalam bahan organik dan anorganik akan mempunyai dampak yang tidak baik untuk ekosistem sungai terutama untuk kehidupan biota yang ada di sungai. Oleh karena ekosistem sungai mempunyai sifat aliran yang *unidirectional* yaitu mengalir satu arah dari hulu menuju hilir, sehingga akan berdampak pula terhadap kehidupan biota yang ada di muara. Jika pencemaran tersebut terjadi secara konstan dan dalam waktu yang lama/berkelanjutan, maka akan mengganggu proses metabolisme yang ada dalam tubuh organisme (dalam hal ini adalah ikan). Dampak ini dapat berupa gangguan lingkungan misalkan dengan adanya bahan organik yang berlebih, kenaikan suhu yang ekstrim, adanya masukan limbah domestik ataupun logam berat. Adanya gangguan seperti itu akan menyebabkan ikan menjadi stres, adanya stres lingkungan antara lain cahaya matahari, kualitas air (Said *et al.*, 2005).

Stres yang terjadi pada ikan ini merupakan suatu rangsangan yang menaikkan psikologi dalam diri ikan terhadap lingkungannya, biasanya stres ini diakibatkan perubahan lingkungan akibat beberapa hal (Tarwiyah, 2001). Stres dalam tubuh

ikan akan merangsang pembentukan protein penyeimbang untuk menstabilkan kondisi dalam tubuhnya jika ikan/organisme mengalami stres. Oladiran dan Belosevic (2009), tanggapan *heat shock* adalah mekanisme umum homeostatis yang dikeluarkan untuk melindungi sel-sel atau organisme dari kerusakan akibat rangsangan stres. Protein ini biasa disebut dengan *Heat Shock Protein* (HSP), keluarga HSP ini dikelompokkan sesuai dengan berat/ukuran molekul dan peran yang berbeda dalam sel. Misalkan keluarga HSP90 terlibat dalam pembentukan reseptor steroid dan pelipatan protein/penurunan kadar protein, keluarga HSP70 diperlukan untuk translokasi dan pelipatan protein/ penurunan kadar protein dan HSP60 terlibat dalam stabilitas lipatan protein/ penurunan kadar protein (Deane dan Woo, 2005).

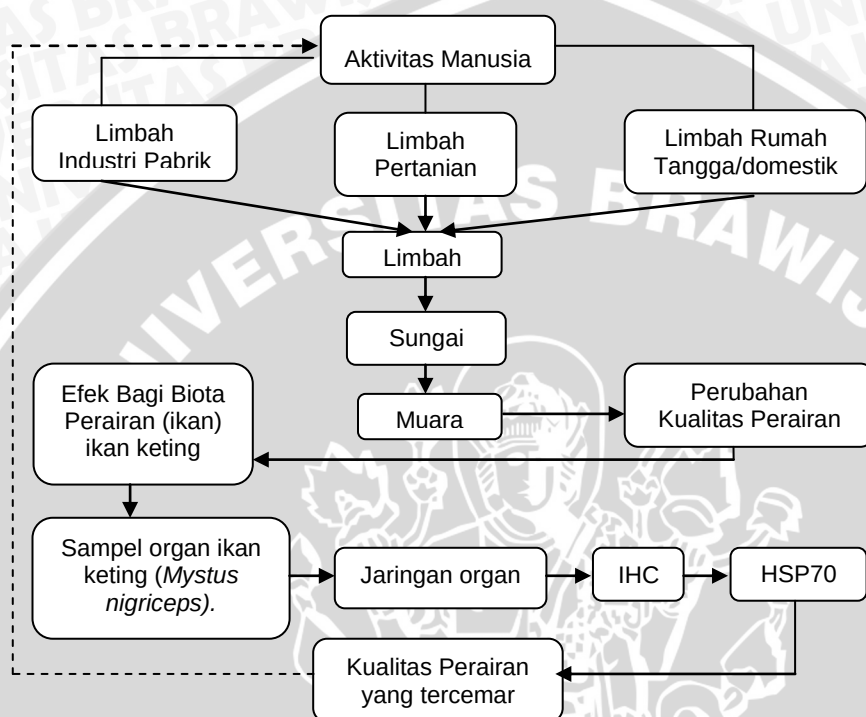
HSP70 adalah protein yang akan muncul jika suatu organisme mengalami stres dengan berat molekul 70 kDa (*kiloDaltons*). Menurut Nganro (2009), beberapa jenis protein yang telah dipelajari dengan baik pada sistem biologi adalah protein kejutan panas (HSP) yang dihasilkan sebagai respon terhadap suhu yang ekstrim. Menurut Santoso (2010), Ikan seperti vertebrata merespon stresor pada tingkat seluler, respon ini meliputi perubahan protein yang meliputi peningkatan sintesis HSP. Organ yang diteliti merupakan organ eksternal yang meliputi insang dan organ internal meliputi jantung, hati dan ginjal. Menurut Deane and Woo (2004); Iwama *et al.*, (1999) dalam Santoso (2010), jaringan hati, ginjal dan insang merupakan jaringan yang sensitif dalam merespon HSP70. HSP adalah suatu protein yang dihasilkan karena adanya *Heat Shock Respons* (HSR) dan terutama disebabkan oleh *Heat Shock Factor* (HSF). HSP dapat ditemukan hampir pada semua organisme hidup, mulai dari eukariot dan prokariot (Oladiran dan Belosevic, 2009).

Teknik dengan menggunakan ikan sebagai objek pengamatan biasa disebut dengan *bioassay* adalah uji eksperimen di laboratorium dengan menggunakan spesies tertentu (Sudaryanti dan Wijarni, 2008). Jaringan dari organ ikan keting (*Mystus nigriceps*) ini akan di uji menggunakan teknik immunohistokimia/immunohistochemistry (IHK/IHC). Menurut Cliquers (2014), immunohistokimia adalah metode untuk mendeteksi protein di dalam sel suatu jaringan dengan menggunakan prinsip pengikatan antara antibodi dan antigen khusus dalam jaringan hidup/biologis. Setelah dilakukan IHC akan menunjukkan hasil/gambaran adanya perbedaan warna antara jaringan yang mengalami stres sesuai dengan antibodi pesifik yang digunakan untuk memunculkan reaksi tersebut dalam jaringan. Jika dalam gambar tersebut sudah dapat terbaca maka akan bisa menyimpulkan bagaimana keadaan lingkungan perairan tersebut berdasarkan HSP dalam jaringan ikan keting (*Mystus nigriceps*) yang ada di empat muara tersebut.

1.2 Perumusan Masalah

Bahan pencemar yang berasal dari limbah industri pabrik, limbah pertanian dan limbah rumah tangga (domestik) yang masuk ke perairan akan mengalir mengikuti arus sungai yang kemudian akan sampai di muara. Limbah-limbah tersebut ada yang sudah terlarut dalam air ada juga yang belum terlarut di badan air dan ada pula yang belum terlarut dan mengendap di dasar perairan. Menurut Masduqi (2006) dalam Mardhasari (2014), ≥ 40 industri kecil hingga besar terletak di sepanjang Sungai Surabaya dan membuang limbahnya ke Sungai Surabaya. Penelitian ini dilakukan untuk melihat tingkat pencemaran di perairan muara dengan melihat ekspresi HSP70 pada jaringan organ ikan keting dengan metode IHC (immunohistochemistry). Iwama *et al.*, (1998) dalam Feldahals *et al.*, (2008), menyatakan HSP adalah sebuah *bioassay* yang potensial untuk

pengujian stres lingkungan pada ikan. Hubungan antara bahan pencemaran/limbah yang masuk ke perairan dan menuju lingkungan muara serta HSP70 yang muncul pada jaringan organ ikan keting (*Mystus nigriceps*) secara singkat dapat dilihat dalam Gambar 1.



Gambar 1. Kerangka pikir efek pencemaran pada muara sungai terhadap ekspresi HSP70 dalam jaringan organ ikan keting (*Mystus nigriceps*) dalam lingkungan perairan di sekitar pesisir (muara).

Keterangan :

- Aktivitas manusia dapat menghasilkan limbah yang kemudian limbah tersebut akan terbuang ke perairan (sungai/badan sungai) dan aliran sungai akan membawa aliran air menuju muara sungai yang kemudian menuju laut, aktivitas sehari-hari seperti kegiatan industri pabrik, kegiatan pertanian dan kegiatan rumah tangga ini akan menghasilkan limbah kemudian limbah tersebut akan mengalir ke perairan (sungai) lalu sampai di muara.

- Beberapa aktivitas manusia yang mengalir dari sungai menuju muara akan mempengaruhi kualitas perairan sehingga mempunyai efek bagi biota perairan itu sendiri dalam hal ini ikan keting (*Mystus nigriceps*).
- Kualitas perairan tersebut akan mempengaruhi pertumbuhan dari ikan keting (*Mystus nigriceps*) sendiri, dari sampel organ ikan keting (*Mystus nigriceps*) akan dilihat HSP70 (*Heat Shock Protein 70*) dengan metode IHK).
- Hasil dari uji HSP70 dengan metode IHK akan menggambarkan stres lingkungan pada ikan di perairan yang ada di tiap-tiap tempat pengambilan sampel yang berbeda.

1.3 Tujuan Penelitian

- Ekspresi HSP70 secara kuantitatif ikan keting (*Mystus nigriceps*) di muara Sungai Mas, muara Sungai Wonokromo/Jagir dan muara Sungai Porong.
- Tingkat ekspresi HSP70 ikan keting di muara Sungai Mas, muara Sungai Wonokromo, muara Sungai Porong dan pada organ insang, organ jantung, organ hati, organ jantung ikan keting.
- Mengetahui organ ikan keting (*Mystus nigriceps*) yang paling tinggi terekspresi HSP70.
- Hubungan ikan dengan faktor abiotiknya (lingkungan/kualitas air) sehingga mempengaruhi terekspresinya HSP70 oleh jaringan organ.

1.4 Kegunaan Penelitian

a. Teoritis

Memberikan informasi mengenai HSP70 yang terekspresi di organ insang, jantung, hati dan ginjal ikan keting (*Mystus nigriceps*) serta berguna dalam pengembangan ilmu yang berkaitan dengan pencemaran dan biologi molekuler pada ikan.

b. Praktis

Memberikan informasi tentang dampak pencemaran terhadap tingkat kesetresan organisme (ikan keting) di muara Sungai Mas, muara Sungai Wonokromo dan muara Sungai Porong.

1.5 Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di beberapa muara di Jawa Timur yaitu muara Sungai Mas, muara Sungai Wonokromo dan muara Sungai Porong, sedangkan analisa laboratorium kualitas air dilakukan di Laboratorium Ilmu-Ilmu Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Preparasi sampel dilakukan di Labolatorium Histologi Anatomi, Fakultas Kedokteran sedangkan untuk analisis Immunohistokimia dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada bulan September 2013—bulan September 2014.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Ikan Keting (*Mystus nigriceps*)

2.1.1 Klasifikasi ikan keting (*Mystus nigriceps*)

Klasifikasi ikan keting menurut Fishbase (2014),

Kerajaan	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Actinopterygii
Ordo	: Siluriformes
Famili	: Bagridae
Genus	: <i>Mystus</i>
Spesies	: <i>Mystus nigriceps</i>

Ikan keting adalah nama beberapa kelompok ikan yang termasuk ke dalam marga Hemibagrus, famili Bagridae. Ikan ini menyebar luas di India, Cina Selatan dan Asia Tenggara. Ikan keting juga banyak dikenal dengan nama daerah seperti ikan duri, baong, baon bawon, senggol atau singgah, tagih atau tageh, niken siken, tiken, tiken bato dan lain-lain. Berikut adalah gambar ikan keting dari hasil dokumentasi pribadi (2014), yang dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Ikan Keting (*Mystus nigriceps*).

Menurut Fishbase (2014), klasifikasi (ikan bersirip), ordo siluriformis, famili bagridae. Etimologi: *Mystus*: Yunani, *mystax*= berkumis, yang digunakan oleh Belon di 1553 untuk menggambarkan semua ikan dengan kumis, hidup dikisaran pH 6–7 dengan kisaran suhu 20–26 °C. Menurut Direktorat Jendral Perikanan Tangkap, Departemen Kelautan dan Perikanan (2005) dalam Machrodania (2014), mengklasifikasikan Ikan Keting seperti pada uraian berikut: Ikan Keting biasa disebut juga dengan ikan Garingan dengan nama ilmiah *Mystus nigriceps* (Valenciennes, 1840) dalam Fishbase (2014).

2.1.2 Morfologi, habitat, dan penyebaran ikan keting

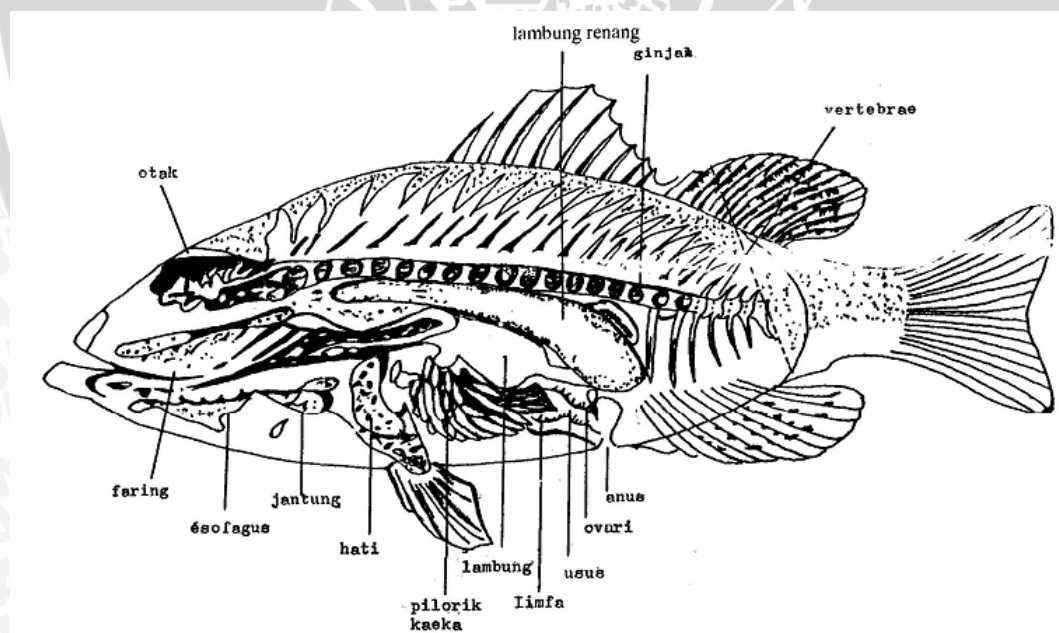
Lundu alias keting adalah nama umum bagi sekelompok ikan air tawar yang tergolong ke dalam marga *Mystus* (famili Bagridae, ordo Siluriformes). Banyak nama lokal yang disematkan ke ikan-ikan ini, beberapa di antaranya adalah keting, kating, ndaringan sengat, senggiringan, ririgi, kelibere dan lain-lain bergantung kepada spesies dan daerahnya (Valenciennes, 1840) dalam Fishbase (2014). Habitat penyebaran di perairan sungai dan muara, kelompok ikan dalam marga *Mystus* sangat beragam, terdiri dari jenis-jenis ikan yang berukuran kecil sampai sedang (Seputarikan, 2014). Sistematika kelompok ini masih belum mantap dan memerlukan kajian yang lebih lanjut. Kekerabatan filogenik di dalam marga ini belum diketahui dengan jelas, meski diduga ada dua garis kekerabatan utama (Fishbase, 2014). Marga ini juga dikenal dengan nama lain *Macrones*, nama yang kini tidak dipakai lagi karena telah digunakan lebih dulu sebagai nama marga sejenis kumbang (*Coleopatra*) (Fishypedia, 2015).

Ikan keting juga mempunyai nama lokal, diantaranya ririgim enting, keteng. Panjang tumbuh bisa mencapai 20 cm. Bentuk ikan ini mirip dengan sogo/tagih dan sirip bagian depan sirip ekor terlihat lebih panjang. Mempunyai sungut 4 pasang, dengan status konservasi yang belum tercatat. Distribusi dan habitat di

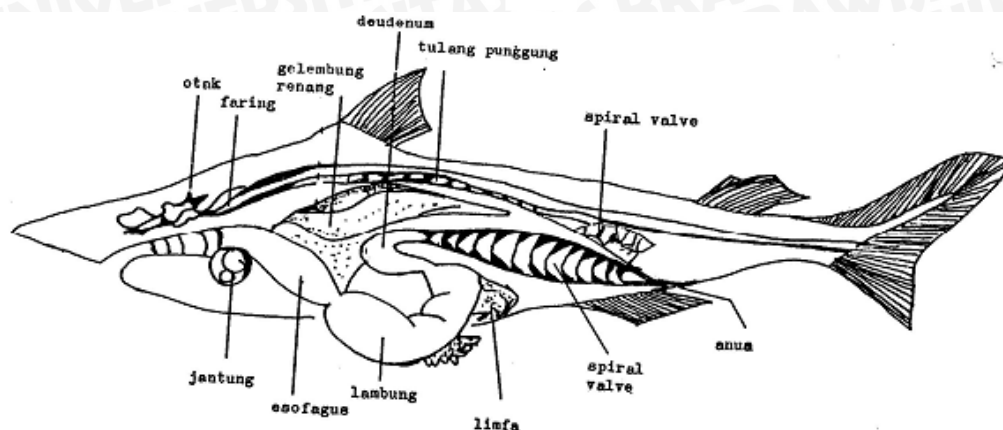
alam terdapat di Indocina, India, Vietnam, Kalimantan, Sumatra, Jawa, dan Malaysia (Fishypedia, 2015). Populasinya melimpah saat hujan, selain itu ikan ini juga dijual sebagai ikan konsumsi dengan harga murah, karena berukuran kecil. Ikan Keting sering dilepas lagi bila terpancing. Di Indonesia ikan ini hidup di sungai-sungai, jarang terdapat di danau atau di air menggenang lainnya (Bagussrn, 2011).

2.2 Organ Ikan

Organ ikan dapat digunakan sebagai salah satu objek penelitian untuk mengetahui tingkat kesetresan ikan yang ada di lingkungan perairan. Adapun organ tersebut antara lain organ eksternal yang terdiri dari kulit dan insang kemudian organ internal yang terdiri dari jantung, hati dan ginjal. Berikut adalah gambar ikan osteichthyes menurut (Affandi *et al.*, 1992) yang dapat dilihat pada Gambar 3 dan Gambar 4.



Gambar 3. Letak organ dalam pada ikan osteichthyes Affandi *et al.*, (1992) dalam Omar (2011).



Gambar 4. Letak organ dalam pada ikan Chondrichthyes (Affandi *et al.*, 1992) dalam Omar (2011).

Penjelasan lebih lanjut tentang organ-organ yang digunakan sebagai objek pengamatan akan dijelaskan dalam sub bab berikut:

2.2.1 Eksternal

a. Insang

Dalam sistem metabolisme insang merupakan organ yang termasuk dalam sistem pengeluaran dalam sistem metabolisme tubuh (sistem ekskresi). Dalam insang banyak terdapat limbah hasil dari sisa metabolisme yang dibuang melalui insang (Surya, 2013). Insang juga berfungsi sebagai organ yang mengatur pertukaran air dan garam di dalam tubuh dan lingkungan serta melepas nitrogen sisa dari hasil metabolisme dalam tubuh. Menurut Surya (2013), bahwa luas permukaan insang hanya sekitar 6–10 kali lebih besar dari luas permukaan seluruh tubuh dari ikan. Selain sebagai organ untuk pernafasan, juga sebagai salah satu organ dengan ekskretori utama. Insang mengeluarkan banyak amonia sedangkan sisanya dari produk limbah diekskresikan melalui ginjal. Selain itu, insang dapat dijadikan untuk memantau lingkungan perairan dengan melihat stres yang sudah terekspresi dalam tubuhnya selama proses metabolisme berlangsung.

Selain berfungsi sebagai alat pernafasan, insang juga memiliki fungsi sebagai pengatur pertukaran garam dan air antar tubuh dengan lingkungan serta memiliki peran dalam pengeluaran limbah-limbah yang mengandung nitrogen dan kerusakan struktur pada insang ikan sangat berpengaruh terhadap pengaturan osmosis sehingga proses pernafasan dan osmoregulasi ikan terganggu (Sukarni *et al.*, 2012),

2.2.2 Internal

a. Jantung

Organ ini tersusun oleh satu atrium dan satu bilik, termasuk dalam sistem sirkulasi tubuh untuk darah, terletak didekat hubungan antara tubuh dan kepala, jantung berperan sebagai kekuatan utama dalam sistem sirkulasi yang berada di dalam rongga perikardial, yang akan membuat darah bersirkulasi dan berjalan dengan baik, yang pergerakannya sendiripun diatur oleh jantung (Surya, 2013). Jantung ikan terdiri dari dua bagian, satu atrium dan satu ventrikel:

1. Jantung terdiri dari 4 bilik yaitu sinus venosis, atrium, *ventricle* dan *elastic bulbus arteriosus*.
2. Sirkulasi: darah mengalir dari jantung ke ventral aorta, ke arteri branchial *afferent*, kemudian ke insang untuk oksigenasi dan berlangsung melalui arteri *efferent* arteries ke dorsal aorta.
3. Bilik disusun secara linear dan darah bersirkulasi dalam jalur peredaran darah tunggal. Jantung dapat diakses untuk proses mengeluarkan darah, namun bagian yang lebih disukai adalah vena ekor.

b. Hati

Hati merupakan organ vital yang berfungsi sebagai detoksifikasi dan mensekresikan bahan kimia yang digunakan untuk proses pencernaan

(Setyowati *et al.*, 2010). Hati mempunyai peranan yang cukup penting dalam proses metabolisme dan biotransformasi dari lingkungan dan bahan pencemar disekitarnya, karena hati merupakan organ yang paling banyak mengakumulasi zat toksik dari lingkungan. Sebagian zat toksik yang masuk kedalam tubuh akan dibawa ke hati dalam proses metabolisme. Hati merupakan tempat terbanyak yang terdapat enzim pemetabolisme polutan yang terdiri dari sekelompok enzim yang ada dalam jaringan retikulum dengan permukaan kasar terdapat enzim-enzim yang terlibat dalam sintesis protein (Rompas, 2010). Setyowati (2010), menyatakan bahwa dengan adanya zat toksik maka dapat mempengaruhi struktur histologi hati sehingga dapat mengakibatkan patologis hati seperti pembengkakan sel, rangkaian nekrosis (*bridging necrosis*), degradasi intralobular dan fokal nekrosis, *fibrosis* dan *cirrhosis*.

c. Ginjal

Ginjal termasuk dalam sistem pengeluaran dalam sistem metabolisme tubuh. Ada dua buah organ yang berwarna gelap yang terletak di bawah tulang punggung dan melekat dekat dengan rongga tubuh bagian belakang yaitu adalah ginjal. Organ ini adalah ginjal yang mempunyai fungsi untuk memproduksi urin dan membuang limbah (Surya, 2013). Ikan mempunyai alat ekskresi berupa sepasang ginjal *opistonefros* yang berbentuk memanjang dan berwarna kemerah-merahan (Upi, 2014). Beberapa jenis ikan, seperti Ikan Mas, saluran ginjal dan saluran kelenjar kelaminnya bersatu, disebut dengan saluran urogenital yang terletak di belakang anus. Untuk semua ikan, sistem ekskresi dari sisa metabolisme dalam tubuh hampir sama, namun ginjal dan insanglah yang memainkan peranan yang penting.

2.3. Pencemaran Di Lingkungan Perairan

Pencemaran pada perairan sungai akan sangat berpengaruh terhadap perairan yang berada di muara. Air yang mengalir dari hulu menuju hilir akan membawa semua unsur-unsur yang terbawa air baik yang terlarut maupun yang tidak terlarut dalam air akan di bawa aliran sungai menuju muara (Munawara, 2015). Semua bahan-bahan yang ada di perairan sungai menuju muara mendapat pengaruh dari aktivitas manusia yang ada di daratan di sepanjang daerah aliran sungai. Dalam hal ini, adanya aktivitas manusia di daratan seperti aktivitas rumah tangga, pabrik, perkebunan limbah pabrik, pertanian bahkan limbah domestik yang pembuangan akhir sangat mempengaruhi kualitas air sungai dan akhirnya mengalir menuju muara. Kedinamisan aliran air dari hulu menuju hilir tersebut tergantung dari musim, karakteristik alur sungai, dan pola hidup manusia di sekitarnya (Sukadi, 1999). Menurut Munir (2010) dalam Meilawati *et al.*, (2006), sungai mengalir membawa berbagai unsur atau makanan yang mungkin dibutuhkan oleh ikan.

2.4 Histopathologi dan IHC (immunohistokimia)

Histologi berasal dari kata histo dan logos, histo berarti jaringan dan logos berarti ilmu, sehingga *histology* adalah ilmu yang mempelajari sel, organ, dan jaringan tubuh secara mikroskopik. Histologi sangat diperlukan dalam mempelajari struktur jaringan normal suatu organ atau alat tubuh lain baik struktur anatomi maupun fisiologi, hal ini sangat penting dalam mengenali suatu kondisi patologi yang merupakan akibat suatu penyakit dan perubahan-perubahan seluler. Ilmu yang mempelajari kelainan patologi (abnormal) suatu jaringan disebut histopatologi (Panigoro *et al.*, 2007 dalam Putri, 2013).

Menurut Putri (2013), histologi berarti suatu ilmu yang menguraikan struktur dari hewan secara terperinci dan hubungan antara struktur pengorganisasian sel

dan jaringan serta fungsi-fungsi yang mereka lakukan. Jaringan merupakan sekumpulan sel yang tersimpan dalam suatu kerangka struktur atau matriks yang mempunyai suatu kesatuan organisasi yang mampu mempertahankan keutuhan dan penyesuaian terhadap lingkungan di luar batas dirinya (Bavelaner dan Ramaley, 1988 dalam Putri, 2013). Adanya perubahan pada histologi akan terjadi lebih awal saat suatu organisme mengalami gangguan dari lingkungannya selain itu, dapat memberikan penilaian yang baik dari kesehatan ikan, termasuk efek polusi pada masing-masing parameter biokimia. Marchand *et al.*, 2009 dalam Putri (2013), perubahan histopatologi diintegrasikan dengan pengaruh dari berbagai macam sumber stress (pathogen microbial, kandungan toksik, nutrisi, dan kondisi lingkungan yang kurang baik).

IHC/IHK merupakan suatu teknik yang digunakan untuk mengidentifikasi molekul tertentu seperti protein dalam suatu jaringan dengan memanfaatkan prinsip pengikatan antibodi (Labellapansa *et al.*, 2013). Imunohistokimia adalah teknik untuk mendeteksi adanya antigen pada jaringan dengan menggunakan antibodi yang terikat enzim sehingga presipitat terwarnai dan lokasi antigen dapat dilihat di bawah mikroskop (Sofian dan Nugroho, 2006).

2.5. HSP

2.5.1 Pengertian dan fungsi HSP

HSP (*Heat Shock Protein*) adalah protein yang muncul jika suatu organisme mengalami stres. HSP merupakan protein intra sel yang normal biasa dijumpai pada sitoplasma sel, dibentuk setiap saat ketika sel dalam segala kehidupannya mengalami stres, termasuk stres karena lingkungan yang memburuk (kualitas air yang tercemar). HSP berperan di garis depan pertahanan sel, melindungi sel dari stres. Menurut Ellis (1996) dalam Zakhartsev *et al.*, (2005), *Heat Shock Protein* (HSP) adalah keluarga molekul chaperone yang ditemukan pada 2 organisme

yaitu prokariot dan eukariot. Saat organisme mengalami stres maka HSP akan otomatis diproduksi dalam sel. Stres yang timbul dapat disebabkan oleh lingkungan, adanya sinyal stres ini membuat ikan harus memproduksi HSP untuk menyeimbangkan metabolisme dalam tubuhnya. Namun, jika sinyal stres datang terus-menerus, maka lama kelamaan tubuh ikan tidak sanggup menghadapi stres, perubahan energi melalui penglihatan energi basal untuk mengatasi peningkatan kebutuhan energi dan menghindari dari aktivitas anabolik seperti pertumbuhan dan reproduksi (Santoso, 2010). Iwama *et al.*, (1999) menyatakan paparan suatu stresor dalam jangka panjang dapat menyebabkan penurunan pertumbuhan, resistensi penyakit, keberhasilan reproduksi, pernapasan dan kemampuan berenang pada ikan.

2.5.2 HSP70 (*Heat Shock Protein 70*)

HSP70 merupakan *Heat Shock Protein* dengan berat molekul 70 kDa yang dapat muncul akibat adanya gangguan lingkungan misalkan dengan adanya peningkatan suhu yang ekstrim sehingga menyebabkan organisme harus memproduksi protein pertahanan lebih untuk mempertahankan ketahanan tubuhnya. Christiawan (2013), menyatakan mekanisme perlindungan potensial dari HSP70 terdiri dari empat aspek, pertama HSP70 sebagai anti inflamasi dapat mengurangi mediator-mediator pemicu inflamasi. Kedua, HSP70 menstimulasi produksi antioksidan dan meningkatkan level pelepasan panas terus menerus sampai selesai dan stabil kembali. Ketiga, HSP70 mempunyai kemampuan memperbaiki regulasi, menjaga serta menghambat sintesis protein dan mempercepat sintesis protein lainnya dan yang terakhir adalah HSP70 berperan penting menghambat *Apoptosis* dan *Necrosis*. Menurut Santoso (2010), protein utama adalah protein tekanan panas yang berat molekulnya berkisar antara 22—110 kDa (*kilo Dalton*).

Protein yang mendekati (MW/Molekuler Weight) 68—72 kDa masuk dalam kelompok HSP70, menurut Santoso (2010), para peneliti mengatakan bahwa kelompok HSP90 dan HSP70 berhubungan dekat pada spesies yang berbeda, sementara protein lainnya tidak. Menurut Christiawan (2013), HSP70 (*Heat Shock Protein 70*) merupakan sebuah golongan stres protein yang bersifat mempertahankan keadaan dan memberikan perlindungan atas sesuatu secara baik agar tidak rusak dengan jalan memperbaiki dan mengawetkannya. HSP70 berperan sangat penting dalam perlindungan dan melawan faktor pemicu gangguan atau tekanan seperti suhu tinggi, zat kimia, gejala *hypoxia*, infeksi, luka-luka dan obat-obatan mulai dari awal sampai habis yang terlihat dalam peningkatan ekspresi gen HSP70. Menurut (Mirabell, 2012), kejutan panas protein 70 (HSP70, juga dikenal sebagai *Heat Shock Protein 70* disebut) milik keluarga *Heat Shock Protein*. Ini semakin dibentuk oleh stimulasi endogen dan eksogen, seperti peningkatan suhu, anoksia atau paparan bahan kimia, akibat faktor stres tersebut dan juga dalam kondisi fisiologis konstitutif. Csermely dan Yahara (2002), menyatakan fungsi HSP diperlukan untuk homeostatis dari sel hidup dan menjadi sangat penting dalam suatu penyakit, saat sel-sel harus menanggapi/merespon lingkungan yang penuh dengan tekanan.

Jaringan organ insang, jantung, hati dan ginjal merupakan organ yang sangat penting dalam proses metabolisme pada ikan, dan akan sangat memungkinkan jaringan ini dapat merespon adanya HSP70. Keadaan lingkungan perairan yang sudah tidak lagi sesuai dengan keadaan semula akibat adanya macam-macam bahan pencemar yang dapat berasal dari limbah domestik, pabrik (misalkan limbahnya mengandung B3, persawahan, dan drainase kegiatan perkotaan) yang akan menyebabkan perubahan ekosistem pada perairan (Ismayanti, 2015). Selain itu, saat keadaan semakin memburuk dan

tubuh ikan harus tetap beradaptasi dengan keadaan lingkungan yang ada, maka proses metabolisme dalam tubuhnya akan terganggu sehingga, tubuh ikan akan mengaktifkan HSP70 dalam sintesis tubuhnya untuk bertahan hidup (Iwama *et al.*, 1999) agar ikan dapat bertahan hidup. Respon HSP70 terus diproduksi oleh ikan sehingga dapat berakibat rusaknya sel yang ada dalam tubuhnya, yang jika terus berkelanjutan dalam waktu yang lama maka dapat menyebabkan kematian pada ikan (Iwama *et al.*, 2003).

2.5.3 Sintesis HSP70 dalam organ Ikan Keting (*Mystus nigriceps*)

HSP adalah protein yang ada dalam sel dan biasa dibentuk pada saat suatu organisme sedang mengalami stres. Perannya dalam sel sebagai penyelamat sel dari kerusakan ataupun denaturasi sel, sehingga sel dapat bertahan dan melanjutkan proses selanjutnya (Deane dan Woo, 2005). Menurut Csermely dan Yahara (2002), tanggapan heat shock pertama kali ditemukan oleh Feruccio Ritossa (1962), yang mengamati perbesaran bagian khusus dari kromosom *Drosophila melanogaster* (*puff heat shock*) setelah perlakuan panas kepada lalat buah. Lisyani (2007) dalam Christyawan (2013), menyatakan HSP merupakan molekul chaperones untuk molekul protein lain yang berfungsi sebagai pengikat dan menstabilkan protein lain pada stadium *intermediate* dari pelipatan, perakitan, translokasi melalui membran dan degradasi protein yang menyimpang dari kondisi normal.

Ikan merupakan organisme dalam air yang hidupnya *mobile*, berenang dan aktif (tidak pasif) (Jumhana, 2014). Lingkungan perairan seperti muara merupakan tempat hidup bagi Ikan Keting, namun lingkungan muara biasanya menjadi tempat akumulasi dari segala aktivitas yang terjadi di sekitar daerah aliran sungai sampai menuju muara. Akhirnya, Ikan Keting akan mendapat dampak dari segala pencemaran yang mengalir menuju muara. Barton (2002)

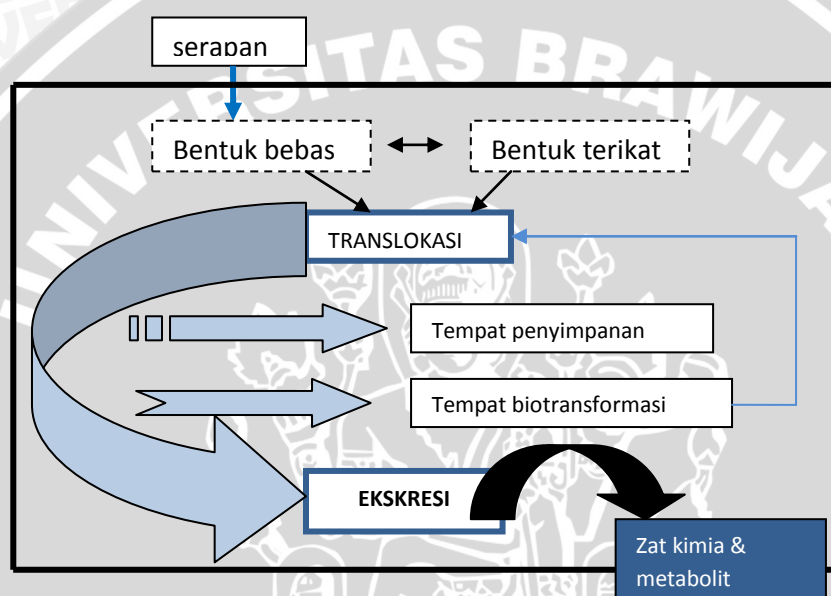
dalam Iwama (2003), menyatakan besarnya respon stres fisiologis dapat dipengaruhi oleh *stressor*, serta faktor genetik, perkembangan dan lingkungan. Ikan akan memberikan respon tentang keadaan lingkungannya. Ikan yang terkena stres baik di alam liar dan dalam kondisi dalam laboratorium, sebagian besar dapat menunjukkan intensitas dan durasi paparan stres sehingga dapat menentukan apakah ikan tersebut mampu mengatasi stres yang datang (Iwama, 2003).

Respon stres pada ikan dapat dikarenakan lingkungan perairan yang buruk seperti adanya pencemaran akibat limbah-limbah hasil aktivitas kota, pabrik, rumah tangga dll, yang dialirkan melalui sungai yang nantinya juga akan sampai di muara. Stres yang di akibatkan oleh lingkungan berupa faktor kimia air, walaupun stres umum pada lingkungan biasanya berupa kondisi yang ekstrim, atau perubahan kondisi kualitas air seperti oksigen terlarut, amonia, pH, kandungan gas, tekanan parsial ataupun peningkatan suhu (Iwama, 2003). Selain itu, menurut Iwama (2003), konsentrasi air yang tinggi bahan logam berat seperti Cu, Cd, Zn dan Fe juga dapat menyebabkan stres dan kematian pada ikan dan kontaminan seperti arsenic, klorin, sianida fenol dan polychlorinated biphenyls merupakan sumber stres yang ampuh bagi semua ikan.

2.6 Mekanisme terjadinya HSP70 dalam jaringan organ ikan akibat pencemaran lingkungan

Terjadinya *Heat Shock Protein* 70 kDa dalam jaringan organ ikan sangat berpengaruh dengan aktivitas metabolisme dalam tubuh ikan dan dengan lingkungan dimana ikan tersebut hidup. HSP70 dapat terjadi pada sel dalam tubuh ikan, dimana sel tersebut akan mengeluarkan kadar HSP yang berlebih saat keadaan lingkungan tempat ikan tersebut hidup sudah tidak sesuai dengan keadaan normal/biasanya (Iwama *et al.*, 1999). Menurut Rompas (2010), bahan

asing (*xenobiotik*) yang masuk ke dalam tubuh bisa menimbulkan efek spesifitas atas satu bahkan beberapa sistem biologi, oleh karena itu sistem tersebut dikatakan sebagai tempat kedudukan (lokasi) aksi zat kimia dengan sel. Lokasi terjadi reaksi di sel, bisa hanya pada satu tempat tetapi dapat juga menyebar ke seluruh tubuh. Model alur polutan yang masuk kedalam tubuh disimulasikan seperti pada Gambar 6:



Gambar 6. Ilustrasi alur/proses toksokinika di dalam tubuh makhluk hidup (Rompas, 2010).

2.7 Parameter Kualitas Air

2.7.1 pH

pH merupakan singkatan dari *puissance negative de H*, yang artinya logaritma dari kepekatan ion-ion H (hidrogen yang terlepas dalam suatu cair biasanya juga disebut derajat keasaman. Nilai pH menunjukkan aktivitas ion hidrogen yang ada dalam suatu larutan ataupun perairan yang biasanya dinyatakan sebagai konsentrasi ion hidrogen (dalam mol per liter) pada suhu tertentu atau dapat ditulis $\text{pH} = -\text{Log } (\text{H})^+$ (Kordi dan Tancung, 2005). pH air mempengaruhi tingkat kesuburan perairan karena mempengaruhi kehidupan

jasad renik. Perairan yang asam biasanya akan kurang produktif, karena oksigen terlarut akan berkurang sehingga konsumsi oksigen akan menurun, aktivitas pernafasan naik dan selera makan akan berkurang dan ikan menjadi stres. Begitu juga dalam keadaan pH yang basa (Kordi dan Tancung, 2005).

pH juga mempengaruhi toksisitas suatu senyawa kimia misalkan senyawa ammonium yang dapat terionisasi banyak ditemukan pada perairan yang memiliki pH rendah, namun ammonium bersifat tidak toksik pada pH yang tinggi (alkalis) tapi lebih banyak ditemukan ammonia yang tidak terionisasi dan bersifat toksik (Effendi, 2003). Pengukuran pH pada perairan muara sangatlah penting, karena akan berpengaruh terhadap organisme dalam muara tersebut seperti Ikan Keting. Serta akan berpengaruh terhadap proses osmoregulasi tubuh ikan itu sendiri (Rahmatullah, 2010).

2.7.2 Suhu

Suhu merupakan faktor penting dalam perairan, dimana keadaannya akan sangat mempengaruhi kehidupan organisme didalamnya. Suhu yang paling tinggi dipengaruhi oleh sinar matahari. Cahaya matahari yang masuk ke perairan akan mengalami penyerapan dan perubahan menjadi energi panas dan biasanya proses ini lebih intensif pada lapisan atas perairan sehingga lapisan atas perairan memiliki suhu yang lebih tinggi daripada didasar perairan. Biasanya dinyatakan dalam satuan derajat celcius ($^{\circ}\text{C}$).

Perubahan suhu berperan terhadap pengaruh proses fisika, kimia, dan biologi badan air (Effendi, 2003). Peningkatan suhu dapat mengakibatkan adanya evaporasi, peningkatan viskositas, volatilisasi dan reaksi kimia yang lain serta berpengaruh terhadap penurunan kelarutan gas yang ada di dalam air, seperti O_2 , CO_2 , N_2 , CH_4 (Haslam, 1995 dalam Effendi, 2003). Selain itu, peningkatan suhu juga dapat meningkatkan proses metabolisme dan respirasi

organisme air seperti ikan. Effendi (2003), menyatakan peningkatan suhu disertai dengan penurunan kadar oksigen terlarut sehingga keberadaan oksigen seringkali tidak mampu memenuhi kebutuhan oksigen bagi organisme akuatik untuk melakukan proses metabolisme dan respirasi, peningkatan suhu juga menyebabkan terjadinya peningkatan dekomposisi bahan organik oleh mikroba.

Begitu pula dengan ikan keting yang hidup di lingkungan muara sungai. Perubahan suhu di muara akan lebih sering terjadi akibat adanya arus yang datang dari daratan ataupun bisa terjadi akibat adanya pasang surut. Sehingga pengukuran suhu di muara sangatlah penting dilakukan karena dapat mempengaruhi proses metabolisme pada ikan keting.

2.7.3 DO

DO merupakan singkatan dari *dissolved Oxygen* yaitu kandungan oksigen atau O_2 yang ada dalam perairan atau yang terlarut didalam perairan. Kandungan oksigen dalam suatu perairan akan sangat dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti suhu, salinitas, turbulensi air dan tekanan atmosfer (Effendie, 2003). Zonneveld *et al.*, (1991) dalam Kordi dan Tancung (2005), menyatakan kebutuhan oksigen pada ikan mempunyai kepentingan pada dua aspek, yaitu kebutuhan lingkungan bagi spesies tertentu dan kebutuhan konsumtif yang tergantung pada metabolisme ikan. Perbedaan kebutuhan oksigen dalam suatu lingkungan bagi ikan dari spesies tertentu disebabkan oleh adanya perbedaan struktur molekul sel darah ikan yang mempengaruhi hubungan antara tekanan parsial oksigen dalam air dan derajat kejenuhan oksigen dalam darah (Kordi dan Tancung, 2005).

Oksigen terlarut merupakan salah satu unsur pokok pada proses metabolisme organisme, terutama untuk proses respirasi. Disamping itu juga dapat digunakan sebagai petunjuk kualitas air (Odum, 1971). Oksigen

merupakan unsur utama dalam proses respirasi dan metabolisme organisme dalam air. Sumber oksigen berasal dari udara maupun dari hasil fotosintesis, sehingga kandungan oksigen terlarut dalam air tinggi pada siang hari dan rendah pada malam hari. Namun, pada perairan yang kandungan bahan organiknya tinggi, umumnya kadar oksigennya rendah. Karena dalam proses dekomposisi dibutuhkan kadar oksigen yang cukup (Subarijanti, 1990).

2.7.4 Salinitas

Salinitas merupakan total ion yang terdapat dalam perairan (Boyd, 1988). Keberadaan salinitas akan dapat menggambarkan seberapa besar nilai padatan total tersuspensi dalam air, setelah semua karbonat dikonversi menjadi oksida, semua bromide dan iodide digantikan oleh klorida dan semua bahan organik telah dioksidasi (Effendie, 2003). Biasanya salinitas dinyatakan dalam satuan g/kg atau promil ($^{\circ}/_{00}$). Pada perairan muara, kadar salinitas sangat dipengaruhi oleh masukan air tawar ke laut ataupun masukan air laut ke muara. Namun, bisa juga dipengaruhi oleh proses pasang surut yang terjadi pada saat pengukuran salinitas. Effendie (2003), kembali memaparkan bahwa salinitas di perairan tawar biasanya kurang dari $0,5^{\circ}/_{00}$, perairan payau antara $0,5-30^{\circ}/_{00}$ dan perairan laut $30-40^{\circ}/_{00}$.

Daerah estuari merupakan daerah yang kadar salinitasnya berkurang karena adanya sejumlah air tawar yang masuk dari sungai saat terjadinya proses pasang-surut. Konsentrasi rata-rata seluruh garam yang terlapat di dalam air laut dikenal sebagai salinitas dan konsentrasi ini biasanya sebesar 3% dari berat seluruhnya (Hutabarat dan Evans, 2006). Selain itu, salinitas dapat dipengaruhi juga oleh adanya air hujan yang jatuh ke perairan sehingga menyebabkan kadar garam di perairan tersebut menurun (Nybakken, 2000 dalam Armita, 2011). Pengukuran salinitas di muara Sungai Mas, muara Sungai Wonokromo, muara

Sungai Porong sangat penting dilakukan, karena kadar salinitas akan berpengaruh terhadap metabolisme ikan yang hidup di muara tersebut.

2.7.5 BOD

Biochemical Oxygen Demand (BOD) merupakan banyaknya oksigen yang dibutuhkan oleh organisme untuk menguraikan bahan organik yang mudah terurai secara biologi. Nilai BOD menyatakan jumlah oksigen yang dibutuhkan oleh mikroorganisme aerobik dalam proses penguraian senyawa organik yang diukur pada temperature 20 °C (Barus, 2002). Biasanya pengukuran ini dilakukan untuk mengetahui pencemaran bahan organik yang susah/ tidak mudah untuk terurai. Pencemaran bahan organik ini dapat berasal dari limbah rumah tangga, pabrik/industri dan pertanian.

Effendi (2003), menjelaskan bahan organik di perairan akan terdekomposisi, dan bahan organik ini dapat berupa lemak, protein, kanji, glukosa, aldehida dan ester namun jenis selulosa merupakan bahan organik yang secara biologis berlangsung relatif lambat. Barus (2002), menyatakan setelah pengukuran dilakukan selama 5 hari, jumlah senyawa organik yang diuraikan sudah mencapai kurang lebih 70 %, maka pengukuran yang umum dilakukan adalah pengukuran selama 5 hari (BOD₅). Nilai BOD di dalam perairan dapat dipengaruhi oleh tiga variabel penting yang tidak konstan, yaitu: suhu, waktu, dan cahaya (Boyd, 1988). Sedangkan ketetapan nilai BOD yang baik bagi kehidupan biota perairan berdasarkan Keputusan Menteri Lingkungan Hidup No. 115/2003 berkisar < 2mg/l.

2.7.6 COD

Chemical Oxygen Demand (COD) merupakan banyaknya oksigen yang dibutuhkan oleh organisme untuk menguraikan bahan organik di perairan melalui

reaksi kimia. Nilai COD juga dapat digunakan untuk memantau keadaan bahan pencemar di suatu perairan. Penurunan COD akan lebih efektif dan efisien bila dilakukan secara anaerob (Lazuardi *et al.*, 2012) Pengukuran kadar COD sangat penting dilakukan di muara, karena nilai COD akan mempengaruhi terhadap proses metabolisme pada ikan. kadar COD sangat berhubungan dengan nilai BOD dan kadarnya akan turun jika nilai BOD juga turun. Nilai COD biasanya lebih besar daripada nilai BOD hal ini dikarenakan terjadi proses dimana COD akan mengoksidasi zat-zat organik yang ada di perairan menjadi CO_2 dan H_2O dalam suasana asam sedangkan BOD tidak semua bahan organik dapat diuraikan oleh bakteri. Keadaan inilah yang mengakibatkan nilai COD biasanya lebih tinggi daripada nilai BOD.

2.7.7 TOM

Total Organic Matter (TOM) merupakan bahan organik total yang terdapat di perairan yang terdiri dari bahan organik terlarut, tersuspensi (*particulate*) dan koloid (Hariyadi *et al.*, 1992). Bahan organik yang berasal dari sisa metabolisme dapat berupa organik terlarut dan partikulat. Bahan organik dapat berupa berasal dari tiga sumber (Sawyer dan Mc Carty (1978) dalam Effendie (2003) menyatakan:

1. Alam, misalnya fiber, minyak nabati dan hewani, lemak hewani, alkaloid, selulosa, kanji, gula dan sebagainya.
2. Sintesis, seperti semua bahan organik yang diproses oleh manusia.
3. Fermentasi seperti alkohol, aseton, gliserol, antibiotika dan asam yang semuanya diperoleh melalui aktivitas mikroorganisme.

Komposisi rata-rata bahan organik terlarut terdiri dari nitrogen sederhana sebesar 15,6 %, bahan-bahan lipid sebesar 0,7 % dan karbohidrat sebesar 83,7 % (Alabaster, 1980). Masukan bahan organik ke perairan mempunyai akibat

yang sangat kompleks, tidak hanya deoksigenasi dalam air yang disebabkan oleh aktivitas bakteri dalam merombak bahan organik, tetapi ada penambahan padatan tersuspensi, penambahan bahan beracun seperti amonia, sulfide dan cyanide, sedangkan adanya pengendapan di perairan akan teminimalisir jika ada pengadukan di perairan tersebut dan proses ini termasuk kedalam perubahan TOM dari secara fisika (Mulyanto, 1992).

2.7.8 TSS

Total Suspended Solid atau padatan tersuspensi total (TSS) merupakan residu dari padatan total yang tertahan oleh saringan dengan ukuran partikel maksimal 2 μm atau lebih besar dari ukuran partikel koloid. TSS merupakan kumpulan atau terdiri dari lumpur, tanah liat, logam oksida, sulfide, ganggang, bakteri dan jamur. TSS umumnya dihilangkan dengan flokulasi dan penyaringan. TSS berpengaruh terhadap turbiditi (kekeruhan) dengan membatasi penetrasi cahaya yang masuk ke dalam perairan sehingga dapat berpengaruh juga terhadap proses fotosintesis oleh fitoplankton.

TSS merupakan padatan tersuspensi total (*Total Suspended Solid*) adalah bahan-bahan tersuspensi yang berdiameter $> 1 \mu\text{m}$ yang tertahan pada salingan *milipore* dengan diameter pori 0,45 μm (Effendi, 2003). Biasanya TSS terdiri dari lumpur halus dan pasir halus serta jasad-jasad renik yang terutama disebabkan oleh kikisan tanah atau erosi tanah yang terbawa ke badan air. Bahan-bahan yang terlarut dan tersuspensi didalam perairan alami biasanya tidak bersifat toksik, namun, jika keberadaannya berlebihan, maka akan dapat meningkatkan nilai kekeruhan, yang selanjutnya akan menghambat penetrasi cahaya matahari ke kolom air dan akhirnya akan berpengaruh terhadap proses fotosintesis dalam perairan.

Tabel 2. Kesesuaian Perairan untuk Kepentingan Perikanan Berdasarkan Nilai Padatan Tersuspensi (TSS).

Nilai TSS (mg/l)	Pengaruh Terhadap Kepentingan Perikanan
< 25	Tidak berpengaruh
25–80	Sedikit berpengaruh
81–400	Kurang baik
> 400	Tidak baik

Sumber : Alabaster dan Lloyd (1982) dalam Effendi (2003).



3. MATERI DAN METODE

3.1 Materi Penelitian

Materi dalam penelitian ini adalah ekspresi HSP70 kDa (*Heat Shock Protein* 70 kDa) pada ikan keting (*Mystus nigriceps*) yang diuji dengan menggunakan metode IHC/IHK (*Immunohistochemistry* / immunohistokimia). Ikan diambil dari beberapa muara sungai yang ada di Jawa Timur yaitu muara Sungai Mas, muara Sungai Porong dan muara Sungai Wonokromo. Adapun parameter kualitas air yang diukur antara lain: pH (*Poisoning Hydrogen*), suhu, DO (*Dissolved Oxygen*), salinitas, BOD (*Biological Oxygen Demand*), COD (*Chemical Oxygen Demand*), TOM (*Total Organic Matter*) dan TSS (*Total Suspended Solid*).

3.2 Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.3 Metode Pelaksanaan Penelitian

Metode yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah deskriptif yaitu penelitian bertujuan untuk menggambarkan sifat-sifat atau karakteristik atau gejala pada kelompok tertentu guna menentukan penyebaran dan keterkaitannya. Penelitian dengan metode ini dimaksudkan untuk menentukan hasil frekuensi penyebaran suatu gejala dan melihat hubungan antara gejala satu dengan gejala lainnya (Ulfatin, 2004).

Penelitian deskriptif bisa berkenaan dengan *assesment* tentang sikap atau pendapat bisa juga berupa pemahaman terhadap suatu kasus organisasi atau kehidupan masyarakat tertentu. Penelitian deskriptif bisa berupa survei studi

pengembangan studi kasus atau deskripsi suatu fenomena lainnya. Data yang digunakan adalah data primer dan data sekunder (Wiyono, 2007).

3.3.1 Data Primer

Data primer adalah data yang diperoleh langsung dari sumbernya atau pelaku kegiatan, diamati dan dicatat untuk pertama kalinya (Marzuki, 1986). Data primer yang diambil dalam penelitian ini adalah gambaran jaringan organ ikan keting (*Mystus nigriceps*) yang tereksresi HSP70 pada beberapa muara yang ada di Jawa Timur antara lain muara Sungai Mas, muara Sungai Porong dan muara Sungai Wonokromo.

a. Partisipasi Aktif

Partisipasi aktif yang dilakukan untuk penelitian ini yaitu dengan melakukan pengambilan sampel ikan keting (*Mystus nigriceps*) di keempat lokasi tersebut yaitu muara Sungai Mas, muara Sungai Porong, muara Sungai Wonokromo. Kemudian parameter kualitas air yang diukur antara lain: pH (*Poisoning Hydrogen*), suhu, DO (*Dissolved Oxygen*), salinitas, BOD (*Biological Oxygen Demand*), COD (*Chemical Oxygen Demand*), TOM (*Total Organic Matter*) dan TSS (*Total Suspended Solid*).

b. Observasi

Kegiatan observasi dalam penelitian ini adalah menangkap ikan dengan menggunakan pancing, karena dibutuhkan ikan yang masih segar agar organ dari ikan tersebut dapat langsung di ambil.

c. Wawancara

Wawancara adalah salah satu teknik pengumpulan data yang bisa digunakan dalam penelitian untuk mendapatkan informasi tentang objek penelitian dengan cara mengajukan pertanyaan-pertanyaan secara lisan. Dengan kata lain, dapat dikemukakan bahwa wawancara merupakan cara

menghimpun data yang dilakukan dengan melakukannya secara tanya jawab secara lisan atau berhadapan muka secara langsung dengan arah serta tujuan yang telah ditentukan (Wiyono, 2007).

3.4 Metode Pengambilan Data

Metode pengambilan data yang digunakan dalam penelitian ini adalah penetapan stasiun pengamatan, teknik pengambilan sampel ikan, partisipasi aktif, observasi dan wawancara serta studi literatur dari hasil penelitian sebelumnya yang ada di muara ataupun daerah aliran sungai dari muara pengambilan sampel.

3.4.1 Penetapan Stasiun Penelitian

Sebelum melakukan penelitian, terlebih dahulu ditetapkan daerah-daerah tempat yang akan dijadikan stasiun pengambilan sampel dengan tujuan untuk memudahkan mekanisme pengambilan sampel. Penentuan stasiun ada di 3 lokasi yaitu muara Sungai Mas (Pelabuhan Tanjung Perak Surabaya), muara Sungai Wonokromo (daerah wisata mangrove Wonorejo), muara Sungai Porong (Pasuruan). Stasiun pengamatan yang ditentukan dapat dilihat pada Gambar 7.

Stasiun 1 : Daerah pesisir/muara Sungai Mas yang bermuara di pelabuhan Perak, Kota Surabaya.

Stasiun 2 : Daerah pesisir/muara Sungai Wonokromo/Jagir yang bermuara di lokasi ekowisata mangrove Wonorejo.

Stasiun 3 : Daerah pesisir/muara dari Sungai Porong yang bermuara di muara porong daerah Pasuruan.

Pengambilan sampel dilakukan sebanyak 1 kali untuk pengambilan sampel ikan. Lokasi pengambilan sampel yang digunakan dalam penelitian ini seperti yang ada pada Lampiran 2.



Gambar 7. Peta Jawa Timur (Google map, 2014).

3.4.2 Teknik pengambilan sampel ikan keting (*Mystus nigriceps*)

Pengambilan sampel ikan dengan cara memancing ikan yang akan digunakan untuk penelitian yaitu ikan keting teknik pancing ini digunakan karena sesuai kebutuhan penelitian yaitu membutuhkan organ ikan sehingga ikan yang digunakan adalah ikan yang masih segar agar tidak terlalu mempengaruhi tingkat stres pada ikan.

3.5 Prosedur Pembuatan Preparat

A) Organ di awetkan menggunakan formalin 10% (fiksasi) 18–24 jam.

B) Embeddid

- Meletakkan sampel pada nampan → pot-pot.
- Melintang atau membujur (bentuk potongannya).
- Mengairi (dicuci) mengalir selama 15 menit.
- Memerisi aseton 1 jam x 4.
- Xilol $\frac{1}{2}$ jam x 4.

- Paraffin cair dengan suhu 55 °C selama 1 jam x 3 → impregnasi.
- Menanamkan jaringan pada paraffin mendiamkan selama 24 jam.

C) Slesing

- Menempel blok yang sudah tertanam jaringan pada pot cekam mikrotom.
- Meletakkan pada balok es selama 15 menit.
- Meletakkan pada cekam/catok mikrotom dan dilakukan penyayatan (4 μ).
- Mengambil sayatan yang berbentuk pita, Membuat balok pada water bad.
- Mengambil dengan objek glass polielycyn.
- Mendiamkan 24 jam agar jaringan benar-benar lengket dan kering.

D) Stanning

- Merendam preparat yang sudah menempel pada objek *glass*.
- Membilas dengan xilol selama 30 menit x 3.
- Membilas dengan alkohol absolute 30 menit x 3. (preparat yang menempel tidak menggunakan lem *cover glass*).

E) Hasil

3.6 Parameter Kualitas Air

3.6.1 Derajat Keasaman (pH)

Menurut Hariyadi *et al.*, (1992), prosedur analisis derajat keasaman (pH) pada perairan adalah sebagai berikut :

- Mencelupkan pH paper ke dalam perairan.
- Mendiamkan selama kurang lebih 2 menit.
- Mengangkat dan mengibaskan sampai setengah kering.
- Mencocokkan dengan skala 1—14 yang tertera pada kotak pH.
- Mencatat hasil pengukurannya.

3.6.2 Suhu

Menurut Standar Nasional Indonesia (1989), tentang prosedur pengukuran suhu pada perairan adalah sebagai berikut:

- Menyiapkan termometer Hg.
- Memasukkan termometer ke dalam perairan selama 2—5 menit dan ditunggu sampai beberapa saat sampai air raksa menunjuk atau berhenti pada skala tertentu.
- Membaca skala termometer pada saat termometer masih dalam air dan jangan tersentuh tangan.
- Mencatat hasil pengukuran dalam skala derajat celcius ($^{\circ}\text{C}$).

3.6.3 DO (Oksigen Terlarut)

Menurut Standar Nasional Indonesia (1990), cara pengukuran DO (*Dissolved Oxygen*/Oksigen terlarut) sebagai berikut:

- Menghidupkan alat DO-meter.
- Mengatur alat DO-meter untuk pengukuran penyesuaian terhadap suhu udara.
- Membaca dan mencatat suhu udara.
- Mengatur alat DO-meter sehingga menunjukkan kadar sesuai dengan tabel kadar oksigen di udara pada suhu udara yang telah terbaca sebelumnya.
- Memasukkan magnet ke dalam botol KOB yang berisi penuh sampel air yang akan diukur kadar oksigen terlarutnya.
- Menutup botol sampai rapat dengan elektrode (*probe*) DO-meter dan jangan sampai ada gelembung udara di dalam botol.
- Mengaduk sampel air pada botol dengan alat pengaduk magnet, sampai pembacaan skala pada alat stabil.

- Mencatat skala yang ditunjukkan pada alat sebagai kadar DO dalam satuan mg/l.

3.6.4 Salinitas

Menurut Kordi dan Tancung (2005), metode pengukuran salinitas adalah sebagai berikut:

- Mengangkat penutup kaca prisma.
- Meletakkan 1–2 tetes air yang akan diukur.
- Menutup kaca prisma secara perlahan-lahan dengan sudut 45° agar tidak terdapat gelembung udara.

3.6.5 BOD

Menurut Hariyadi *et al.*, (1992), metode pengukuran BOD (*Biochemical Oxygen Demand*) adalah sebagai berikut :

- Mengambil air sampel sebanyak 1–2 liter dari kedalaman yang dikehendaki. Apabila air terlalu keruh (terutama karena plankton), lanjutkan ke prosedur 2. Bila air tampak jernih lanjutkan ke prosedur 3.
- Mengencerkan 400–500 ml air sampel sampai 100 kali, tergantung pada tingkat kepekatan sampel, dengan menggunakan akuades bebas biota.
- Meningkatkan kadar oksigen air sampel tersebut dengan aerasi oksigen juga dapat dilakukan dengan cara menuangkan air sampel dari botol satu ke botol yang lain, dan sebaliknya, sebanyak 15 kali atau lebih.
- Memindahkan air sampel tersebut ke dalam botol BOD gelap dan terang sampai penuh. Air dalam botol BOD terang segera dianalisa kadar oksigen terlarutnya (DO_1). Botol BOD gelap dan air sampel didalamnya diinkubasi dalam BOD inkubator pada suhu $20^{\circ}C$. Setelah 5 hari, tentukan kadar terlarut dalam botol gelap ini (DO_5). Penentuan kadar oksigen terlarut ini bisa

dilakukan secara titrimetrik atau dengan menggunakan DO-meter.

- Perhitungan :

$BOD_5 \text{ (ppm)} = (DO_1 - DO_5) \times \text{faktor pengenceran.}$

3.6.6 COD

- Mencuci bersih erlenmeyer 125 ml hingga bebas bahan organik
- Pipet 10,00 ml air sampel, masukkan ke dalam erlenmeyer.
- Menambahkan 5 ml $K_2Cr_2O_7$, aduk.
- (Untuk air asin/laut : tambahkan 200 mg H_2SO_4 untuk setiap 1000 ml/l Chloride) tambahkan dengan hati-hati 15 ml H_2SO_4 pekat (gunakan ruang asam) kemudian aduk.
- Menutup erlenmeyer dengan kaca arloji (gelap penutup) dan biarkan selama sekitar 30 menit.
- Mengencerkan dengan menambahkan 7,5 ml akuades bebas ion, aduk.
- Menambahkan 2–3 tetes indikator Ferroin, kemudian titrasi dengan FAS hingga terjadi perubahan warna dari kuning-oranye atau biru-kehijauan menjadi merah-kecoklatan.
- Membuat larutan blanko dengan menggunakan 10 ml akuades, kemudian tambahkan peraksi-pereaksi seperti pada prosedur 3–7. Larutan blanko ini memerlukan dalam perhitungan nilai COD.
- (Salinitas harus diketahui terlebih dahulu untuk menentukan kadar chloride sampel. $\text{Salinitas (ppm)} = 30 + 1,805 \text{ (chloride) (ppm).}$

3.6.7 TOM (Total Organic Matter)

Menurut Hariyadi *et al.*, (1992), adapun cara mengukur kandungan total bahan organik terlarut atau TOM adalah dengan cara sebagai berikut:

- Memasukkan 50 ml air sampel ke dalam erlenmeyer.

- Menambahkan 9,5 ml KMnO_4 dari buret.
- Menambahkan 10,00 ml H_2SO_4 (1:4).
- Memanaskan dalam pemanas air sampai suhu mencapai $70\text{ }^\circ\text{C}$ – $80\text{ }^\circ\text{C}$ kemudian diangkat.
- Menambahkan Na-Oxalate 0,01 N perlahan sampai tidak berwarna pada suhu $60\text{ }^\circ\text{C}$ – $70\text{ }^\circ\text{C}$
- Menitrasi dengan KMnO_4 , sampai terbentuk warna (merah jambu/pink). Catat sebagai ml titran (x ml).
- Melakukan prosedur (1–6) dan mencatat titran yang digunakan sebagai (y dalam ml).

Perhitungan:

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

Keterangan:

X = ml titran untuk air sampel

Y = ml titran untuk *aquades* (larutan blanko)

31.6 = Seperlima dari BM KMnO_4

(1mol KMnO_4 melepaskan 5 oksigen dalam reaksi ini)

0,01 = Normalitas KMnO_4

3.6.8 TSS

Pengukuran kadar TSS menurut SNI (1989), sebagai berikut :

- Menyiapkan air sampel.
- Menyaring air sampel dengan kertas saring yang sebelumnya sudah ditimbang.
- Mengeringkan ketas saring dalam oven suhu $103\text{ }^\circ\text{C}$ sampai dengan $105\text{ }^\circ\text{C}$.
- Menghitung nilai TSS dengan rumus :

$$\text{TSS (mg/l)} = \frac{A-B}{V} \times 1000$$

Keterangan : A = berat kertas saring + residu kering (mg/l)

B = berat kertas saring (mg/l)

V = volume contoh/sampel (ml)

- Hasil

3.7 Analisis dengan IHC/IHK (*immunohistochemistry/immunohistokimia*)

Analisis dengan menggunakan immunohistokimia yaitu dengan membersihkan objek jaringan organ yang sudah dibuat dengan beberapa tahapan yang kemudian akan dilihat dengan mikroskop binokuler dan dipotret dengan kamera. Menurut Yunita (2014), IHK adalah salah satu metode mengdiaknosa system imun dengan cara cepat, tepat dan efisien dn terjangkau yang dapat diterima secara hokum, ilmiah dan internasional. Prosedur untuk analisis IHC/IHK menurut Yanuhar (2009), sebagai berikut :

- Melakukan preparasi jaringan organ.
- Melakukan deparafinasi preparat dengan xilol 20 µm selama ± 5 menit.
- Melakukan dehidrasi dengan alkohol absolut sebanyak 2 kali ulangan pada konsentrasi 90 %, 80 % dan 70 % masing-masing selama 5 menit.
- Membilas preparasi dengan dionize water 20 µm sebanyak 3 kali ulangan masing-masing 5 menit.
- Menyimpan preparasi dalam refrigerator (*overnight*).
- Membilas preparat dengan PBS pH 7,4 20 µm sebanyak 3 kali masing-masing selama 5 menit.
- Menginkubasi preparat dengan H₂O₂ 3 % selama 10 menit.
- Membloking spesifik protein dan inkubasi dalam 5 % PBS 1–2 % BSA.

- Menyiapkan antibodi primer yang dilarutkan dalam larutan blotto dengan perbandingan 1:1000.
- Mencuci dengan antibodi primer anti HSP70 Mouse (1:1000) *overnight* 4 °C.
- Menetesi preparat dengan antibodi primer dan diinkubasi *overnight* 4 °C.
- Mencuci preparat kemudian dicuci kembali dengan PBS pH 7,4 sebanyak 3 kali, masing-masing 5 menit.
- Mengeringkan kembali sisa-sisa PBS yang masih menempel dan siapkan antibodi sekunder yang dilarutkan dalam larutan blotto dengan perbandingan 1:200.
- Menetesi preparat dengan larutan antibodi sekunder anti mouse conjugate pajotin dan diinkubasi selama 1 jam pada suhu ruang.
- Mencuci kembali preparat dengan PBS pH 7,4 sebanyak 3 kali, masing-masing 5 menit.
- Mengeringkan kembali sisa-sisa PBS yang masih menempel.
- Menginkubasi dalam SA-HRP dengan perbandingan 1:500 selama 40 menit.
- Mencuci preparat dengan PBS pH 7,4 sebanyak 3 kali, masing-masing 5 menit.
- Menggunakan kromagen DAB selama 20 menit.
- Mencuci preparat dengan PBS pH 7,4 sebanyak 3 kali, masing-masing 5 menit.
- Memberikan counterstain dengan majer *hemotoxilen* selama 10 menit.
- Membilas preparat dengan DH₂O sebanyak 3 kali ulangan masing-masing selama 5 menit.
- Mengeringkan preparat dengan cara diangin-anginkan.
- Mengamati preparat hasil pewarnaan IHC dibawah mikroskop okuler dengan perbesaran 40 kali.

- Mengambil gambar hasil IHK dengan menggunakan *Olympus digital camera*.
- Hasil.

3.8 Analisa gambar dengan software *ImmunoRatio* dan *imageJ*

Analisa gambar menggunakan software *online immunoRatio* dilakukan untuk memperjelas gambar dengan perbedaan warna yang muncul pada gambar. Perbedaan warna yang muncul tersebut merupakan hasil dari ikatan antigen-antibodi pada preparat yang ditandai dengan persentase DAB yang muncul pada gambar (Lihat Lampiran) dan *offline imageJ* dilakukan untuk mengetahui intensitas ekspresi HSP70 yang muncul, artinya kepositifan ekspresi yang muncul itu kuat atau tidak, untuk langkahnya dapat dilihat pada Lampiran.

3.9 Analisis data dengan regresi korelasi

Analisa regresi dan korelasi dilakukan untuk mengetahui hubungan antara ekspresi HSP70 pada masing-masing jaringan organ insang, jantung, hati ginjal dengan masing-masing parameter kualitas air yaitu pH, DO, suhu, salinitas, COD, BOD, TOM dan TSS. Analisis data digunakan untuk mencari hubungan dan keeratan data yang diperoleh (regresi-korelasi) (Scheffler, 1987) dalam Fauziah *et al.*, (2012). Analisis ini dilakukan untuk mengetahui korelasi antara ekspresi HSP70 dalam jaringan organ insang, jantung, hati dan ginjal ikan keting di muara Sungai Mas, muara Sungai Wonokromo dan muara Sungai Porong dengan fisika kimia kualitas air.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Keadaan Umum Lokasi Penelitian

Provinsi Jawa Timur terletak pada derajat lintang 111'0"—114'0" Bujur Timur (BT) dan 7.12"—8.48" Lintang Selatan (LS), dengan luas wilayah yang mencakup 46.712,80 km² yang terbagi dalam 38 pemerintah tingkat II yaitu 29 kabupaten dan 9 kotamadya. Masing-masing dari daerah tersebut dibagi kedalam wilayah kecamatan dan desa/kelurahan yang terdiri dari 15 kecamatan dan 8.413 desa/kelurahan. Adapun batas-batas dari wilayah Jawa Timur ini ialah: sebelah utara berbatasan dengan Laut Jawa, timur berbatasan dengan Selat Bali, selatan berbatasan dengan Samudera Indonesia dan barat bebatasan dengan provinsi Jawa Tengah (Balai Besar Konservasi Sumber Daya Alam Jatim, 2006).

Kota Surabaya merupakan Ibukota dari Provinsi Jawa Timur yang juga merupakan kota yang letaknya paling rendah, yaitu sekitar 2 m di atas permukaan laut (mdpl). Sementara itu, kota yang letaknya paling tinggi dari permukaan laut adalah Kota Malang dengan ketinggian 445 mdpl. Suhu udara kota-kota yang ada di Jawa Timur sangat bervariasi, mengingat bahwa wilayah ini banyak terdapat pegunungan. Daerah yang berdekatan dengan pantai memiliki suhu maksimum yang mencapai 36—37 °C pada saat siang hari, sedangkan suhu minimumnya sekitar 22 °C pada malam hari (JatimProv, 2013).

Data BKSDA Jatim (2006), menunjukkan sungai-sungai yang ada di Jawa Timur sangat banyak, namun ada beberapa yang tergolong sungai besar. Beberapa sungai besar tersebut antara lain: Sungai Bengawan Solo, Sungai Brantas, Sungai Madiun dan Sungai Konto. Penelitian ini dilakukan di empat muara yang ada di Jawa Timur, tiga diantaranya merupakan anak-anak sungai

yang berasal dari sungai Brantas yaitu muara Sungai Mas, muara Sungai Wonokromo dan muara Sungai Porong.

Objek yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan. Ikan mempunyai sifat *mobile* artinya mudah berpindah tempat sehingga saat lingkungan tersebut sudah tidak sesuai lagi dengan keadaan semestinya maka ikan tersebut akan berpindah tempat, namun tidak untuk semua jenis ikan, ada juga ikan atau organisme vertebrata lain ataupun avertebrata yang tetap akan tinggal di tempat itu walaupun lingkungan tersebut sudah mulai tercemar. Ikan mulai beradaptasi dengan lingkungan yang tercemar yang diakibatkan oleh paparan bahan pencemar secara terus menerus yang akhirnya akan menyebabkan ikan tersebut kebal terhadap bahan pencemar yang masuk ke perairan tersebut. Selain itu, Masduqi (2006) dalam Mardhasari (2014), mengatakan bahwa lebih dari 40 industri kecil hingga besar terletak di sepanjang Sungai Surabaya membuang limbahnya ke Sungai Surabaya.

Salah satu penanda dari adanya pencemaran misalkan terhambatnya pertumbuhan (proses metabolisme), reproduksi, kekerdilan organisme sampai mengalami stres bahkan kematian. Salah satu penanda adanya stres bisa ditandakan dengan adanya HSP (*Heat Shock Protein*) yaitu suatu protein yang muncul saat suatu organisme mengalami stres dari lingkungan sekitarnya. HSP ini dapat ditemukan disemua jenis organisme. Namun, perbedaannya terdapat pada tinggi atau rendahnya HSP tersebut tersekspresi. Protein stres tersebut biasanya dinamakan HSP70 yaitu *Heat Shock Protein* dengan berat molekul 70 kDa (kilo Dalton). HSP70 ini muncul akibat adanya stress lingkungan, misalkan dengan adanya suhu yang tinggi ataupun pencemaran dari bahan kimia beracun seperti logam berat Cd, Pb, As, Cu dll.

4.1.1 Deskripsi Stasiun Pengamatan

a. Muara Sungai Mas (Tanjung Perak)

Stasiun pertama terletak di muara Sungai Mas Surabaya yang juga termasuk salah satu pelabuhan kapal antar pulau yang ada di Indonesia yaitu Tanjung Perak. Pelabuhan Tanjung Perak Surabaya mempunyai letak geografis yang berada di Selat Madura sebelah utara Kota Surabaya, tepatnya pada posisi 112.0 32'22" BT dan 07.0 11'54" LS (PT. Pelabuhan Indonesia). Jika dilihat dari lokasi sekitar muara yang merupakan pelabuhan antar pulau diseluruh Indonesia, muara ini sama sekali tidak ada pohon-pohon yang mengelilingi ataupun tumbuh di sekitar muaranya. Sekitar muara didominasi oleh beton-beton penyangga dermaga tempat kapal berlabuh ataupun tempat kapal bersandar. Sebelah kiri muara dari arah laut terdapat bengkel kapal. Bengkel kapal ini merupakan tempat dimana kapal-kapal yang mengalami kerusakan dapat diperbaiki.

Muara Sungai Mas merupakan salah satu muara dari Sungai Brantas yang mengalir ke Sungai Surabaya kemudian menuju Sungai Mas dan bermuara di Tanjung Perak Surabaya. Aliran sungai yang menuju muara di Pelabuhan Tanjung Perak ini melewati beberapa pabrik seperti pabrik gula, pabrik kertas dan aktivitas lain seperti aktivitas kota, perumahan (domestik), bahkan pertanian. Semua kegiatan ini diduga menghasilkan limbah yang dibuang ke perairan tanpa melewati proses IPAL (Instalasi Pengolahan Air Limbah) dengan sempurna. Pelabuhan tersebut juga mempunyai dampak terhadap perairan muara seperti limbah solar yang digunakan sebagai bahan bakar kapal untuk berlayar. Kapal disini berfungsi sebagai alat transportasi sebagai angkutan jalur laut yang menghubungkan pulau satu ke pulau yang lain yang ada di Indonesia selain itu juga sebagai transportasi pengangkut barang antar pulau. Lokasi pengambilan sampel ikan di muara Sungai Mas dapat dilihat pada Gambar 8.



Gamba 8. Lokasi pengambilan sampel di muara Sungai Mas (Pelabuhan Tanjung Perak) Surabaya.

Limbah yang mengalir ke sungai akan dapat mempengaruhi kualitas air di sungai sampai menuju muara baik secara langsung maupun tidak langsung. Hermana (2006), menyatakan bahwa sebanyak 125 ton limbah industri mencemari Daerah Aliran Sungai (DAS) brantas dalam sehari. Data dari Dinas Perindustrian dan Perdagangan (Deprindag) tahun 2004 mencatat di Jatim ada 653.859 industri dengan menyumbang pendapatan 26 persen bagi APBD. Hermana (2006), kembali menyatakan dari ratusan ribu industri itu memang hanya ada 14.602 atau 2,23 % untuk industri besar, tapi jumlah 2,23 % itu justru menyumbang hampir 90 % kadar pencemaran, kendati mayoritas masih di bawah ambang batas baku mutu (BOD/COD). Jumlah industri yang mengalir DAS Brantas-pun hanya 1.054 pabrik yang 40 persen diantaranya berpotensi mencemari DAS Brantas dengan limbah sebanyak 125 ton/hari. Adanya informasi dari data tersebut tentunya dapat diduga dampaknya terhadap organisme yang hidup di perairan sungai sampai menuju muara.

b. Muara Sungai Wonokromo

Stasiun yang kedua adalah muara sungai Wonokromo atau biasa disebut juga dengan Kali Wonokromo atau Jagir. Muara ini terletak di daerah Surabaya timur. Lokasinya tepat berada di daerah wisata mangrove Wonorejo Surabaya.

Kanan dan kiri dari sungai menuju muara banyak terdapat tumbuhan mangrove yang ketebalannya sekitar ± 1 m dan juga banyak ditumbuhi oleh semak-semak rumput besar seperti tumbuhan ilalang. Tempat pengambilan sampel juga terdapat warung-warung penjual makanan, mushola, toilet dan tambak tradisional warga yang berada dihampir sepanjang muara. Lokasi pengambilan sampel ikan di muara Sungai Wonokromo dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Lokasi pengambilan sampel di muara Sungai Wonokromo (Kawasan Wisata Mangrove Wonorejo).

Muara Sungai Wonokromo adalah salah satu muara dari Sungai Surabaya yang berpecah menjadi dua yaitu Sungai Mas dan Sungai Wonokromo/Jagir. Alirannya berasal dari Sungai Brantas yang mengalir menuju Sungai Surabaya yang kemudian mengalir menuju Sungai Mas bermuara di Tanjung Perak dan Sungai Wonokromo bermuara di daerah wisata mangrove Wonorejo yang berada di daerah Pantai Timur Surabaya (Pamurbaya). Sungai ini terbelah menjadi dua arah saat di pintu air Jagir/Ngagel. Muara Sungai Wonokromo melewati tengah pusat kegiatan kota, dengan pengaruh limbah yang dibawa dari aliran Sungai Brantas dan dari pintu air Jagir mendapat pengaruh seperti limbah rumah tangga dan kegiatan kendaraan bermotor karena melewati pusat kota. Pintu air Jagir/Ngagel biasa disebut juga dengan DAM Jagir yaitu tempat untuk mengatur volume air masuk dan keluar dari DAM pintu air, lokasi ini terletak disebelah stasiun kereta api Wonokromo dan PDAM Kota Surabaya.

Air yang berasal dari Kali Jagir/Wonokromo ini juga diolah menjadi air PAM dan digunakan untuk kebutuhan sehari-hari warga Kota Surabaya. Sungai Wonokromo mendapat pengaruh dari beberapa aktivitas manusia antara lain industri, rumah tangga (domestik), kegiatan pertanian ataupun pengaruh dari banyaknya aktivitas kendaraan bermotor. Semua kegiatan tersebut akan berdampak terhadap kualitas air sungai yang menuju muara, terlebih dengan adanya penebangan pohon mangrove berakar kuat di daerah wisata yang dapat menyebabkan terganggunya ekosistem dan berkurangnya penyerapan logam-logam berat yang terkandung dalam air dan sedimen di muara serta berkurangnya tempat berlindung ikan.

c. Muara Sungai Porong

Stasiun ketiga merupakan muara Sungai Porong atau biasa disebut juga dengan muara Kali Porong. Muara Sungai Porong terletak di daerah Pasuruan Selatan Kota Sidoarjo. Wibowo (2012), menyatakan muara Sungai Porong terletak di Kecamatan Jabon, Kabupaten Sidoarjo, Jawa Timur. Secara geografis, Sungai Porong terletak antara 112,5° BT dan 7,3° LS–7,5° LS, sungai ini juga merupakan batas Kabupaten Sidoarjo dan Kabupaten Pasuruan (Hartanto, 2011). Sungai Porong berasal dari aliran Sungai Brantas yang mengalir ke arah timur bermuara di Selat Madura. Percabangannya dimulai dari Sungai Brantas ke arah timur dibendung oleh bendungan Lengkong Baru dan yang ke arah utara menuju Sungai Surabaya dibendung oleh pintu air Mlirip. Aliran sungai dari bendungan Lengkong Baru mengalir menuju hilir ke Selat Madura dengan melewati berbagai macam dari aktivitas manusia. Aktivitas tersebut seperti kegiatan rumah tangga (limbah domestik), pertanian, tambak dan perindustrian. Lebar sungai sekitar ± 100 m dan di tepi-tepi sungai hampir

menuju muara terdapat sedikit tumbuhan mangrove dan semak rumput. Lokasi pengambilan sampel di muara Sungai Porong dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Lokasi pengambilan sampel di muara Sungai Porong (Pasuruan).

Muara Sungai Porong merupakan muara dari Sungai Porong, di muara ini banyak terdapat endapan lumpur/sedimen yang diperkirakan berasal/terpengaruh oleh adanya aliran lumpur lapindo yang dibuang menuju laut melewati aliran Sungai Porong. Luapan lumpur lapindo yang dialirkan ke sungai dimungkinkan akan berpotensi merusak ekosistem sungai yang ada disepanjang aliran sungai menuju muara. Lumpur lapindo setiap harinya meluapkan $\pm 150.000 \text{ m}^3$, hingga menyebabkan tertutupnya tak kurang dari 10 pabrik dan 80 ha sawah serta permukiman penduduk (Andriani, 2011).

4.1.2 Deskripsi Ikan keting (*Mystus nigriceps*)

Ikan keting merupakan ikan yang banyak ditemukan di perairan Asia Selatan dan Asia Tenggara. Seputarika (2014), menyatakan ikan keting di alam liar banyak ditemukan di Kamboja, Indonesia, Laos, Malaysia, Singapura dan Thailand. Di Indonesia, nama ikan keting juga biasa disebut dengan nama ikan lundu. Ikan ini termasuk dalam famili/suku Bagridae dengan ordo/bangsa Siluriformes. Ikan keting juga memiliki banyak nama lokal antara lain ririgi, kebere, menyengat, tedong, katingan, ndaringan, dan senggiringan. Ikan keting memiliki ciri khusus yaitu memiliki patil atau sengatan pada pangkal sirip

dorsalnya, memiliki dua buah kumis tipis, kulit yang halus tidak bersisik dan licin serta ekornya bercabang dua dengan lekukan tajam antara lembar dorsal dengan lembar ventral atau bisa disebut becagak. Berikut adalah klasifikasi Ikan keting menurut Valenciennes (1840) dalam Ferraris (2007):

Kerajaan : Animalia
Filum : Chordata
Kelas : Actinopterygii
Ordo : Siluriformes
Famili : Bagridae
Genus : *Mystus*
Spesies : *Mystus nigriceps*

Valenciennes (1840) dalam Ferraris (2007), menyatakan bahwa ikan keting yang hidup di Pulau Jawa dan Sumatra bagian selatan adalah ikan keting dengan nama latin *Mystus nigriceps*. Kelimpahan ikan pada masing-masing muara sangat bervariasi. Namun, belum ada informasi yang cukup jelas mengenai kelimpahan Ikan keting pada masing-masing muara pengambilan sampel. Berdasarkan informasi saat pengambilan sampel pada masing-masing muara, hasil wawancara dengan pencari ikan yang lain, di muara Sungai Mas banyak terdapat ikan keting.

Biasanya, di muara ini pemancing menggunakan waktu malam hari untuk mencari udang galah, ataupun ikan kakap, namun yang tertangkap sering kali mendapat ikan keting dan ikan keting tidak digemari oleh pencari ikan sehingga saat Ikan keting tertangkap, maka ikan tersebut akan kembali dilepas ke muara. Berikut ini adalah gambar ikan keting di 3 muara pengambilan sampel yaitu muara Sungai Mas, muara Sungai Wonokromo, muara Sungai Porong yang ditunjukkan pada Gambar 11.



Gambar 11. Sampel ikan keting pada muara tempat pengambilan sampel ikan.

Kelimpahan Ikan keting di muara Sungai Wonokromo, saat pengambilan sampel ikan di muara Sungai Wonokromo cukup susah jika dibandingkan dengan stasiun pengambilan sampel yang lain. Biasanya, pencari ikan yang menggunakan pancing bertujuan mencari udang galah, namun seringkali yang didapat adalah Ikan keting dan ikan yang ditemukan di muara Sungai Wonokromo ini seperti Ikan keting, ikan belanak dan udang galah. Sama halnya dengan muara Sungai Porong, di muara Sungai Porong, orang biasa mencari udang galah, namun yang tertangkap juga Ikan keting, sehingga ikan tersebut kembali dilepaskan ke sungai. Ikan yang hidup di muara Sungai Porong seperti ikan sembilang, ikan gabus, ikan belanak dan ikan keting.

4.2 Analisis kualitas air

Hasil pengukuran kualitas air yang dapat dilihat pada Tabel 8 berikut yang menunjukkan hasil pengukuran dari 4 muara pengambilan sampel.

Tabel 8. Hasil pengukuran kualitas air di muara Sungai Mas, muara Sungai Porong dan muara Sungai Wonokromo.

Stasiun	Kualitas Air							
	pH	Suhu (°C)	DO (mg/l)	Salinitas (ppt)	BOD (mg/l)	COD (mg/l)	TOM (mg/l)	TSS (mg/l)
Mas	8	29,5	3,5	27	28,4	532,8	94,8	3,36
Wonokromo	7	27,5	3,8	4	25,1	20,8	74,58	0,132
Porong	7	28,5	2,5	4,5	25,8	68,8	87,22	0,316

Pengukuran kualitas air merupakan faktor abiotik dalam penelitian ini yang dilakukan pada 4 muara yang ada di Jawa Timur yaitu muara Sungai Mas, muara Sungai Porong dan muara Sungai Wonokromo.

4.2.1 Muara Sungai Mas (Tanjung Perak Surabaya)

Hasil pengukuran kualitas air pada muara Sungai Mas dapat di lihat pada Tabel 8. Hasil Tabel 3 menunjukkan nilai pH 8, hal ini menunjukkan pH yang cukup netral cenderung ke basa. (Bagusm, 2011), menyatakan Ikan Baung hidup di perairan tawar dan payau dengan kisaran pH 7–8,2. Barus (2002), juga memaparkan nilai pH yang ideal bagi kehidupan organisme air pada umumnya terdapat antara 7–8,5. Hasil pengukuran suhu adalah 29,5 °C, hal ini menunjukkan nilai suhu yang relatif normal untuk daerah tropis. Namun, untuk ikan seperti ikan baung kisaran suhu sekitar 22–25 °C (Angga, 2010).

Hasil pengukuran DO di muara Sungai Mas adalah 3,5 (mg/l), hal ini menunjukkan kadar DO yang kritis di perairan, sesuai dengan pernyataan Schmitz (1971) dalam Mulyanto (1995), menyatakan berdasarkan kandungan oksigen terlarut kualitas air perairan dapat digolongkan menjadi sangat baik dengan oksigen terlarut 8 mg/l, baik 6 mg/l, kritis 4 mg/l, buruk 2 mg/l dan sangat buruk < 2mg/l. Keadaan ini diperkuat oleh pendapat Aziz (2009), bahwa kenaikan suhu sangat berhubungan dengan proses metabolisme dalam tubuh organisme yang meningkat sehingga menyebabkan penggunaan oksigen juga akan meningkat. Artinya, jika penggunaan oksigen meningkat akibat proses

metabolisme tubuh yang meningkat maka kadar oksigen bebasnya akan menurun dan menyebabkan kadar DO yang rendah. Wirosarjono (1974) dalam Salmin (2005), tingkat pencemaran berdasarkan nilai DO-nya rendah (> 5 mg/l), sedang (0–5 mg/l) dan tinggi (0 mg/l).

Hasil pengukuran salinitas di muara Sungai Mas adalah 27 (ppt), hal ini menunjukkan hasil yang masih dalam kisaran normal walaupun nilai ini merupakan nilai yang paling tinggi dibandingkan dengan muara pengambilan sampel lain. Menurut Nybakken (1992), kisaran air laut adalah 30–35 ppt, estuari 5–35 ppt dan air tawar 0,5–5 ppt. Hasil pengukuran BOD sebesar 28,4 mg/l, hal ini menunjukkan hasil yang lebih tinggi dari nilai normal. Suherman *et al.*, (2002), nilai BOD yang baik untuk perairan adalah tidak boleh lebih dari 20 mg/l. Hasil ini menunjukkan nilai yang sudah melebihi dari kisaran yang baik bagi organisme perairan. Tingginya kandungan BOD pada muara Sungai Mas dapat disebabkan banyaknya kandungan bahan organik di perairan tersebut yang tidak terurai. Keadaan ini dapat dikarenakan muara Sungai Mas yang juga merupakan pelabuhan kapal untuk transportasi laut dan bengkel kapal, jadi di muara ini banyak terdapat kapal laut bersandar dan kapal yang sedang diperbaiki, sehingga dapat mempengaruhi endapan yang ada di bawah kapal akan teraduk akibat adanya aktivitas kapal di muara Tanjung Perak. Selain itu, dapat juga disebabkan karena aliran sungai menuju muara yang banyak membawa lumpur dan bahan-bahan organik yang berasal dari limbah rumah tangga, industri, maupun pertanian yang dilewati oleh aliran Sungai Mas sampai menuju muara.

Hasil pengukuran COD adalah sebesar 532,8 mg/l, hal ini menunjukkan bahwa nilai COD cukup tinggi. Fajri dan Karsy (2013), menyatakan nilai COD pada perairan yang tercemar lebih dari 200 mg/l dan pada limbah industri dapat mencapai 600.000 mg/l. Tingginya COD di Sungai Mas dapat disebabkan

banyaknya bahan organik dan anorganik di perairan yang masih belum bisa terurai. Keadaan ini dapat disebabkan organisme pengurai yang sedikit yang bisa juga disebabkan oleh DO yang rendah sehingga proses metabolisme organisme pengurai yang lambat. Menurut Hutagalung *et al.*, dalam Agustiadi (2002), COD merupakan kebutuhan oksigen secara kimiawi atau banyaknya oksigen yang dibutuhkan untuk mengoksidasi seluruh bahan organik dan anorganik baik yang mudah diuraikan maupun yang sulit diuraikan secara kimiawi. Kemudian, Agustiadi (2000), juga menjelaskan bahwa nilai kebutuhan oksigen kimiawi perlu diketahui dalam pendugaan pencemaran di perairan. Armita (2011), menyatakan nilai COD pada perairan yang tidak tercemar biasanya < 20 mg/l dan perairan yang tercemar dapat lebih dari 200 mg/l.

Hasil pengukuran TOM di muara Sungai Mas adalah 94,8 mg/l, hal ini menunjukkan hasil yang cukup tinggi, jika dibandingkan dengan pendapat Afu (2005) dalam Sembiring *et al.*, (2012), yang menyatakan nilai konsentrasi TOM yang aman adalah ≤ 30 mg/l. Keberadaan TOM adalah total bahan organik yang ada di perairan yang dapat dipengaruhi oleh adanya arus, dapat pula terjadi akibat adanya pasang surut yang dapat membilas keberadaan dari TOM dengan adanya proses keluarnya air dari muara menu laut (Sembiring, 2012). Selain itu, keberadaan bahan organik dapat juga dipengaruhi lokasi muara sungai yang alirannya membawa segala macam zat yang dapat berasal dari industri ataupun segala aktivitas manusia yang berada di sepanjang aliran sungai menuju muara.

Hasil pengukuran TSS di muara Sungai Mas adalah 3,36 mg/l, hal ini menunjukkan hasil yang relatif normal. Kadar TSS yang berpengaruh terhadap organisme di perairan yang menunjukkan kadar yang kurang dari 25 mg/l yang berarti tidak berpengaruh terhadap kepentingan perikanan. Tabel 9 berikut akan menunjukkan kesesuaian nilai TSS untuk kepentingan perikanan.

Tabel 9. Kesesuaian perairan untuk kepentingan perikanan berdasarkan nilai padatan tersuspensi (TSS).

Nilai TSS (mg/l)	Pengaruh Terhadap Kepentingan Perikanan
< 25	Tidak berpengaruh
25–80	Sedikit berpengaruh
81–400	Kurang baik
> 400	Tidak baik

Sumber: Alabaster dan Lloyd (1982) *dalam* Aisyah dan Luki (2012).

4.2.2 Muara Sungai Wonokromo

Berdasarkan pengukuran kualitas air di muara Sungai Wonokromo, hasil pengukuran pH sebesar 7. Hasil tersebut dapat diartikan nilai pH yang netral, Barus (2002), memaparkan nilai pH yang ideal bagi kehidupan organisme air pada umumnya terdapat antara 7–8,5. Kondisi perairan yang bersifat sangat asam maupun sangat basa akan membahayakan kelangsungan hidup organisme karena akan menyebabkan terjadinya gangguan metabolisme dan respirasi. Hasil pengukuran suhu di muara Sungai Wonokromo sebesar 27,5 °C, hal ini menunjukkan nilai yang lebih dari kisaran normal ikan seperti ikan baung Angga (2010), menyatakan untuk ikan seperti ikan baung kisaran suhu sekitar 22–25 °C.

Hasil pengukuran DO di muara Sungai Wonokromo ini sebesar 3,8 mg/l. Nilai ini menunjukkan kandungan DO di muara Sungai Wonokromo masih dalam kisaran normal. Sinurat (2009), menyatakan kandungan oksigen terlarut minimum 2 mg/l, sudah cukup mendukung kehidupan organisme perairan secara normal. Namun, Schmitz (1971) *dalam* Mulyanto (1995), menyatakan berdasarkan kandungan oksigen terlarut kualitas air perairan dapat digolongkan menjadi sangat baik dengan oksigen terlarut 8 mg/l, baik 6 mg/l, kritis 4 mg/l, buruk 2 mg/l dan sangat buruk < 2 mg/l. Hasil pengukuran salinitas di muara Sungai Wonokromo sebesar 4 ppt, hal ini menunjukkan hasil yang cukup normal, Wesen dan Apriani (2012), menyatakan air payau adalah air yang salinitasnya lebih rendah daripada salinitas rata-rata air laut normal (< 35 ppt) dan lebih tinggi

dari pada 0,5 ppt yang terjadi karena pencampuran antara air laut dengan air dengan air tawar baik secara alamiah maupun buatan. Menurut Kinne (1964) dalam Aziz (1994) batas pergoyangan air payau ini berkisar 0,5 ppt–30 ppt.

Hasil pengukuran BOD di muara Sungai Wonokromo sebesar 25,1 mg/l, hasil ini lebih rendah jika dibandingkan dengan muara Sungai Mas. Keadaan ini dapat disebabkan kadar BOD di perairan muara Sungai Wonokromo ini sudah banyak terurai, hal ini dapat terjadi karena didukung oleh metabolisme organisme pengurai di perairan muara Sungai Wonokromo yang berjalan dengan lancar. Didukung juga oleh nilai DO di muara ini juga lebih tinggi jika dibandingkan dengan muara Sungai Mas. Walaupun demikian, hasil ini tetap sudah melebihi kadar batas BOD yang baik bagi kehidupan organisme perairan yang berkisar < 2 mg/l (PPRI No. 82/2001 dan Keputusan Menteri Lingkungan Hidup No. 115/2003). Wirosarjono (1974) dalam Salmin (2005), menyatakan tingkat pencemaran berdasarkan nilai BOD kisarannya rendah (0–10 mg/l), sedang 10–20 mg/l) dan tinggi (25 mg/l).

Hasil pengukuran COD di muara Sungai Wonokromo sebesar 20,8 mg/l, hal ini menunjukkan bahwa jika dilihat dari nilai COD masih dalam kisaran normal hanya sekitar 20,8 mg/l. Fajri dan Kasry (2013), menuturkan bahwa nilai COD perairan yang tidak tercemar biasanya kurang dari 20 mg/l. Artinya, bahan-bahan organik dan anorganik di muara Sungai Wonokromo ini sudah cukup bisa diuraikan oleh organisme pengurai.

Hasil pengukuran TOM di muara Sungai Wonokromo sebesar 74,58 mg/l, hasil ini lebih rendah jika dibandingkan dengan muara sebelumnya yaitu muara Sungai Mas sebesar 94,8 mg/l, namun nilai ini sudah melebihi kisaran aman untuk perairan, jika dibandingkan dengan pendapat Afu (2005) dalam Sembiring *et al.*, (2012), menyatakan nilai konsentrasi TOM yang aman adalah ≤ 30 mg/l.

Keberadaan TOM adalah total bahan organik yang ada di perairan yang dapat dipengaruhi oleh adanya arus, dapat pula terjadi akibat adanya pasang surut yang dapat membilas keberadaan dari TOM dengan adanya proses keluarnya air dari muara menu laut (Sembiring, 2012). Selain itu, keberadaan bahan organik dapat juga dipengaruhi lokasi muara sungai yang alirannya membawa segala macam zat yang dapat berasal dari industri ataupun segala aktivitas manusia yang berada di sepanjang aliran sungai menuju muara.

Hasil pengukuran TSS di muara Sungai Wonokromo sebesar 0,132 mg/l, yang menunjukkan hasil masih sangat normal dikarenakan masih jauh dari batas kisaran nilai TSS yang ditentukan menurut Alabaster dan Lloyd (1982) dalam Aisyah dan Luki (2012), yang dapat dilihat pada Tabel 8 menunjukkan, jika nilai TSS < 25 mg/l maka tidak berpengaruh terhadap kepentingan perikanan.

4.2.3 Muara Sungai Porong

Hasil pengukuran kualitas air di muara Sungai Porong dapat dilihat dalam Tabel 7. Dengan pembahasan, hasil pengukuran pH pada muara Sungai Porong adalah 7. Hasil tersebut merupakan nilai pH yang netral, Barus (2002), nilai pH yang ideal bagi kehidupan organisme air pada umumnya terdapat antara 7–8,5. Kondisi perairan yang bersifat sangat asam maupun sangat basa akan membahayakan kelangsungan hidup organisme karena akan menyebabkan terjadinya gangguan metabolisme dan respirasi. Hasil pengukuran suhu di muara Sungai Porong adalah 28,5 °C. Hasil ini menunjukkan nilai yang lebih dari kisaran normal ikan seperti ikan baung. Angga (2010), menyatakan, untuk ikan seperti ikan baung kisaran suhu sekitar 22–25 °C.

Hasil pengukuran DO di muara Sungai Porong adalah 2,5 mg/l yang menunjukkan kandungan DO di muara ini masih dalam kisaran minimum. Nilai di muara Sungai Porong merupakan nilai DO terendah jika dibandingkan dengan

stasiun pengambilan sampel yang lain. Sinurat (2009), menyatakan kandungan oksigen terlarut minimum 2 mg/l, sudah cukup mendukung kehidupan organisme perairan secara normal. Namun demikian, keadaan DO yang rendah dapat terpengaruh oleh adanya pasang surut. Air di muara mengalami surut maka pasokan air dari darat menuju laut akan sangat mempengaruhi nilai DO karena pada umumnya air yang berasal dari daratan (sungai) yang mengalir ke arah laut itu keruh sehingga proses fotosintesis terhambat dan menyebabkan kadar DO menurun (rendah) (Atmaja, 1999). Wirosarjono (1974) dalam Salmin (2005), tingkat pencemaran berdasarkan nilai DO-nya adalah rendah (> 5 mg/l), sedang (0–5 mg/l) dan tinggi (0 mg/l).

Hasil pengukuran salinitas di muara Sungai Porong adalah 4,5 ppt. Hasil tersebut menunjukkan kadar yang rendah untuk perairan muara namun tetap dalam kisaran yang normal. Kadar salinitas di muara dapat dipengaruhi oleh masukan air tawar dan air laut ke muara saat proses pasang surut berlangsung seperti pernyataan (Nybakken, 2000 dalam Armita, 2011), bahwa nilai salinitas sangat dipengaruhi oleh suplai air tawar ke air laut, curah hujan, musim, topografi, pasang surut dan evaporasi. Klasifikasi air berdasarkan nilai salinitasnya yaitu Limnis (air tawar) $< 0,5$ ppt, mixohalin (payau) 0,5–30 ppt, eulhalin (air laut) 30–40 ppt, hypersalin > 40 ppt (Shecclepes, 1958 dalam Barus, 2002).

Hasil pengukuran BOD di muara Sungai Porong adalah 25,8 mg/l. Hasil ini tidak berbeda jauh dengan hasil muara Sungai Wonokromo hanya berselisih sekitar 0,7 mg/l yang menunjukkan hasil sedikit lebih tinggi. Keadaan ini dapat disebabkan kadar BOD di perairan muara Sungai Porong juga sudah cukup bisa diuraikan oleh organisme pengurai. Meskipun demikian, hasil ini juga tetap sudah melebihi ambang batas yang ditentukan oleh PPRI No. 82 (2001) dan Keputusan

Menteri Lingkungan Hidup No. 115 (2003), yang bahwa kadar batas BOD yang baik bagi kehidupan organisme perairan yang berkisar < 2 mg/l. Wirosarjono (1974) dalam Salmin (2005), menyatakan tingkat pencemaran berdasarkan nilai BOD yaitu dikatakan rendah (0–10 mg/l), sedang (10–20 mg/l) dan tinggi (25 mg/l).

Hasil pengukuran COD di muara Sungai Porong adalah 68,8 mg/l, hal ini menunjukkan hasil yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan hasil muara Sungai Wonokromo namun jauh lebih rendah jika dibandingkan dengan muara Sungai Mas. Walaupun demikian, dengan hasil ini bukan menutup kemungkinan bahwa muara Sungai Porong tidak tercemar. Keadaan ini terjadi dapat dikarenakan muara Sungai Porong mempunyai sisi kanan dan kiri yang ditumbuhi tumbuhan mangrove walaupun ketebalannya hanya berkisar ± 1 m. Sehingga suspensi terlarut dalam perairan dapat disaring oleh tumbuhan sekitar, yang selanjutnya akan berpengaruh terhadap metabolisme organisme pengurai di perairan yang berjalan cukup lancar.

Hasil pengukuran TOM di muara Sungai Porong adalah 87,22 mg/l, hal ini menunjukkan hasil yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan muara Sungai Wonokromo dan lebih rendah jika dibandingkan dengan muara Sungai Mas. Namun, tetap saja sudah melebihi batas aman seperti penuturan Afu (2005) dalam Sembiring *et al.*, (2012), yang menyatakan nilai konsentrasi TOM yang aman adalah ≤ 30 mg/l. Keberadaan TOM adalah total bahan organik yang ada di perairan yang dapat dipengaruhi oleh adanya arus, dapat pula terjadi akibat adanya pasang surut yang dapat membilas keberadaan dari TOM dengan adanya proses keluarnya air dari muara menu laut (Sembiring, 2012). Selain itu, keberadaan bahan organik dapat juga dipengaruhi lokasi muara sungai yang alirannya membawa segala macam zat yang dapat berasal dari industri ataupun

segala aktivitas manusia yang berada di sepanjang aliran sungai menuju muara. Hasil pengukuran TSS di muara Sungai Porong adalah 0,316 mg/l, hal ini menunjukkan hasil yang masih normal sesuai pernyataan Alabaster dan Lloyd (1982) dalam Aisyah dan Luki (2012), yang menyatakan kisaran TSS < 25 mg/l tidak berpengaruh terhadap kepentingan perikanan.

4.3 Ekspresi HSP70 pada jaringan organ Ikan keting (*Mystus nigriceps*).

Ekosistem dari suatu lingkungan hidup, dimana keadaan lingkungannya akan sangat mempengaruhi terhadap kehidupan organisme yang hidup di dalamnya. Begitu juga dengan keadaan kualitas air dan organisme yang hidup dalam perairan tersebut. Keadaan ini juga akan sangat dipengaruhi oleh aktivitas manusia sekitar maupun yang berada di sepanjang aliran sungai menuju muara. Segala aktivitas manusia tersebut akan menghasilkan limbah yang juga akan mempengaruhi kualitas air sekitar. Apalagi jika ada suatu pabrik yang proses IPAL (Instalasi Pengolahan Air Limbah) belum sempurna yang kemudian langsung dibuang ke perairan umum seperti sungai.

Sungai merupakan perairan terbuka yang dapat diakses oleh siapa saja. Berbagai macam jenis air limbah dapat di buang dan/atau dialirkan lewat sungai. Sehingga dengan keberadaan berbagai macam limbah dan zat sisa yang dibuang dan/atau dialirkan lewat sungai akan mempengaruhi kehidupan organisme yang hidup didalamnya salah satunya adalah ikan. Ikan dapat merespon keberadaan dari suatu bahan pencemar dalam perairan. Tidak semua ikan dapat bertahan dengan keberadaan limbah tersebut namun ada juga yang tetap hidup dan menyesuaikan diri dengan lingkungannya yang mulai tercemar.

Organisme yang bertahan dengan kondisi lingkungan yang lambat laun mulai tercemar, proses metabolisme dalam tubuhnya akan terganggu. Kondisi ini akan memicu HSP70 dalam tubuh ikan akan lebih terekspresi. Kondisi

lingkungan yang tidak sesuai dan menyebabkan ikan tertekan sehingga akan mengeluarkan protein HSP yang berfungsi sebagai penyeimbang dalam sel, keadaan ini biasa disebut dengan homeostatis. Ketika stress datang, maka HSP akan terekspresi dan secara umum HSP dapat dijadikan sebagai indikator pencemaran. Disaat suatu lingkungan banyak pencemaran maka HSP juga akan banyak terekspresi.

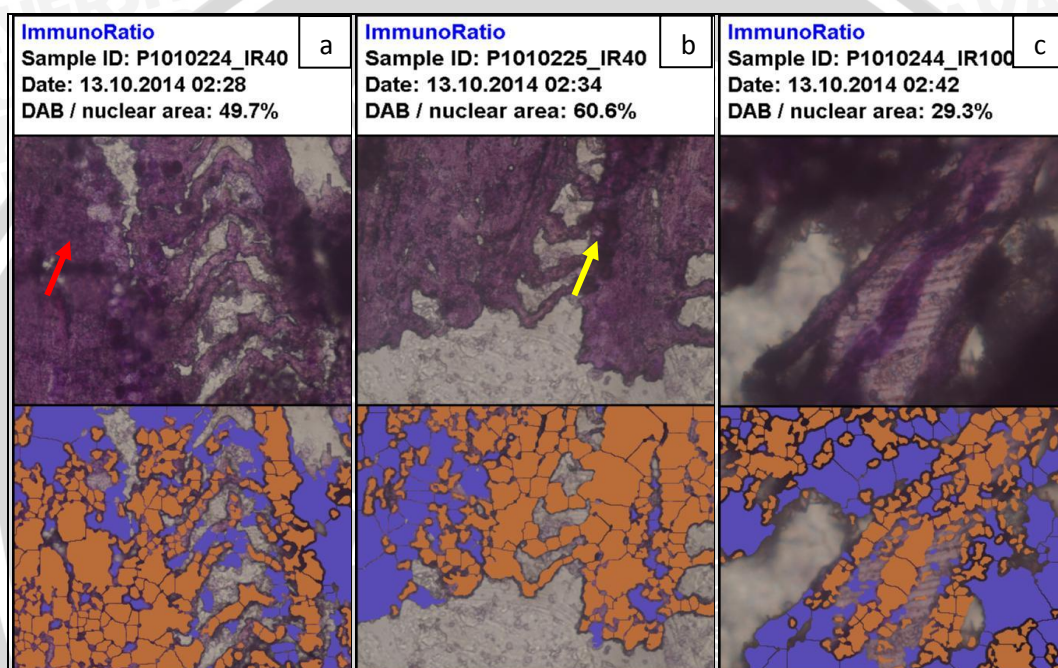
Immunohistochemistry (IHC) adalah salah satu teknik untuk menentukan keberadaan antigen (protein target) di dalam suatu jaringan ataupun didalam sel makhluk hidup dengan menggunakan tahapan reaksi antigen-antibodi. Metode IHC/IHK (*immunohistochemistry/immunohistokimia*) digunakan dalam penelitian ini menggunakan reaksi dari dua antibodi yaitu antibodi sekunder dan antibodi primer. Immunohistokimia merupakan suatu metode yang digunakan untuk mendeteksi keberadaan protein dalam suatu sel/jaringan dengan menggunakan suatu prinsip dari antigen dan antibodi pada jaringan suatu makhluk hidup. Analisa hasil yang digunakan adalah IR (*immunoRatio*) (Ramadhani *et al.*, 2012), menyatakan IR digunakan secara bebas *online* maupun *offline* untuk menganalisis citra digital hasil pewarnaan IHC. Adanya bahan-bahan terlarut dalam air diperkirakan akan berpengaruh terhadap keadaan organ Ikan keting.

4.3.1 Ekspresi HSP70 pada jaringan organ ikan keting (*Mystus nigriceps*) di muara Sungai Mas (Pelabuhan Tanjung Perak Surabaya)

a. Insang

Insang termasuk organ eksternal pada ikan yang berfungsi sebagai organ pernafasan dengan menyaring oksigen dan mengeluarkan karbondioksida dalam air saat ikan bernafas. Insang merupakan organ pertama yang berhubungan langsung dengan bahan toksik di dalam perairan, dengan permukaan yang luas dan terbuka, maka mengakibatkan bagian ini menjadi sasaran utama bagi bahan

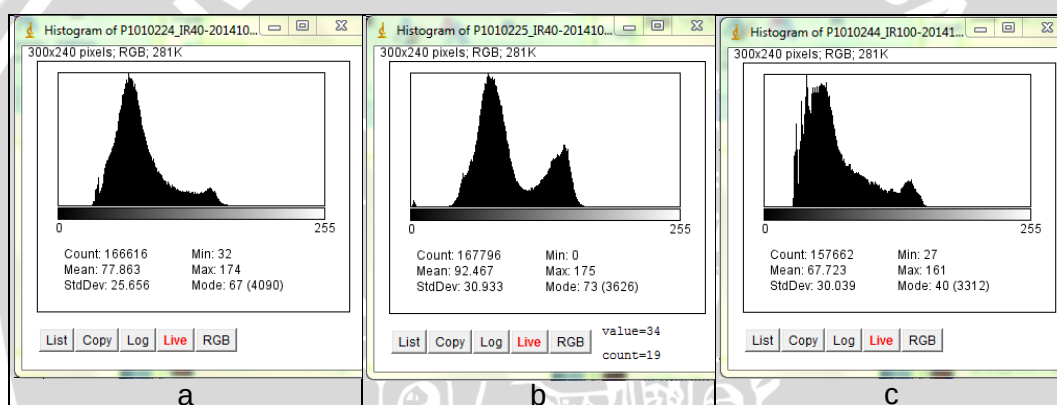
toksik yang ada di dalam perairan (Wong, 2000 dalam Widayati et al., 2010). Adanya bahan toksik dalam perairan diperkirakan akan dapat menimbulkan reaksi stress pada organ insang. Berikut hasil imunohistokimia dari organ insang Ikan keting yang berasal dari muara Sungai Mas (Pelabuhan Tanjung Perak) Surabaya dengan menggunakan *software online immunoRatio* yang dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Hasil pengamatan pada organ insang ikan keting di muara Sungai Mas dengan keterangan: (→) hyperplasia, (→) edema.

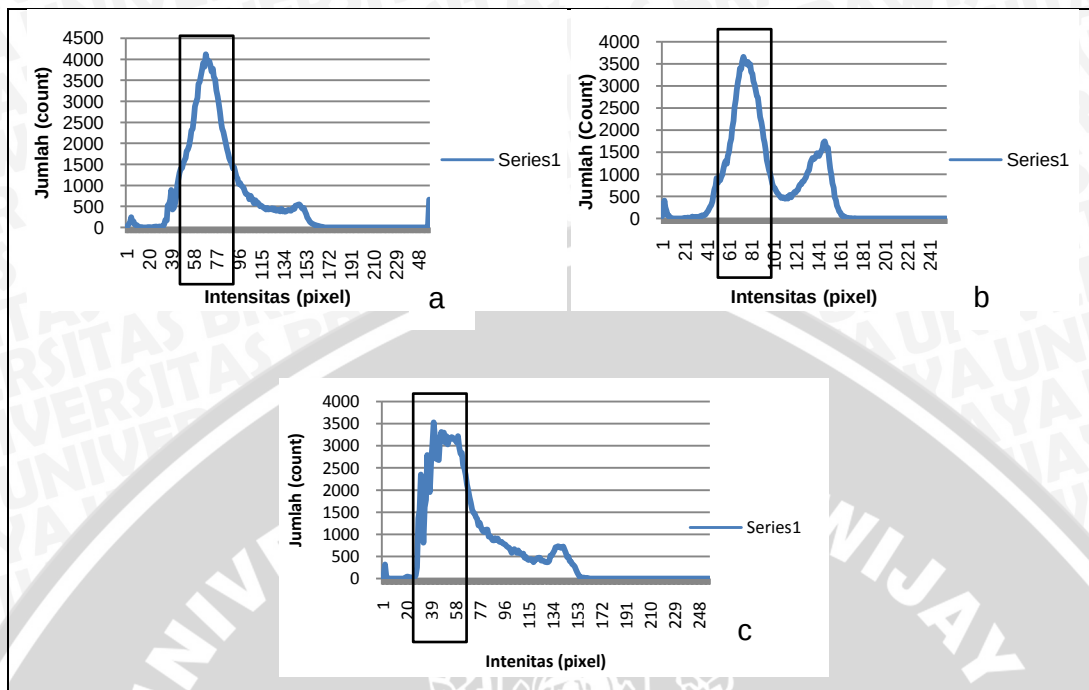
Gambar 12 menunjukkan hasil *ImmunoRatio* pada insang ikan keting di muara Sungai Mas, Tanjung Perak Surabaya dengan rata-rata persentase sebesar 46,54 %, yang didapatkan dari persentase Gambar 12a sebesar 49,7 %, persentase Gambar 12b sebesar 60,6 % dan persentase Gambar 12c sebesar 29,3 %. Pada gambar tersebut ditunjukkan adanya kerusakan jaringan dengan tipe kerusakan hiperplasia dan edema. Hiperplasia merupakan kerusakan yang muncul akibat adanya pembesaran atau pembengkakan jaringan yang terjadi secara tidak normal yang disebabkan penambahan sel yang dibentuk (Hariyanti dan Wiwik, 2009). Hiperplasia yang muncul pada insang dapat terjadi akibat

penyatuan lamela sekunder insang. Sudaryatma (2013), hiperplasia lamela insang merupakan salah satu pertahanan tubuh terhadap benda asing. Kerusakan kedua edema, edema merupakan pembengkakan sel yang terjadi adanya perubahan sistem permeabilitas membran ditingkat sel atau jaringan (Widayati *et al.*, (2010). Menurut Robbins dan Kumar (1995) dalam Widayati (2010), bahwa patologi edema terjadi sebagai bentuk adaptasi sel sebagai pertahanan hidup akibat pengaruh bahan toksik, seperti bahan kimia dan logam berat. Sedangkan untuk grafik histogram menggunakan software *offline imageJ* pada insang ikan keting di muara Sungai Mas dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 13. Histogram menggunakan software *imageJ* pada organ insang ikan keting di muara Sungai Mas

Gambar 13 adalah hasil *imageJ* dari organ insang ikan keting di muara Sungai Mas yang menunjukkan data secara kuantitatif melalui nilai mean yang muncul pada histogram. Gambar 13a menunjukkan nilai mean sebesar 77,863 dengan persentase DAB sebesar 49,7 %, gambar 13b menunjukkan mean sebesar 92,467 dengan persentase DAB sebesar 60,6 % dan gambar 13c menunjukkan mean sebesar 67,723 dengan persentase DAB sebesar 29,3 %. Berikut adalah gambar intensitas ekspresi HSP70 pada insang ikan keting di muara Sungai Mas menggunakan software *imageJ* jika disajikan dalam bentuk grafik, dapat dilihat pada Gambar 14.



Gambar 14. Keterikatan antigen-antibodi dengan intensitas ekspresi HSP70 yang muncul pada organ insang ikan keting di muara Sungai Mas.

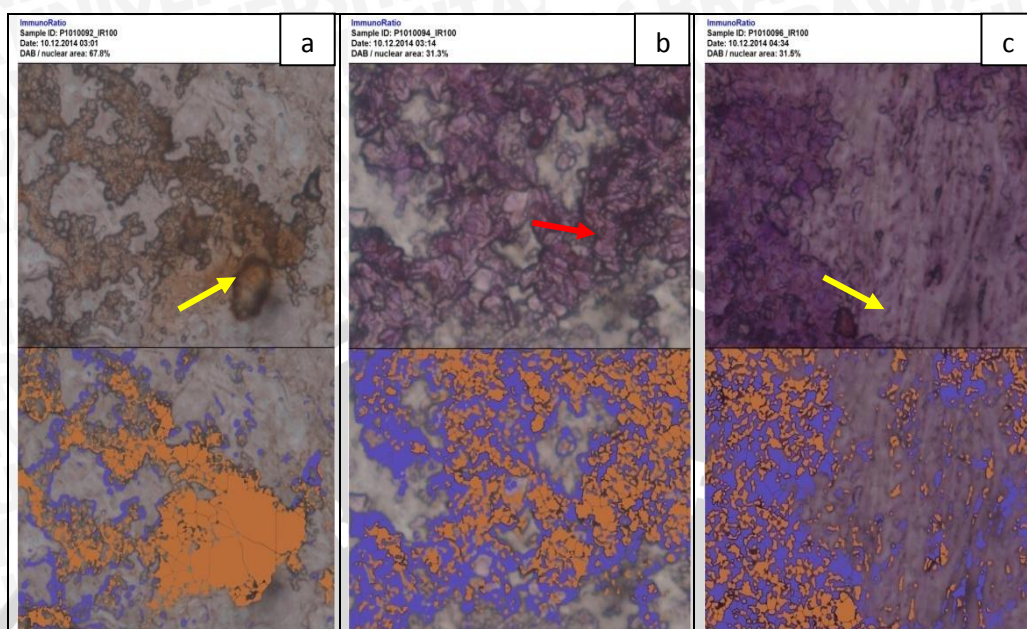
Gambar 14 menunjukkan keterikatan yang terjadi pada jaringan organ insang ikan keting di muara Sungai Mas yang menunjukkan intensitas HSP70 dari DAB yang muncul dan terjadinya ikatan antigen-antibodi. Gambar 14 a, b dan c merupakan tingkat stres tertinggi yang terekspresi dimana, Gambar 14a menunjukkan kisaran intensitas yang positif, Gambar 14b menunjukkan kisaran intensitas yang positif kuat dan Gambar 14c menunjukkan kisaran intensitas yang positif kuat. Sebagaimana dijelaskan oleh Varghese *et al.*, (2014), wilayah jaringan antara 0–60 merupakan positif kuat, kisaran intensitas untuk zona positif 61–120; 121–180 untuk zona positif lemah dan 181–235 untuk zona negatif sedangkan untuk zona 235–255 tidak terlabel dikarenakan biasanya pada zona tersebut merupakan jaringan lemak yang tidak dapat menunjukkan terjadinya tingkatan ekspresi tertinggi. Kemudian rata-rata persentase DAB yang muncul dari ketiga gambar tersebut adalah 46,54 %, menurut Varghese *et al.*, (2014), pola noda dikategorikan berdasarkan persentase sel yang ternoda yaitu > 75 %

seragam; 25–75 % sedang dan 0–25 % langka. Artinya, pada jaringan organ insang ikan keting di muara Sungai Mas positif terekspresi HSP70 dengan rata-rata sel terekspresi HSP70 adalah 43,54 %.

b. Jantung

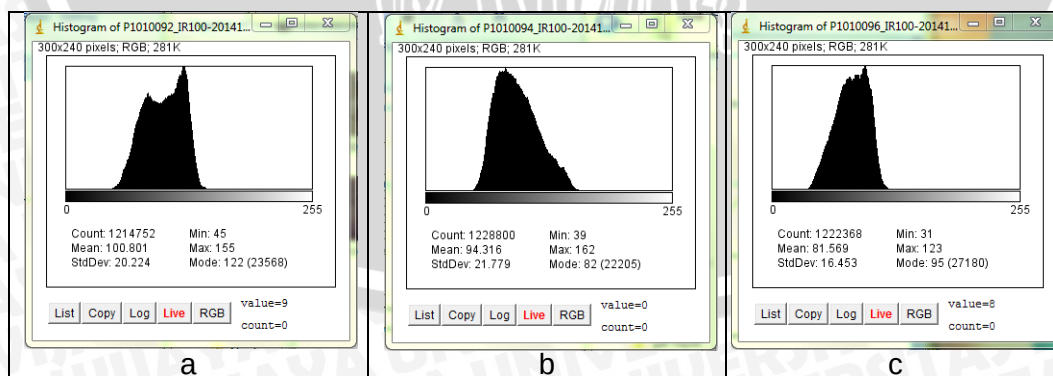
Jantung merupakan salah satu organ yang menerima dampak dari stress lingkungan. HSP70 dapat dijadikan sebagai indikator tingkat ke stresan pada ikan akibat pencemaran pada organ jantung. Karena, jantung termasuk organ internal pada ikan yang berfungsi sebagai pemompa darah keseluruh tubuh dalam proses metabolisme dalam tubuh ikan. Jantung ikan mempunyai 2 ruang yang meliputi 1 atrium (serambi) dan 1 ventrikel (bilik), dengan adanya rongga penghubung sinus venosus yang menerima darah mulai dari vena kardinalis anterior (muka) kemudian dialirkan ke atrium. Darah yang dialirkan melalui sinus venosus ini mengandung karbondioksida yang berasal dari seluruh tubuh. Jantung ikan letaknya ada dibawah faring dalam rongga parikambium ikan. Jantung merupakan tempat pemompa darah sekaligus penghisap darah dengan kata lain terminalnya darah maka jika ada kelainan dari lingkungan luar tubuh ikan diperkirakan akan dapat mempengaruhi kondisi pathologi dari jantung ikan sendiri.

Gambar 15 menunjukkan hasil *ImmunoRatio* pada organ jantung ikan keting di muara Sungai Mas, Tanjung Perak Surabaya dengan rata-rata persentase yang didapat dari ketiga gambar tersebut adalah sebesar 43,53 % yang didapatkan dari persentase Gambar 15a sebesar 57,8 %, persentase Gambar 15b sebesar 31,3 % dan persentase Gambar 15c sebesar 31,5 %. Gambar 15 adalah hasil immunohistokimia dari organ jantung ikan keting yang berasal dari muara Sungai Mas (Pelabuhan Tanjung Perak) Surabaya dengan menggunakan *software online immunoRatio* yang dapat dilihat pada gambar 15.



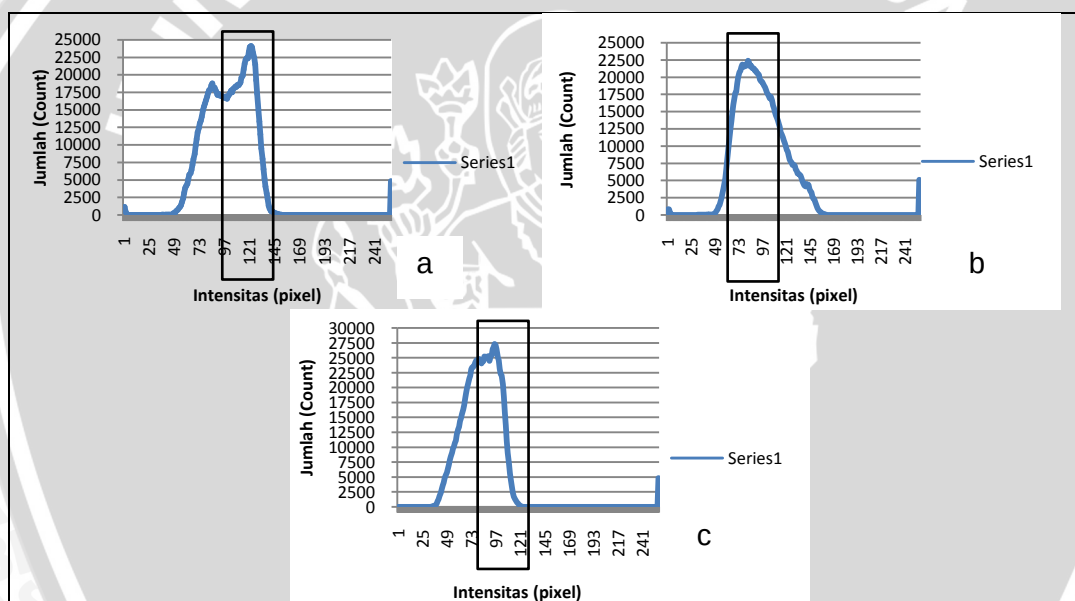
Gambar 15. Hasil pengamatan pada organ jantung ikan keting di muara Sungai Mas, dengan keterangan: (→) hiperplasia, (→) edema.

Persentase ini menunjukkan tinggi rendahnya stres lingkungan yang terekspresi pada organ jantung ikan di perairan muara Sungai Mas. Selain itu, stres juga ditunjukkan dengan adanya kerusakan jaringan pada organ jantung dengan tipe kerusakan hiperplasia atau pembengkakan jaringan dan kerusakan yang kedua yaitu edema. Sedangkan untuk grafik histogram menggunakan *software imageJ* pada jantung ikan keting di muara Sungai Mas dapat dilihat pada gambar 16.



Gambar 16. Histogram menggunakan *software imageJ* pada organ jantung ikan keting di muara Sungai Mas.

Gambar 16 adalah hasil *imageJ* dari jantung ikan keting di muara Sungai Mas. Hasil tersebut menunjukkan data secara kuantitatif dengan menggunakan histogram nilai mean yang muncul. Gambar a menunjukkan mean sebesar 100,801 dengan persentase DAB sebesar 67,8 %, gambar b menunjukkan mean sebesar 94,316 dengan persentase DAB sebesar 31,3 % dan gambar c menunjukkan mean sebesar 81,569 dengan persentase DAB sebesar 31,5 %. Model ekspresi HSP70 pada organ jantung ikan keting di muara Sungai Mas berdasarkan hasil DAB dari *software imageJ* apabila disajikan dalam bentuk grafik dapat dilihat pada Gambar 17.



Gambar 17. Keterikatan antigen-antibodi dengan intensitas ekspresi HSP70 pada organ jantung ikan keting di muara Sungai Mas.

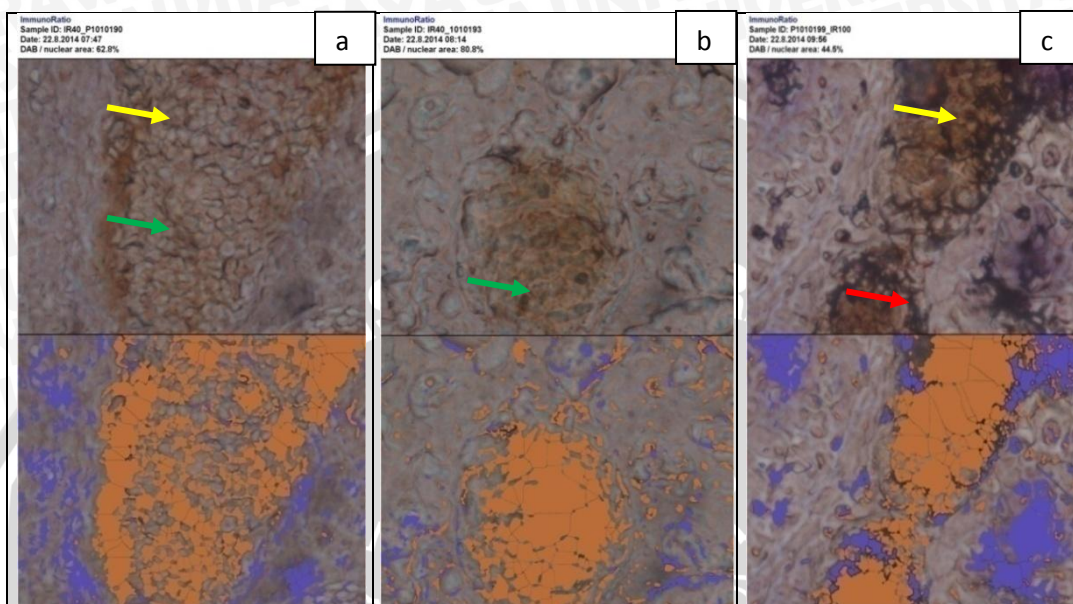
Gambar 17 menunjukkan keterikatan yang terjadi pada jaringan organ jantung ikan keting di muara Sungai Mas dengan menunjukkan intensitas DAB yang muncul dari terjadinya ikatan antigen-antibodi. Gambar a, b dan c pada Gambar 17 merupakan tingkat kesetresan tertinggi yang terekspresi dimana, Gambar 17a menunjukkan kisaran intensitas yang positif lemah, Gambar 17b menunjukkan kisaran intensitas yang positif dan Gambar 17c menunjukkan kisaran intensitas yang positif. Sebagaimana dijelaskan oleh Varghese *et al.*,

(2014), wilayah jaringan antara 0–60 merupakan positif kuat, kisaran intensitas untuk zona positif 61–120; 121–180 untuk zona positif lemah dan 181–235 untuk zona negatif sedangkan untuk zona 235–255 tidak terlabel dikarenakan biasanya pada zona tersebut merupakan jaringan lemak yang tidak dapat menunjukkan terjadinya tingkatan ekspresi tertinggi. Kemudian rata-rata persentase DAB yang muncul dari ketiga gambar tersebut adalah 46,54 %, Varghese *et al.*, (2014), kembali memaparkan bahwa pola noda dikategorikan berdasarkan persentase sel yang ternoda yaitu > 75 % seragam; 25–75 % sedang dan 0–25 % langka. Artinya, pada jaringan organ jantung ikan keting di muara Sungai Mas positif terekspresi HSP70 dengan rata-rata sel yang terekspresi HSP70 adalah 46,54 %.

c. Hati

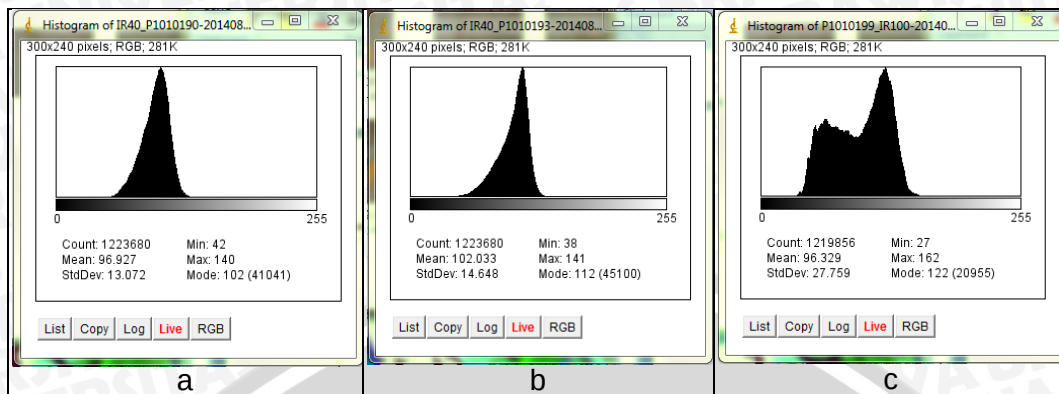
Hati merupakan organ internal yang berperan sebagai organ pencernaan pada ikan bersama dengan pankreas. Hati adalah organ vital yang berfungsi untuk menyaring racun dan mensekresikan bahan yang tersaring tersebut agar dapat melanjutkan proses metabolisme selanjutnya. Hati juga berperan dalam proses transformasi bahan-bahan pencemar yang berasal dari lingkungan sekitarnya. Sehingga hati merupakan organ yang banyak mengakumulasi bahan toksik dan sangat berpotensi mengalami kerusakan secara patologis sebagai efek dari adanya bahan toksik. Bahan pencemar masuk kedalam tubuh organisme dapat melalui rantai makanan sehingga menyebabkan terakumulasinya bahan pencemar dalam jaringan terutama di hati (Setyowati *et al.*, 2010). Gambar dibawah ini adalah hasil imunohistokimia dari organ hati ikan keting yang berasal dari muara Sungai Mas (Pelabuhan Tanjung Perak) Surabaya, menunjukkan hasil imunohistokimia pada jaringan organ hati ikan keting di muara Sungai Mas dengan rata-rata persentase yang didapat dari ketiga gambar 18 diatas dengan *software immunoRatio* yaitu sebesar 62,7 %

yang didapatkan dari ekspresi HSP70 pada Gambar 18a sebesar 62,8 %, Gambar 18b sebesar 80,8 % dan Gambar 18c sebesar 44,5 %. yang dapat dilihat pada Gambar 18.



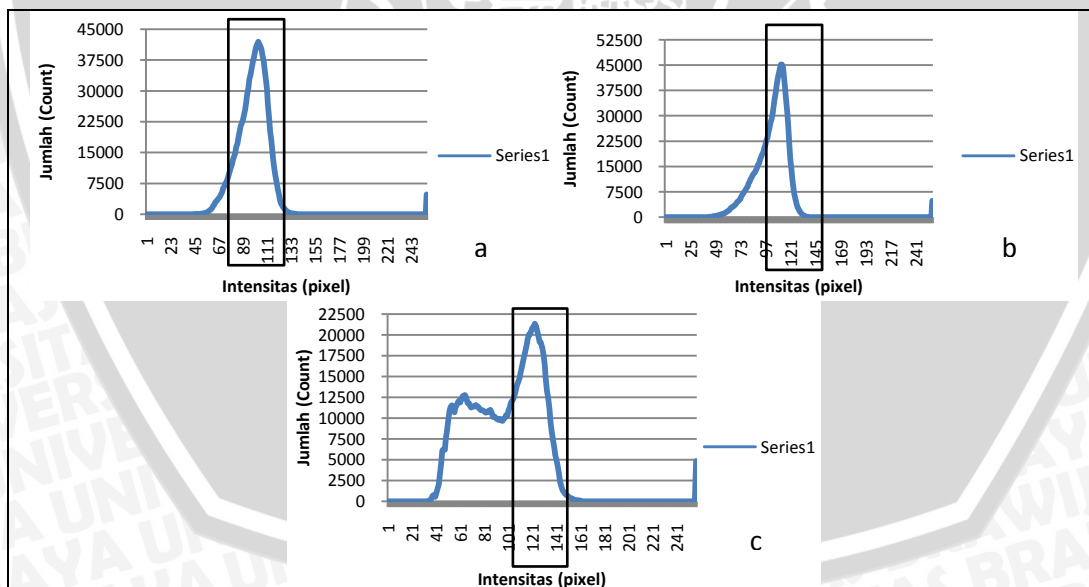
Gambar 18. Hasil pengamatan organ hati ikan keting di muara Sungai Mas dengan keterangan: (→) hiperplasia, (→) edema, (→) nekrosis.

Persentase ini menunjukkan tinggi rendahnya stres lingkungan yang terekspresi pada organ hati ikan. Stres tersebut ditunjukkan dengan adanya kerusakan jaringan dengan tipe kerusakan hiperplasia, edema dan nekrosis seperti terlihat pada gambar 18. Sedangkan grafik histogram menggunakan *software imageJ* pada jaringan organ hati ikan keting di muara Sungai Mas Gambar 19 adalah hasil *imageJ* jaringan organ insang ikan keting di muara Sungai Mas yang menunjukkan data secara kuantitatif melalui nilai mean yang muncul pada histogram, dapat dilihat pada Gambar 19.



Gambar 19. Histogram menggunakan software *imageJ* pada organ hati ikan keting di muara Sungai Mas.

. Gambar 19a menunjukkan mean sebesar 96,927 dengan nilai DAB sebesar 62,8 %, Gambar 19b menunjukkan mean sebesar 102,033 dengan nilai DAB sebesar 80,8 % dan gambar 19c menunjukkan mean sebesar 96,329 dengan nilai DAB sebesar 44,5 %. Model ekspresi HSP70 pada jaringan organ hati ikan keting di muara Sungai Mas berdasarkan DAB dari *imageJ* disajikan dalam bentuk grafik dapat dilihat pada Gambar 20.



Gambar 20. Keterikatan antigen-antibodi dengan intensitas ekspresi HSP70 yang muncul pada organ hati ikan keting di muara Sungai Mas.

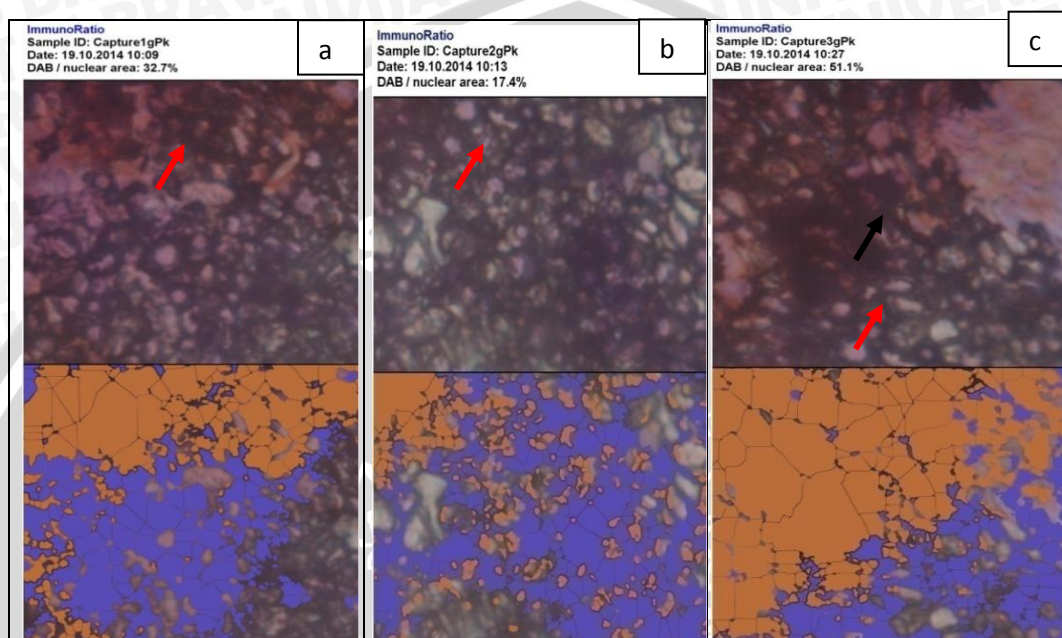
. Gambar 20 menunjukkan keterikatan yang terjadi pada jaringan organ hati ikan keting di muara Sungai Mas dengan menunjukkan intensitas ekspresi

HSP70 yang muncul dari terjadinya ikatan antigen-antibodi. Gambar a, b dan c pada Gambar 20 merupakan tingkat kesetresan tertinggi yang terekspresi dimana, Gambar 20a menunjukkan kisaran intensitas yang positif, Gambar 20b menunjukkan kisaran intensitas yang positif dan Gambar 20c menunjukkan kisaran intensitas yang positif lemah. Sebagaimana dijelaskan oleh Varghese *et al.*, (2014), wilayah jaringan antara 0–60 merupakan positif kuat, kisaran intensitas untuk zona positif 61–120; 121–180 untuk zona positif lemah dan 181–235 untuk zona negatif sedangkan untuk zona 235–255 tidak terlabel dikarenakan biasanya pada zona tersebut merupakan jaringan lemak yang tidak dapat menunjukkan terjadinya tingkatan ekspresi tertinggi. Kemudian rata-rata persentase DAB yang muncul dari ketiga gambar tersebut adalah 62,7 %, menurut Varghese *et al.*, (2014), bahwa pola noda dikategorikan berdasarkan persentase sel yang ternoda yaitu > 75 % seragam; 25–75 % sedang dan 0–25 % langka. Artinya, pada jaringan organ hati ikan keting di muara Sungai Mas positif terekspresi HSP70 dengan rata-rata sel yang terekspresi HSP70 adalah 62,7 %.

d. Ginjal

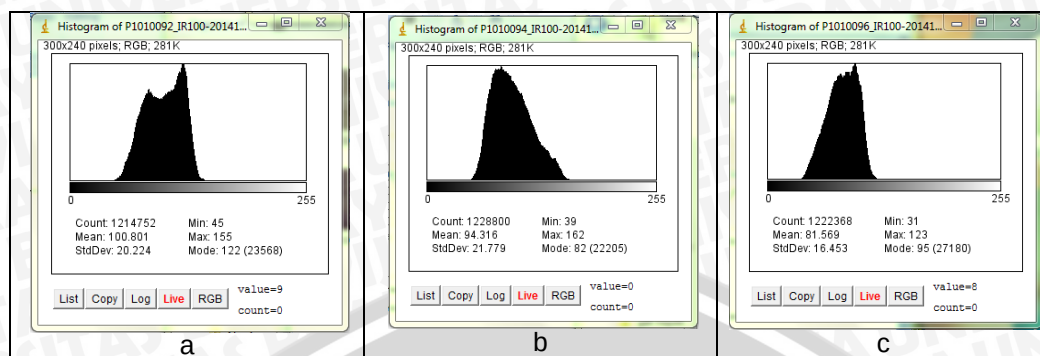
Ginjal merupakan organ internal yang berperan dalam proses ekskresi metabolisme tubuh. Ginjal berfungsi sebagai tempat untuk memfiltrasi dan mengekresikan bahan-bahan yang tidak dibutuhkan tubuh seperti bahan-bahan pencemar yang berada di perairan yang bersifat toksik. Dengan demikian, seperti halnya organ hati, organ ginjal juga akan berpotensi mengalami kerusakan. Ginjal terbagi atas bagian anterior yang mempunyai fungsi sebagai organ limphomeiloid dan posterior yang mempunyai fungsi sebagai organ ekskretori. Ginjal merupakan organ tubuh yang rentan terhadap pengaruh zat-zat kimia, karena organ ini menerima 25–30 % sirkulasi darah untuk dibersihkan, sehingga

sebagai organ filtrasi kemungkinan terjadinya perubahan patologik sangat tinggi (Corwin, 2001 *dalam* Suhita *et al.*, 2013). Gambar dibawah ini adalah hasil immunohistokimia dari organ ginjal ikan keting yang berasal dari muara Sungai Mas menggunakan *software ImmunoRatio* dapat di lihat pada Gambar 21.



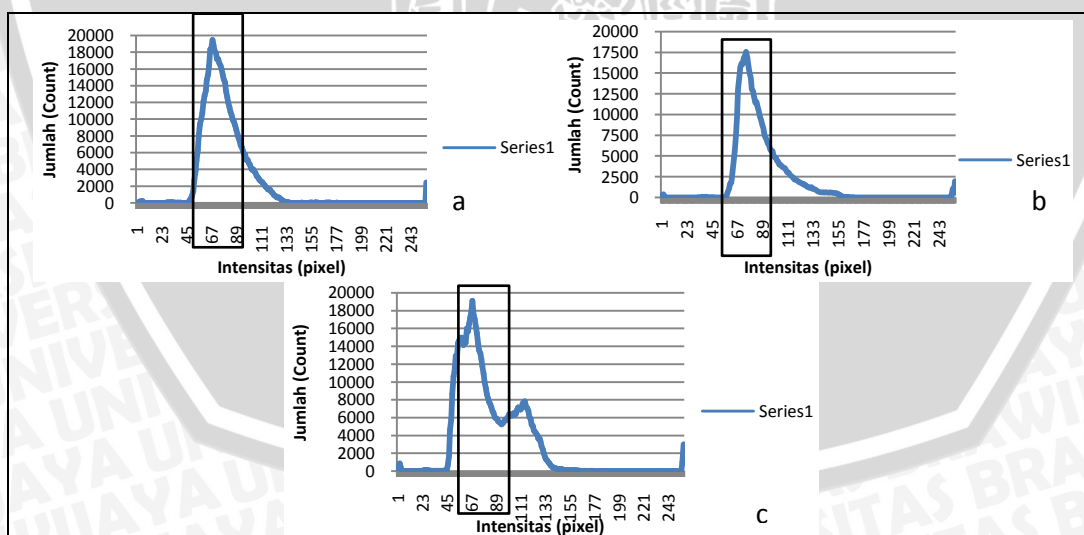
Gambar 21. Hasil pengamatan pada organ ginjal ikan keting di muara Sungai Mas dengan keterangan: (→) hiperplasia, (→) edema, (→) vakola,

Gambar 21 menunjukkan hasil dengan *software ImmunoRatio* jaringan organ ginjal ikan keting di muara Sungai Mas dengan rata-rata persentase yang didapat dari ketiga gambar tersebut adalah sebesar 33,73 %. Ekspresi HSP70 pada Gambar 21a sebesar 32,7 %, Gambar 21b sebesar 41,2 % dan Gambar 21c sebesar 51,1 %. Gambar tersebut dapat menunjukkan kerusakan yang terjadi yaitu hiperplasia, edema dan vakuola. Kerusakan dengan tipe vakuola dapat terjadi akibat adanya degradasi lemak sehingga menyebabkan adanya ruang-ruang kosong, hal ini biasa disebut dengan vakuola (Tresnati *et al.*, 2014). Grafik histogram dengan *software imageJ* organ ginjal ikan keting di muara Sungai Mas dapat dilihat pada Gambar 22.



Gambar 22. Histogram dengan menggunakan software *imageJ* pada organ ginjal ikan keting di muara Sungai Mas.

Gambar 22 merupakan hasil *imageJ* dari jaringan organ ginjal ikan keting di muara Sungai Mas yang menunjukkan data secara kuantitatif melalui histogram, nilai mean yang muncul pada gambar 23 diatas. Gambar 22a menunjukkan mean sebesar 100.801 dengan nilai DAB sebesar 32,7 %, Gambar 22b sebesar 94,316 dengan nilai DAB sebesar 17,4 % dan Gambar 22c sebesar 81,569 dengan nilai DAB sebesar 51,1 %. Model ekspresi HSP70 pada organ ginjal ikan keting di muara Sungai Mas berdasarkan gambar *imageJ* apabila disajikan dalam bentuk grafik dapat dilihat pada Gambar 23.

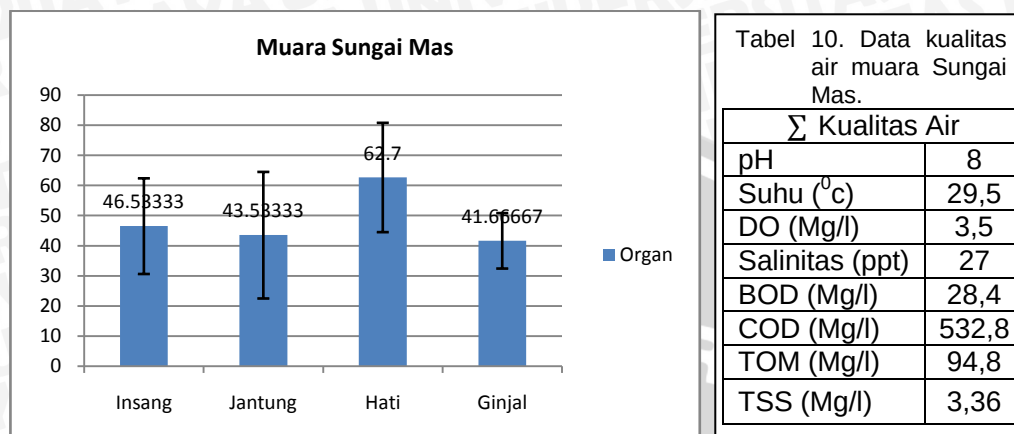


Gambar 23. Keterikatan antigen-antibodi dengan instensitas HSP70 pada organ ginjal ikan keting di muara Sungai Mas.

.Gambar 23 menunjukkan keterikatan yang terjadi pada jaringan organ ginjal ikan ketang di muara Sungai Mas dengan menunjukkan intensitas DAB yang muncul dari terjadinya ikatan antigen-antibodi. Gambar a, b dan c pada gambar 23 merupakan tingkat kesetresan tertinggi yang terekspresi dimana, Gambar 23a menunjukkan kisaran intensitas yang positif, Gambar 23b menunjukkan kisaran intensitas yang positif dan Gambar 23c menunjukkan kisaran intensitas yang positif. Menurut Varghese *et al.*, (2014), wilayah jaringan antara 0–60 merupakan positif kuat, kisaran intensitas untuk zona positif 61–120; 121–180 untuk zona positif lemah dan 181–235 untuk zona negatif sedangkan untuk zona 235–255 tidak terlabel dikarenakan biasanya pada zona tersebut merupakan jaringan lemak yang tidak dapat menunjukkan terjadinya tingkatan ekspresi tertinggi. Kemudian rata-rata persentase DAB yang muncul dari ketiga gambar tersebut adalah 41,67 %, Varghese *et al.*, (2014) kembali memaparkan bahwa pola noda dikategorikan berdasarkan persentase sel yang terlabel yaitu > 75 % seragam; 25–75 % sedang dan 0–25 % langka. Artinya, pada jaringan organ ginjal ikan ketang di muara Sungai Mas positif terekspresi HSP70 dengan rata-rata sel yang terekspresi HSP70 adalah 41,67 %.

Berdasarkan hasil pengamatan pada beberapa organ ikan ketang yang berasal dari muara Sungai Mas menunjukkan terjadinya beberapa macam kerusakan pada sel organ, antara lain: insang (edema dan hiperplasia), jantung (edema dan hiperplasia), hati (hiperplasia, edema, dan nekrosis), ginjal (hiperplasia dan vakuola). Jika dilihat dari hasil persentase ekspresi HSP70 yang muncul dari *software ImmunoRatio* yang dilakukan secara *online*, organ yang paling banyak terekspresi adalah organ hati yaitu sebesar 62,7 % dengan tipe kerusakan hiperplasia, edema, nekrosis. Hasil 62,7 % sudah menunjukkan hasil yang positif dan ekspresinya sudah dapat dikatakan tinggi karena sudah lebih dari

50 %. Seperti pada Gambar 24 yang menunjukkan persentase ekspresi HSP70 pada organ insang, jantung, hati dan ginjal ikan keting di muara Sungai Mas.



Gambar 24. Grafik rata-rata ekspresi HSP70 pada organ ikan keting di muara Sungai Mas.

Gambar 24 menunjukkan rata-rata persentase ekspresi yang muncul pada jaringan organ, dimana nilai rata-rata ekspresi HSP70 organ insang sebesar 46,53 % dengan standart deviasi sebesar 15.88846542, nilai rata-rata ekspresi HSP70 organ jantung sebesar 43,53 % dengan standart deviasi sebesar 21,01578772, nilai rata-rata ekspresi HSP70 organ hati yang paling tinggi ekspresinya jika dibandingkan dengan organ yang lain yaitu sebesar 62,7 % dengan standart deviasi sebesar 18,15020661 dan nilai rata-rata ekspresi HSP70 organ ginjal tereksprei sebesar 41,67 % dengan standart deviasi sebesar 9.208872533. Perbedaan persentase setiap organ ini dapat dikarenakan organ hati merupakan organ yang berfungsi sebagai penyaring darah dan jika ada residu-residu seperti racun, logam berat atau zat-zat asing lain akan tersaring dan berkumpul di hati. Menurut Setyowati *et al.*, (2010), menyatakan bahwa bahan pencemar masuk kedalam tubuh organisme dapat melalui rantai makanan sehingga menyebabkan terakumulasinya bahan pencemar dalam jaringan terutama di hati. Toksisitas logam timbal (Pb) terhadap organisme air dapat menyebabkan kerusakan jaringan organisme terutama pada organ yang peka

seperti insang dan usus kemudian ke jaringan bagian dalam seperti hati dan ginjal tempat logam tersebut terakumulasi (Darmono, 2001 *dalam* Triadayani, 2010). Selain itu, kerusakan yang timbul diduga juga terpengaruh letak lokasi pengambilan sampel berada di muara yang sekaligus merupakan pelabuhan kapan laut, sehingga segala kegiatan atau aktivitas kapal akan berdampak terhadap lingkungan perairan muara Sungai Mas. Disekitar pelabuhan juga terdapat bengkel kapal, dimana kapal-kapal yang rusak diperbaiki ataupun di parkir disekitar muara. Keadaan ini tentunya juga akan berdampak terhadap lingkungan perairan muara misalkan salah satunya dengan adanya tumpahan bahan bakar minyak. Menurut Kuncowati (2010), akibat jangka pendek yang ditimbulkan tumpahan minyak adalah molekul hidrokarbon minyak dapat merusak membran sel biota laut, mengakibatkan keluarnya cairan sel dan berpenetrasinya bahan tersebut ke dalam sel dan secara langsung dapat menyebabkan kematian pada ikan karena kekurangan oksigen, keracunan karbondioksida dan keracunan langsung oleh limbah berbahaya. Akibat adanya tumpahan minyak di permukaan perairan akan menghambat masuknya sinar matahari ke dalam perairan sehingga menghambat proses fotosintesis yang dilakukan oleh fitoplankton. Begitu juga dengan keberadaan minyak didasar perairan muara yang juga akan bercampur dengan lumpur dan mempengaruhi kesuburan dasar perairan.

Keberadaan bahan pencemar lain berupa logam berat ataupun limbah domestik diduga juga dapat menjadi salah satu sumber pencemar bagi organisme dan lingkungan di sekitar perairan muara Sungai Mas. Selain berasal dari tumpahan bahan bakar minyak kapal laut, bahan pencemar tersebut juga bisa berasal dari aliran air sungai yang membawa bungan limbah pabrik, rumah tangga (domestik), industri dan pertanian yang dilewati oleh aliran sungai dari

hulu sampai ke muara. Mengingat, muara Sungai Mas merupakan salah satu anak dari Sungai Brantas yang mengalir ke Sungai Surabaya yang kemudian bercabang lagi menjadi Sungai Mas dan Sungai Wonokromo. Aliran yang mengalir ke muara Sungai Mas diduga sudah bercampur dengan limbah-limbah yang berasal dari segala kegiatan yang ada di sekitar aliran sungai yang dilewati sampai akhirnya menuju ke muara Sungai Mas yang juga merupakan pelabuhan kapal. Kemudian, limbah logam yang dimungkinkan dapat mencemari salah satunya berupa logam Cu. Agustina *et al.*, (2012), Cu ditemukan pada perairan Sungai Siak dapat disebabkan adanya kegiatan industri, pelabuhan dan korosi kapal, yang dilanjutkan oleh Palar (1994), logam Cu yang digunakan sebagai bahan pemberi warna biru dan metalik pada cat anti karat pada kapal dan pelabuhan yang berguna untuk melapisi dan menjaga ketahanan cat yang cepat atau lambat akan luruh dan dapat mencemari perairan.

Sungai Mas melewati pusat kegiatan Kota Surabaya sehingga tidak menutup kemungkinan bahan pencemar juga berasal dari udara melalui asap kendaraan bermotor yang berasal dari pembakaran bahan bakar kendaraan bermotor. Agustina *et al.*, (2012), bahan pencemar logam seperti Pb, Cu dan Zn yang tinggi di perairan Sungai Siak wilayah kota Pekanbaru juga tidak menutup kemungkinan berasal dari udara melalui hasil pembakaran fosil dari segala aktivitas perkotaan seperti kegiatan transportasi dan industri. Sedangkan menurut Palar (1994), senyawa Pb yang terdapat pada emisi kegiatan transportasi dan industri kemudian masuk ke perairan melalui pengristalan di udara dan jatuh melalui hujan.

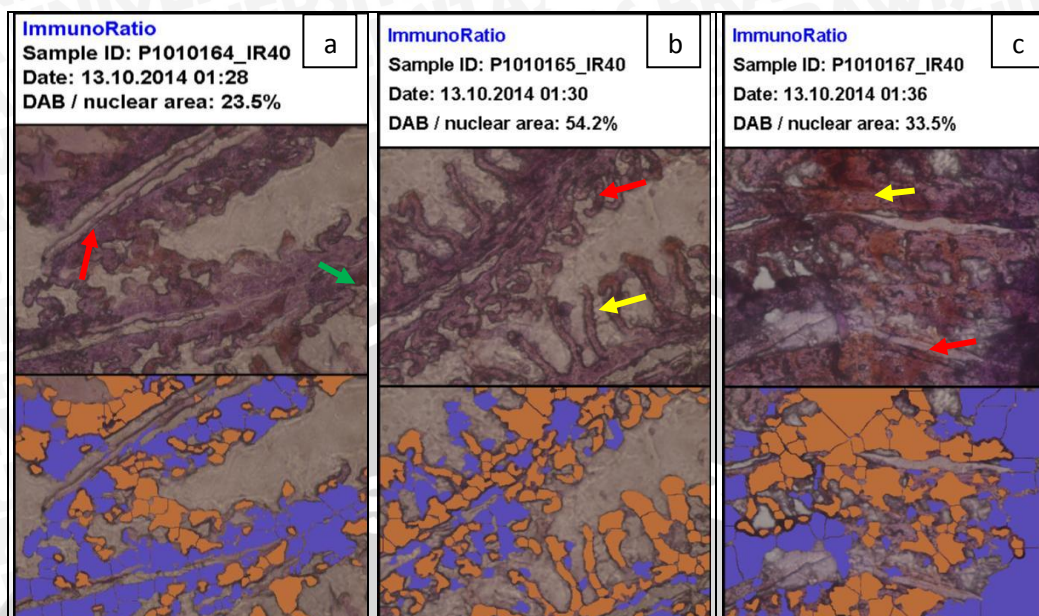
Adanya segala bahan pencemar yang seperti diduga yang sudah terlarut dalam air dan ikut bersama aliran air sungai sampai menuju muara, tentunya tidak hanya sekali waktu saja. Dengan kata lain, zat-zat hasil dari segala aktivitas

yang terjadi didaratan tersebut akan selalu terbawa oleh aliran air sungai/tercampur dengan air sungai dan terbawa arus sampai menuju muara. Sehingga, karena keadaan ini terjadi secara terus-menerus karena aktivitas manusia berlangsung setiap hari, maka akan berdampak terhadap ikan ataupun organisme yang ada di muara seperti Ikan keting. Yang kemudian, Ikan keting akan berusaha menyeimbangkan keadaan tubuhnya dan berusaha untuk menyesuaikan diri dengan keadaan lingkungan air sekitar dengan mengekspresikan HSP70. Hasil yang didapat dari metode imunohistokimia untuk persentase HSP70 organ hati yang paling banyak mengekspresikan. Keadaan ini ditandai dengan banyaknya persentase yang terlihat pada gambar *immunoRatio* dengan keterikatan antara antigen-antibodi spesifik HSP70 yang ditandai dengan warna organye dan biru (Lihat Gambar 12 untuk jaringan organ insang, Gambar 15 untuk jaringan organ jantung, Gambar 18 untuk jaringan organ hati dan Gambar 21 untuk jaringan ginjal).

4.3.2 Analisis HSP70 pada jaringan organ Ikan keting (*Mystus nigriceps*) di muara Sungai Wonokromo

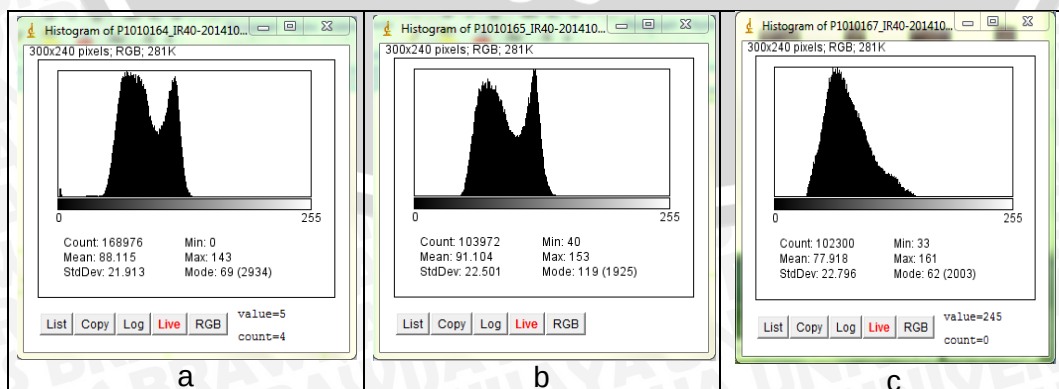
a. Insang

Insang merupakan organ eksternal yang berhubungan langsung dengan air. Insang merupakan organ respirasi pada ikan, insang menyaring oksigen yang larut dalam air dan mengeluarkan karbondioksida. Gambar dibawah ini menunjukkan hasil imunohistokimia dari jaringan organ insang Ikan keting yang berasal dari muara Sungai Wonokromo dengan *software ImmunoRatio*, Surabaya. berikut gambarnya:



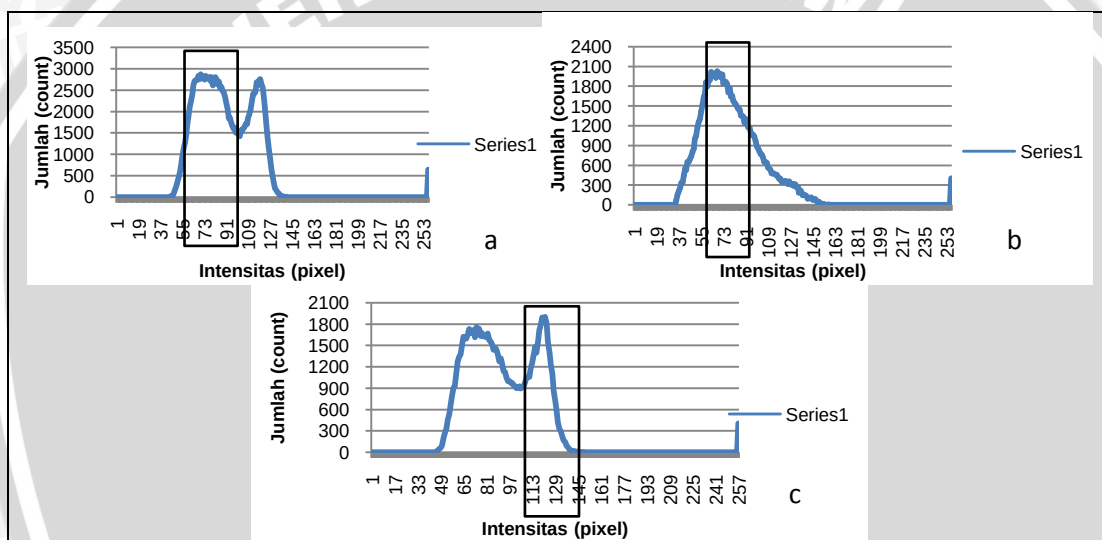
Gambar 25. Hasil pengamatan pada organ insang ikan keting di muara Sungai Wonokromo, dengan keterangan: (→) hiperplasia, (→) edema, (→) nekrosis.

Gambar 25 menunjukkan hasil *ImmunoRatio* organ insang Ikan keting di muara Sungai Wonokromo. Pada gambar tersebut ditunjukkan adanya kerusakan jaringan organ insang dengan tipe hiperplasia, edema dan nekrosis. Hasil rata-rata persentase DAB dari ketiga gambar 26 diatas yaitu sebesar 37,07 % yang menunjukkan tinggi rendahnya stres yang terekspresi pada jaringan organ insang Ikan keting di muara Sungai Wonokromo. Berikut grafik histogram menggunakan *software imageJ* pada insang Ikan keting di muara Sungai Wonokromo dapat dilihat pada Gambar 26.



Gambar 26. Histogram menggunakan *software imageJ* pada jaringan organ insang ikan keting di muara Sungai Wonokromo.

Gambar 26 adalah hasil *imageJ* insang ikan keting di muara Sungai Wonokromo yang menunjukkan data secara kuantitatif melalui histogram nilai mean. Gambar 26a menunjukkan mean sebesar 88,115 dengan persentase DAB sebesar 23,5 %, Gambar 26b menunjukkan mean sebesar 91,104 dengan persentase DAB sebesar 54,2 % dan Gambar 26c menunjukkan nilai mean sebesar 77,918 dengan persentase DAB sebesar 33,5 %. Model ekspresi HSP pada insang ikan keting di muara Sungai Wonokromo dari *imageJ* apabila disajikan dalam bentuk grafik dapat dilihat pada Gambar 27.



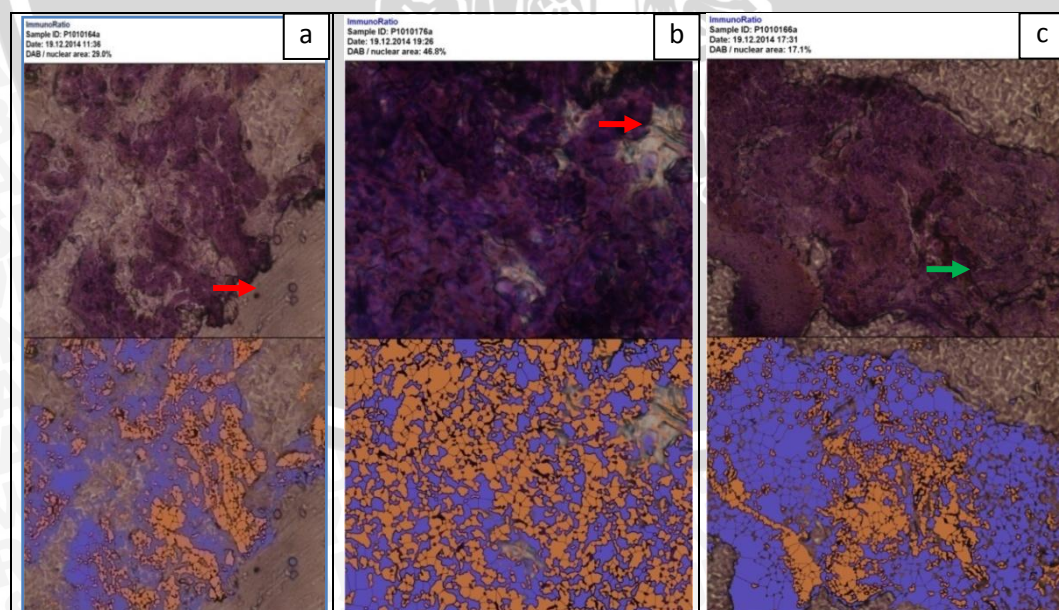
Gambar 27. Keterikatan antigen-antibodi dengan intensitas ekspresi HSP70 pada jaringan insang ikan keting di muara Sungai Wonokromo.

Gambar 27 menunjukkan keterikatan yang terjadi pada organ insang ikan keting di muara Sungai Wonokromo dengan menunjukkan intensitas DAB yang muncul dari terjadinya ikatan antigen-antibodi. Gambar a, b dan c pada gambar 27 merupakan tingkat kesetresan tertinggi yang terekspresi yaitu pada Gambar 27a menunjukkan kisaran intensitas yang positif, Gambar 27b menunjukkan kisaran intensitas yang positif lemah dan Gambar 27c menunjukkan kisaran intensitas yang positif. Sebagaimana dijelaskan oleh Varghese *et al.*, (2014), wilayah jaringan antara 0–60 merupakan positif kuat, kisaran intensitas untuk

zona positif 61–120; 121–180 untuk zona positif lemah dan 181–235 untuk zona negatif sedangkan untuk zona 235–255 tidak terlabel dikarenakan biasanya pada zona tersebut merupakan jaringan lemak yang tidak dapat menunjukkan terjadinya tingkatan ekspresi tertinggi. Kemudian rata-rata persentase DAB yang muncul dari ketiga gambar tersebut adalah 30,07 %, Varghese *et al.*, (2014), kembali memaparkan bahwa pola noda dikategorikan berdasarkan persentase sel yang ternoda yaitu > 75 % seragam; 25–75 % sedang dan 0–25 % langka. Artinya, pada jaringan insang Ikan keting di muara Sungai Wonokromo positif terekspresi HSP70 dengan rata-rata sel yang terekspresi HSP70 adalah 30,07 %.

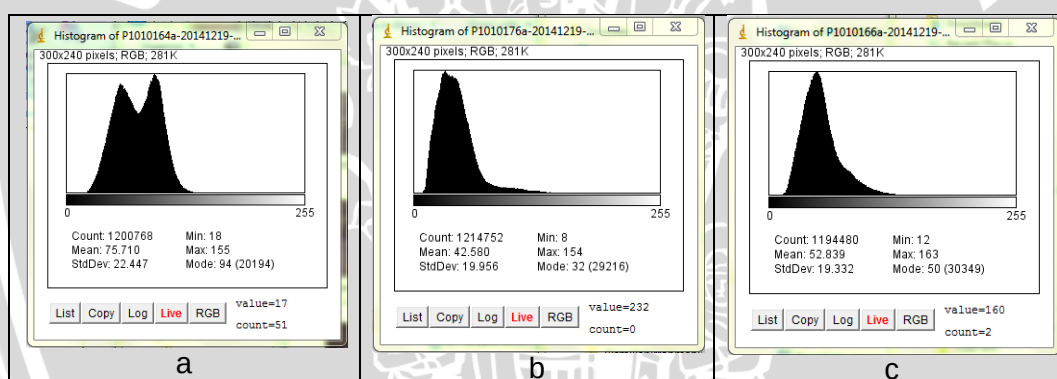
b. Jantung

Jantung merupakan organ pemompa darah keseluruhan tubuh yang kemudian kembali lagi ke jantung dan dapat dikatakan bahwa jantung merupakan terminalnya darah. Hasil immunohistokimia dari jantung ikan keting yang berasal dari muara Sungai Wonokromo dengan *software immunoRatio*, dapat dilihat pada Gambar 28.



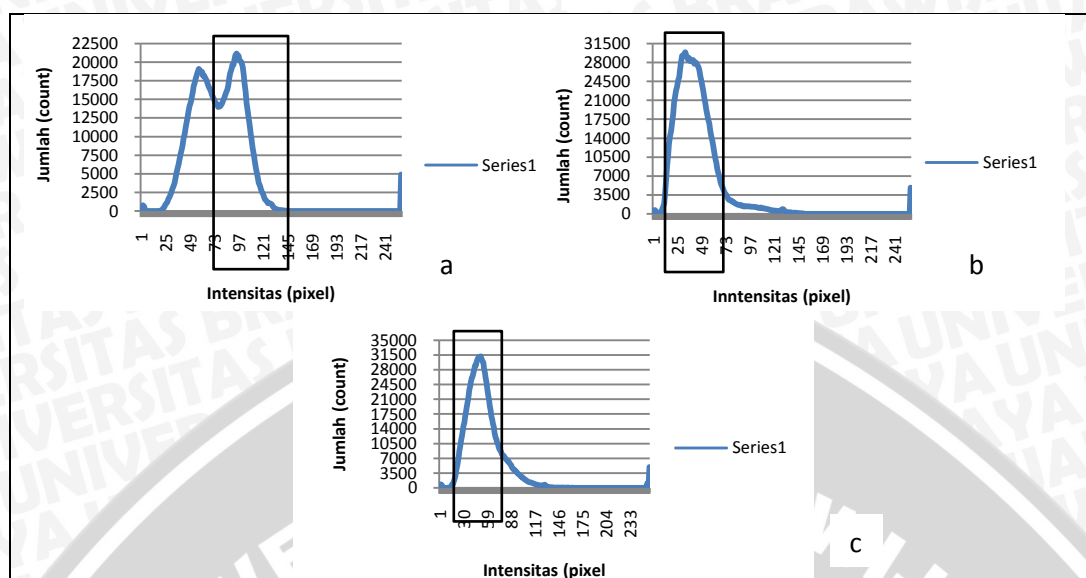
Gambar 28. Hasil pengamatan sampel jantung Ikan keting di muara Sungai Wonokromo, dengan keterangan: (→) hyperplasia, (→) nekrosis.

Gambar 28 adalah hasil *immunoRatio* dari organ jantung ikan keting dengan rata-rata persentase yaitu sebesar 30,97 % yang didapatkan dari ekspresi HSP70 pada Gambar 28a sebesar 29 %, Gambar 28b sebesar 17,1 % dan Gambar 28c sebesar 46,8 %. Persentase ini menunjukkan tinggi rendahnya stres lingkungan yang terekspresi pada organ jantung ikan keting di muara Sungai Wonokromo. Selain itu, stres juga ditunjukkan dengan adanya kerusakan jaringan pada jantung dengan tipe kerusakan hiperplasia atau pembengkakan jaringan dan kerusakan kedua yaitu nekrosis atau kerusakan sel yang sudah parah. Berikut adalah histogram menggunakan *software imageJ* pada jaringan organ jantung ikan keting di muara Sungai Wonokromo yang dapat dilihat pada Gambar 29.



Gambar 29. Histogram menggunakan *software imageJ* pada organ jantung ikan keting di muara Sungai Wonokromo.

Gambar 29 adalah hasil *imageJ* dari organ jantung ikan keting di muara Sungai Wonokromo yang menunjukkan data secara kuantitatif menggunakan nilai mean pada histogram. Gambar 29a menunjukkan mean sebesar 75,710 dengan nilai DAB sebesar 29 %, Gambar 29b menunjukkan mean sebesar 42,580 dengan nilai DAB sebesar 46,8 % dan Gambar 29c menunjukkan mean sebesar 52,829 dengan nilai DAB sebesar 17,1 %. Model ekspresi HSP70 pada organ jantung ikan keting di muara Sungai Wonokromo apabila disajikan dalam bentuk grafik dapat dilihat pada Gambar 30.



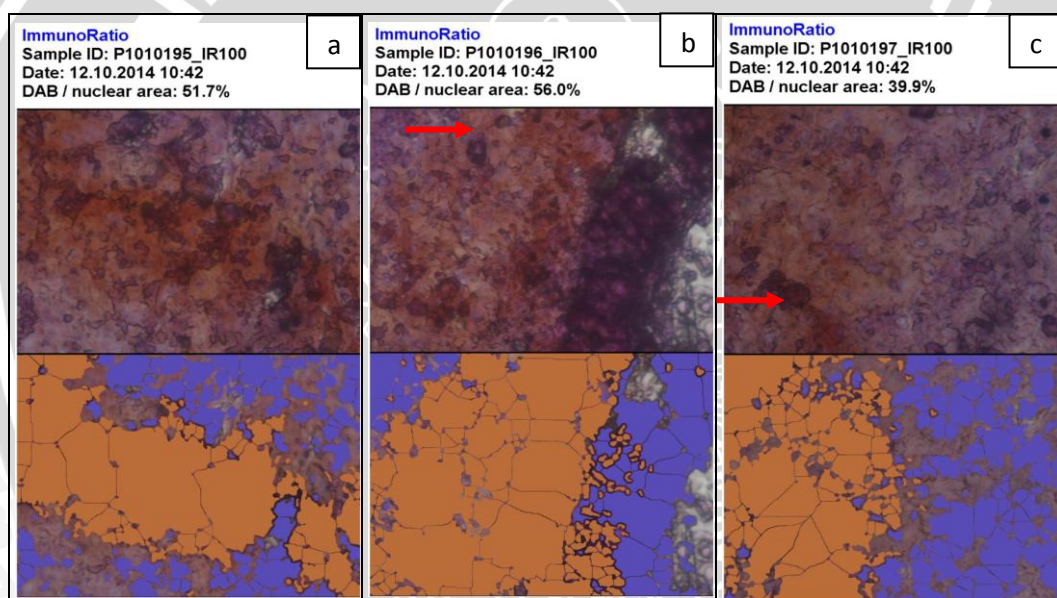
Gambar 30. Keterikatan antigen-antibodi dari instensitas ekspresi HSP70 yang muncul pada jantung ikan keting di muara Sungai Wonokromo.

Gambar 30 menunjukkan keterikatan yang terjadi pada jaringan organ jantung ikan keting di muara Sungai Wonokromo dengan menunjukkan intensitas DAB yang muncul dari terjadinya ikatan antigen-antibodi. Gambar a, b dan c pada Gambar 30 merupakan tingkat kesetresan tertinggi yang terekspresi dimana, Gambar 30a menunjukkan kisaran intensitas yang positif, Gambar 30b menunjukkan kisaran intensitas yang positif kuat dan Gambar 30c menunjukkan kisaran intensitas yang positif kuat. Varghese *et al.*, (2014), wilayah jaringan antara 0–60 merupakan positif kuat, kisaran intensitas untuk zona positif 61–120; 121–180 untuk zona positif lemah dan 181–235 untuk zona negatif sedangkan untuk zona 235–255 tidak terlabel dikarenakan biasanya pada zona tersebut merupakan jaringan lemak yang tidak dapat menunjukkan terjadinya tingkatan ekspresi tertinggi. Kemudian rata-rata persentase DAB yang muncul dari ketiga gambar tersebut adalah 30,97 %, Varghese *et al.*, (2014) kembali memaparkan bahwa pola noda dikategorikan berdasarkan persentase sel yang ternoda yaitu > 75 % seragam; 25–75 % sedang dan 0–25 % langka. Artinya, pada organ

jantung ikan keting di muara Sungai Wonokromo positif kuat terekspresi HSP70 dengan rata-rata sel yang terekspresi HSP70 adalah 30,97 %.

c. Hati

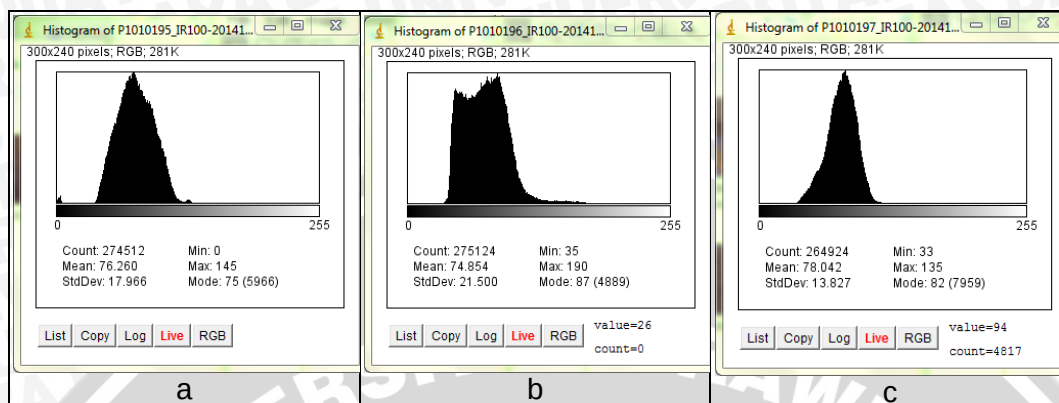
Gambar dibawah ini menunjukkan hasil immunohistokimia dengan *software immunoRatio* dari jaringan organ hati Ikan keting yang berasal dari muara Sungai Wonokromo, Surabaya. Gambar tersebut akan menunjukkan bahwa jika persentase warna coklat lebih tebal dan banyak, hal ini menunjukkan bahwa *Heat Shock Protein* telah terekspresi pada jaringan internal hati ikan keting (*Mystus nigriceps*), yang dapat dilihat pada Gambar 31.



Gambar 31. Hasil pengamatan sampel hati ikan keting di muara Sungai Wonokromo, dengan keterangan: (→) hiperplasia, (→) edema, (→) nekrosis.

Gambar 31 menunjukkan hasil *immunoRatio* pada jaringan organ hati ikan keting di muara Sungai Wonokromo dengan rata-rata persentase yang didapat dari ketiga gambar tersebut diatas sebesar 49,2 %. Persentase ini menunjukkan tingkat kesetresan yang muncul. Selain itu, stres juga ditunjukkan dengan adanya kerusakan jaringan organ hati yang ditunjukkan dengan tipe kerusakan hiperplasia dan nekrosis. Sedangkan untuk grafik histogram dengan

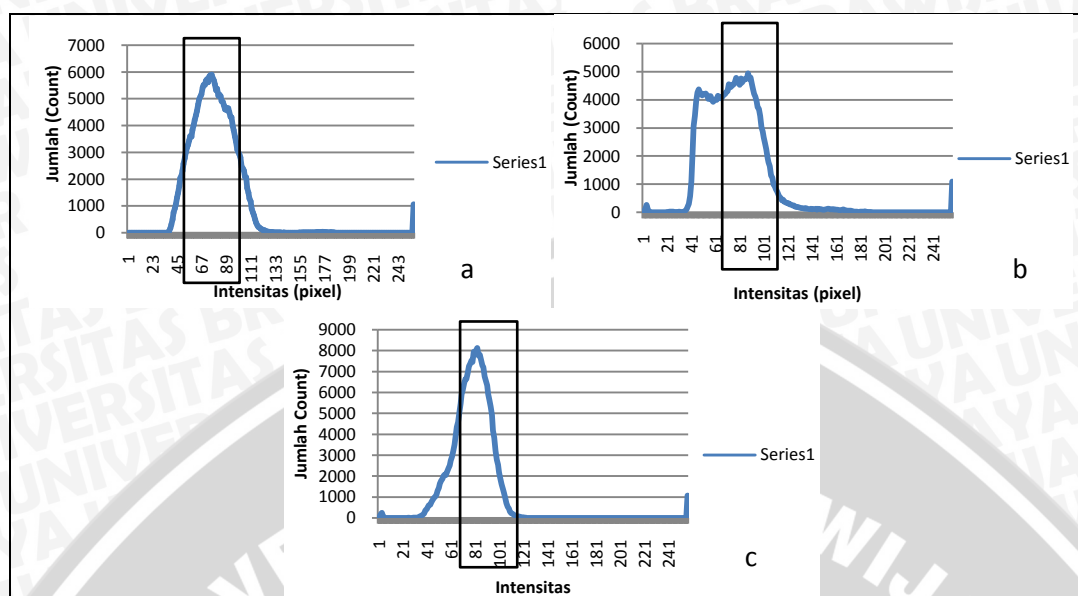
menggunakan *software imageJ* pada jantung ikan keting di muara Sungai Wonokromo dapat dilihat pada Gambar 32.



Gambar 32. Histogram menggunakan *software imageJ* pada organ hati ikan keting di muara Sungai Wonokromo

Gambar 32 adalah hasil dari *software imageJ* dari jaringan organ hati ikan keting di muara Sungai Wonokromo. Hasil ini menunjukkan data secara kuantitatif menggunakan histogram nilai mean yang muncul pada gambar 32 diatas. Gambar 32a menunjukkan mean sebesar 76,260 dengan nilai DAB sebesar 51,7 %, Gambar 32b menunjukkan mean sebesar 74,854 dengan nilai DAB sebesar 56 % dan Gambar 33c menunjukkan mean sebesar 78,042 dengan nilai DAB sebesar 39,9 %.

Gambar 33 akan menunjukkan intensitas HS70 yang terjadi pada jaringan organ hati Ikan keting di muara Sungai Wonokromo dengan menunjukkan intensitas ekspresi HSP70 yang muncul dari terjadinya ikatan antigen-antibodi. Gambar a, b dan c pada Gambar 33 merupakan tingkat kesetresan tertinggi yang terekspresi yaitu Gambar 33a menunjukkan kisaran intensitas yang positif, Gambar 33b menunjukkan kisaran intensitas yang positif dan Gambar 33c menunjukkan kisaran intensitas yang positif. Model ekspresi HSP70 pada organ hati ikan keting di muara Sungai Wonokromo berdasarkan gambar dari *imageJ* apabila disajikan dalam bentuk grafik dapat dilihat pada Gambar 33.



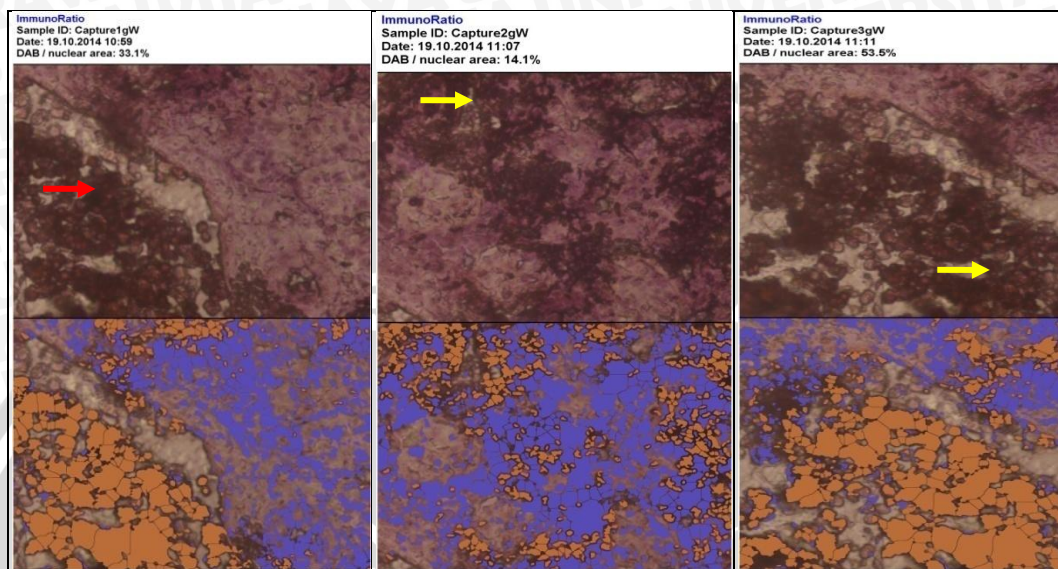
Gambar 33. Keterikatan antigen-antibodi dengan intensitas ekspresi HSP70 yang muncul pada hati Ikan keting di muara Sungai Wonokromo..

Menurut Varghese *et al.*, (2014), wilayah jaringan antara 0–60 merupakan positif kuat, kisaran intensitas untuk zona positif 61–120; 121–180 untuk zona positif lemah dan 181–235 untuk zona negatif sedangkan untuk zona 235–255 tidak terlabel dikarenakan biasanya pada zona tersebut merupakan jaringan lemak yang tidak dapat menunjukkan terjadinya tingkatan ekspresi tertinggi. Kemudian rata-rata persentase DAB yang muncul dari ketiga gambar tersebut adalah 49,2 %, Varghese *et al.*, (2014), kembali memaparkan bahwa pola noda dikategorikan berdasarkan persentase sel yang ternoda yaitu > 75 % seragam; 25–75 % sedang dan 0–25 % langka. Artinya, pada jaringan organ hati Ikan keting di muara Sungai Wonokromo positif terekspresi HSP70 dengan rata-rata sel yang terekspresi HSP70 adalah 49,2 %.

d. Ginjal

Gambar dibawah ini menunjukkan hasil imunohistokimia dari jaringan organ ginjal Ikan keting yang berasal dari muara Sungai Wonokromo, Surabaya. Gambar tersebut akan menunjukkan bahwa jika persentase warna coklat lebih

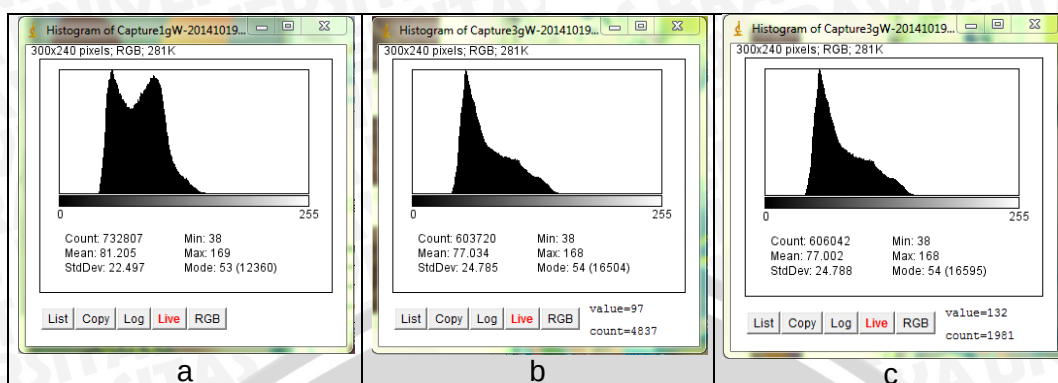
tebal dan banyak, hal ini menunjukkan bahwa *Heat Shock Protein* telah terkspresii pada jaringan internal jantung Ikan keting (*Mystus nigriceps*), dapat dilihat pada Gambar 34.



Gambar 34. Hasil pengamatan sampel ginjal ikan keting di muara Sungai Wonokromo, dengan keterangan: (→) hyperplasia, (→) edema.

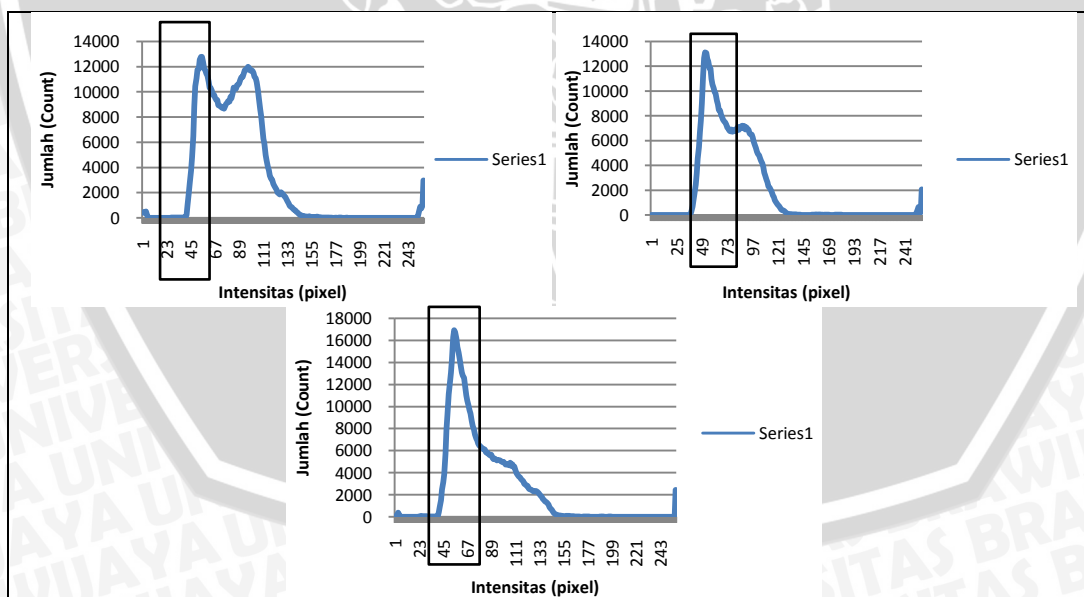
Gambar 34 menunjukkan hasil *ImmunoRatio* pada ginjal ikan keting di muara Sungai Wonokromo dengan rata-rata sebesar 33,57 %. Rata-rata tersebut dapat menunjukkan sebesarapa besar HSP70 yang terspresi pada jaringan organ ginjal ikan keting di muara Sungai Wonokromo. Selain itu, kesetresan yang muncul pada ikan keting juga dapat ditandai dengan adanya kerusakan pada jaringan organ seperti kerusakan dengan tipe hyperplasia dan edema dan nekrosis.

Gambar 35 adalah hasil *imageJ* jaringan organ ginjal ikan keting di muara Sungai Wonokromo yang menunjukkan data secara kuantitatif melalui histogram nilai mean yang muncul pada Gambar 35. Sedangkan untuk histogram dengan menggunakan *software imageJ* pada jaringan organ ginjal ikan keting di muara Sungai Wonokromo dapat dilihat pada Gambar 35.



Gambar 35. Histogram menggunakan *software imageJ* pada organ ginjal ikan keting di muara Sungai Wonorkomo.

Gambar 35a menunjukkan mean sebesar 81,205 dengan persentase DAB sebesar 33,1 %, Gambar 35b menunjukkan mean sebesar 77,034 dengan persentase DAB sebesar 14,1 % dan Gambar 35c menunjukkan mean sebesar 77,002 dengan persentase DAB sebesar 53,5 %. Sedangkan untuk model ekspresi HSP70 pada ginjal ikan keting di muara Sungai Wonokromo berdasarkan gambar dari *imageJ* apabila disajikan dalam bentuk grafik dapat dilihat pada Gambar 36.

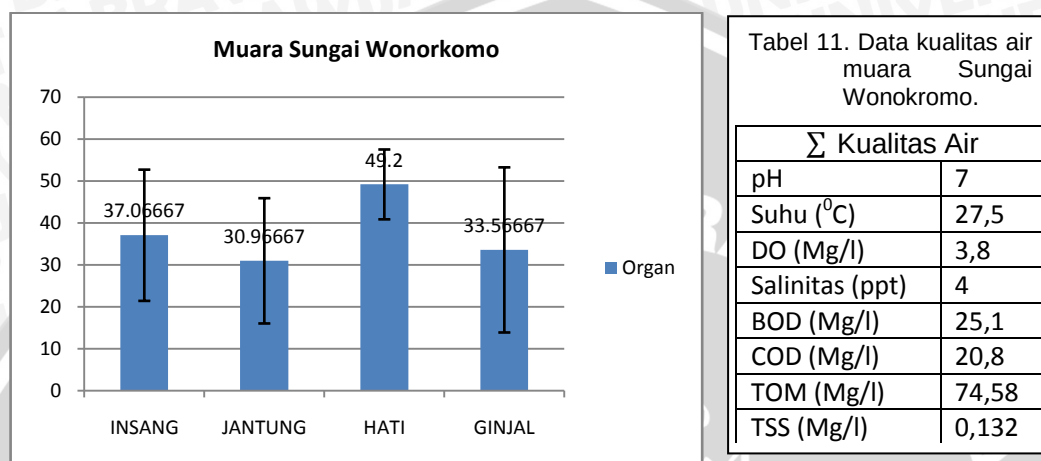


Gambar 36. Model ekspresi HSP70 dari keterikatan antigen-antibodi yang muncul pada organ ginjal di muara Sungai Wonokromo.

Gambar 36 menunjukkan keterikatan yang terjadi pada jaringan organ ginjal ikan keting di muara Sungai Mas dengan menunjukkan intensitas DAB yang muncul dari terjadinya ikatan antigen-antibodi. Gambar a, b dan c pada gambar 36 merupakan tingkat kesetresan tertinggi yang terekspresi dimana, Gambar 36a menunjukkan kisaran intensitas yang positif kuat, Gambar 36b menunjukkan kisaran intensitas yang positif kuat dan Gambar 36c menunjukkan kisaran intensitas yang positif kuat. Menurut Varghese *et al.*, (2014), wilayah jaringan antara 0-60 merupakan positif kuat, kisaran intensitas untuk zona positif 61-120; 121-180 untuk zona positif lemah dan 181-235 untuk zona negatif sedangkan untuk zona 235-255 tidak terlabel dikarenakan biasanya pada zona tersebut merupakan jaringan lemak yang tidak dapat menunjukkan terjadinya tingkatan ekspresi tertinggi. Kemudian rata-rata persentase DAB yang muncul dari ketiga gambar tersebut adalah 33,57 %, Varghese *et al.*, (2014) kembali memaparkan bahwa pola noda dikategorikan berdasarkan persentase sel yang ternoda yaitu > 75 % seragam; 25-75 % sedang dan 0-25 % langka. Artinya, pada jaringan organ ginjal ikan keting di muara Sungai Wonokromo positif kuat terekspresi HSP70 dengan rata-rata sel yang terekspresi HSP70 adalah 33,57 %.

Berdasarkan pembahasan keempat organ yang berasal dari muara Sungai Wonokromo diatas, jaringan organ tersebut menunjukkan sudah adanya kerusakan pada sel organ. Hasil tersebut sudah dapat menunjukkan bahwa sudah ada stres terhadap ikan, hal ini juga dapat ditunjukkan dengan persentase pada organ saat dilihat dengan *software immunoRatio* dengan organ yang paling tinggi adalah organ hati. Gambar 37 menunjukkan rata-rata persentase ekspresi HSP70 yang muncul pada jaringan organ, dimana nilai rata-rata ekspresi HSP70 organ insang sebesar 37,07 % dengan standart deviasi sebesar 15,65769247, nilai rata-rata ekspresi HSP70 organ jantung sebesar 30,97 % dengan standar

deviasi sebesar 14,94735205, nilai rata-rata ekspresi HSP70 organ hati 49,2 % dengan standart deviasi sebesar 8,336066219. Berikut grafik rata-rata persentase ekspresi HSP70 pada organ Ikan keting yang berasal dari muara Sungai Wonokromo, dapat dilihat pada Gambar 37.



Gambar 37. Grafik rata-rata ekspresi HSP70 pada organ ikan keting di muara Sungai Wonokromo.

Nilai rata-rata ekspresi HSP70 organ ginjal sebesar 33,57 % dengan standart deviasi sebesar 19,70414508. Hasil yang paling tinggi terekspresi HSP70 yaitu organ hati. Keadaan ini sangat mungkin terjadi karena hati merupakan tempat penyaring darah saat proses metabolisme tubuh berlangsung. Hati bekerja sama dengan empedu, dimana empedu merupakan tempat menyimpan racun-racun tubuh. Setyowati *et al.*, (2010), menyatakan bahwa bahan pencemar masuk kedalam tubuh organisme dapat melalui rantai makanan sehingga menyebabkan terakumulasinya bahan pencemar dalam jaringan terutama di hati. Namun, jika dibandingkan dengan stasiun pengambilan sampel sebelumnya yang berasal dari muara Sungai Mas, hasil dari muara Sungai Wonokromo sedikit lebih rendah. hal ini dapat dikarenakan lokasi muara Sungai Wonokromo banyak terdapat tumbuhan mangrove, dimana fungsi dari tumbuhan mangrove sangatlah banyak diantaranya sebagai penyerap logam berat, penyaring sampah, menahan ombak, tempat berlindung ikan dan lain-lain. Muara

sungai Wonokromo merupakan lokasi wisata mangrove Wonorejo Ditempat ini banyak ditumbuhi pohon mangrove, sehingga air yang berasal dari daerah aliran sungai menuju muara ini dapat disari oleh mangrove. Sebagaimana dijelaskan oleh Wahyudewantoro dan Haryono (2013), fungsi dari mangrove diantaranya sebagai tempat pemijahan beberapa jenis biota akuatik, bersarangnya jenis burung migrant dan juga sebagai tempat habitat dari primate dan reptile. Wahyudewantoro (2009), kembali menjelaskan bahwa peran dari mangrove adalah sebagai pelindung pantai dari gelombang, angin dan berperan sebagai filter berbagai jenis polutan. Dengan adanya pohon mangrove, dapat memfilter air di muara yang biasanya sudah mengandung banyak bahan-bahan pencemar yang berasal dari daratan. Sehingga, ikan yang hidup di muara yang banyak ditumbuhi mangrove, tingkat kesetresan yang diakibatkan adanya bahan pencemar ataupun bahan organik berlebih dapat berkurang, karena bahan-bahan pencemar tersebut dapat disaring oleh mangrove.

Seperti halnya muara Sungai Mas, aliran sungai yang menuju Sungai Wonokoromo juga melewati pusat kota, sehingga juga tidak menutup kemungkinan bahwa badan sungai mendapat pengaruh dari segala aktivitas di tengah kota. Ditengah kota banyak terdapat pusat-pusat perbelanjaan, industri. Agustina *et al.*, (2012), menyatakan perubahan kualitas lingkungan dapat disebabkan oleh semakin pesatnya pertumbuhan penduduk dan pertumbuhan ekonomi yang ditandai dengan semakin meningkatnya kegiatan industri, pelabuhan dan limbah domestik perkotaan, kemudian limbah domestik dari kegiatan perkotaan juga sangat berpengaruh terhadap penurunan kualitas lingkungan sungai. Delgado (2007) dalam Agustina *et al.*, (2012), menyatakan bahwa aktivitas industri, limbah perkotaan di sepanjang perairan dapat memberikan dampak buruk terhadap perairan tersebut yang ditandai dengan

masuknya sejumlah beban pencemar termasuk, logam berat ke dalam lingkungan perairan yang menyebabkan terganggunya ekosistem dan degradasi lingkungan.

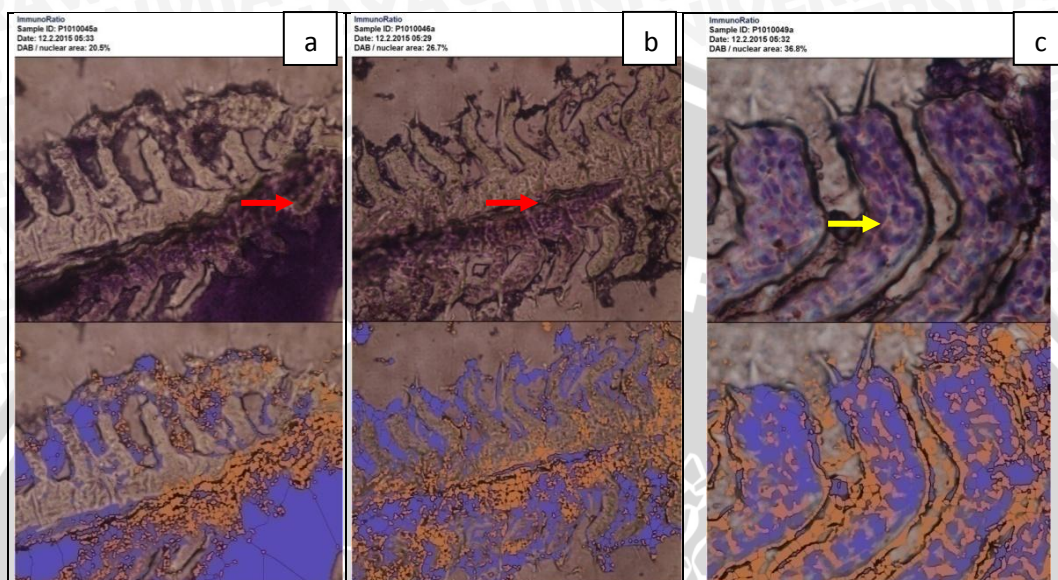
Menurut Agustina *et al.*, (2012), logam Pb, Cu dan Zn yang tinggi di perairan sungai Siak wilayah Kota Pekanbaru dapat berasal dari udara melalui hasil pembakaran bahan bakar fosil dari kegiatan transportasi dan industri yang cukup padat. Keadaan yang seperti inilah dampaknya mempengaruhi kehidupan ekosistem perairan di muara sungai. Dampak tersebut dapat membuat organisme (seperti Ikan keting) stres. Sehingga memaksa organisme harus tetap bertahan. Jika dalam tubuh Ikan keting berusaha untuk tetap menyesuaikan diri dengan lingkungan perairan yang terus menerus mendapat masukan bahan pencemar, maka dalam tubuhnya juga akan terus memproduksi protein *heat shock* 70 untuk menyeimbangkan proses dalam tubuhnya akibat adanya stres lingkungan. Hasil yang didapat dari metode immunohistokimia persentase HSP70 organ hati yang paling banyak mengekspresikan. Keadaan ini ditandai, banyaknya persentase yang terlihat pada gambar *immunoRatio* dengan keterikatan antara antigen-antibodi spesifik HSP70 yang ditandai dengan warna organe dan biru pada gambar (Lihat Gambar 26 untuk jaringan organ insang, Gambar 28 untuk jaringan organ jantung, Gambar 31 untuk jaringan organ hati dan Gambar 34 untuk jaringan ginjal).

4.3.3 Analisis HSP70 pada jaringan organ Ikan keting (*Mystus nigriceps*) di muara Sungai Porong

a. Insang

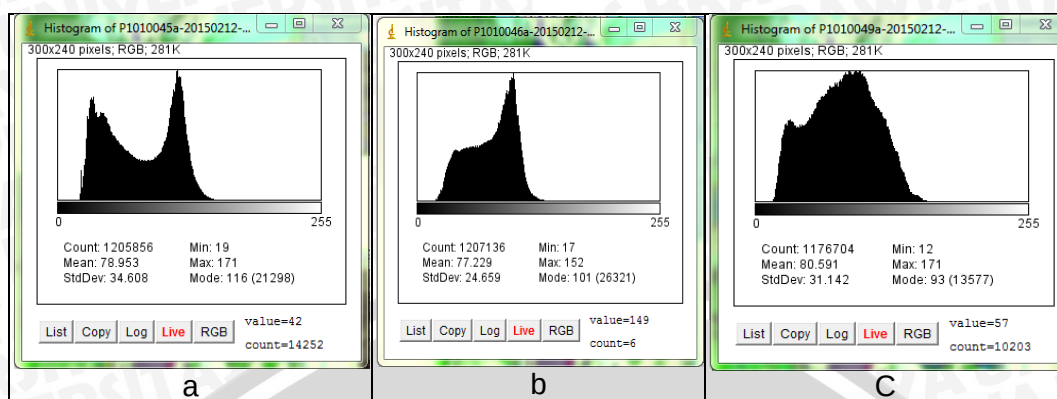
Insang merupakan organ yang langsung berinteraksi dengan lingkungan perairan saat ikan melakukan respirasi. Sehingga, zat terlarut yang ada dalam perairan akan mempengaruhi keadaan dari organ isang sendiri. Gambar dibawah

ini menunjukkan hasil immunohistokimia dari organ insang ikan keting yang berasal dari muara Sungai Porong (Pasuruan) menggunakan *software online immunoRatio* yang dapat dilihat pada Gambar 38:



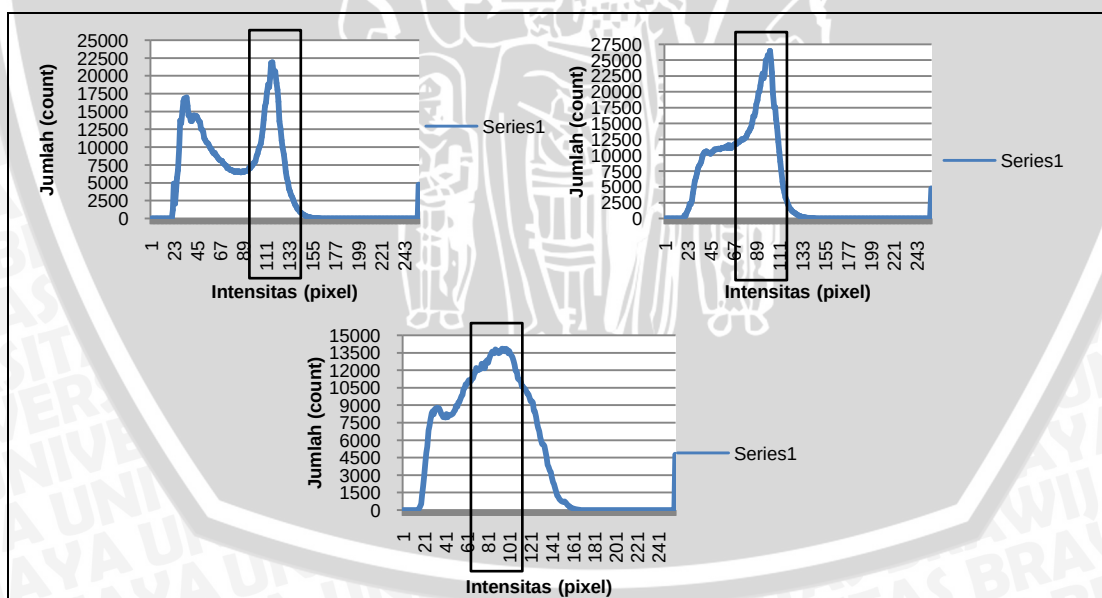
Gambar 38. Hasil pengamatan sampel insang ikan keting di muara Sungai Porong, dengan keterangan: (→) hiperplasia, (→) edema.

Gambar 38 menunjukkan hasil *immunoRatio* pada jaringan organ insang ikan keting di muara Sungai Porong dengan persentase DAB yang didapat sebesar 28 % yang didapatkan dari Gambar 38a sebesar 20,5 %, Gambar 38b sebesar 26,7 % dan Gambar 38c sebesar 36,8 %, Selain itu, kesetresan pada ikan keting juga dapat ditandai dengan adanya kerusakan pada jaringan organ seperti kerusakan dengan tipe hiperplasia dan edema. Sedangkan untuk grafik histogram menggunakan *software imageJ* pada jaringan organ insang ikan keting di muara Sungai Porong dapat dilihat pada Gambar 39. Gambar 39 adalah hasil *imageJ* dari insang ikan keting di muara Sungai Porong yang menunjukkan data secara kuantitatif melalui histogram nilai mean yang muncul pada gambar 39.



Gambar 39. Histogram dengan menggunakan *software imageJ* pada organ insang ikan keting di muara Sungai Porong.

Gambar 39a menunjukkan mean sebesar 78,953 dengan persentase DAB sebesar 20,5 %, Gambar 39b menunjukkan mean sebesar 77,229 dengan persentase DAB sebesar 26,7 % dan Gambar 39c menunjukkan mean sebesar 80,591 dengan persentase DAB sebesar 36,8 %. Model ekspresi HSP70 pada insang Ikan keting di muara Sungai Porong berdasarkan *software imageJ* dapat dilihat pada Gambar 40.



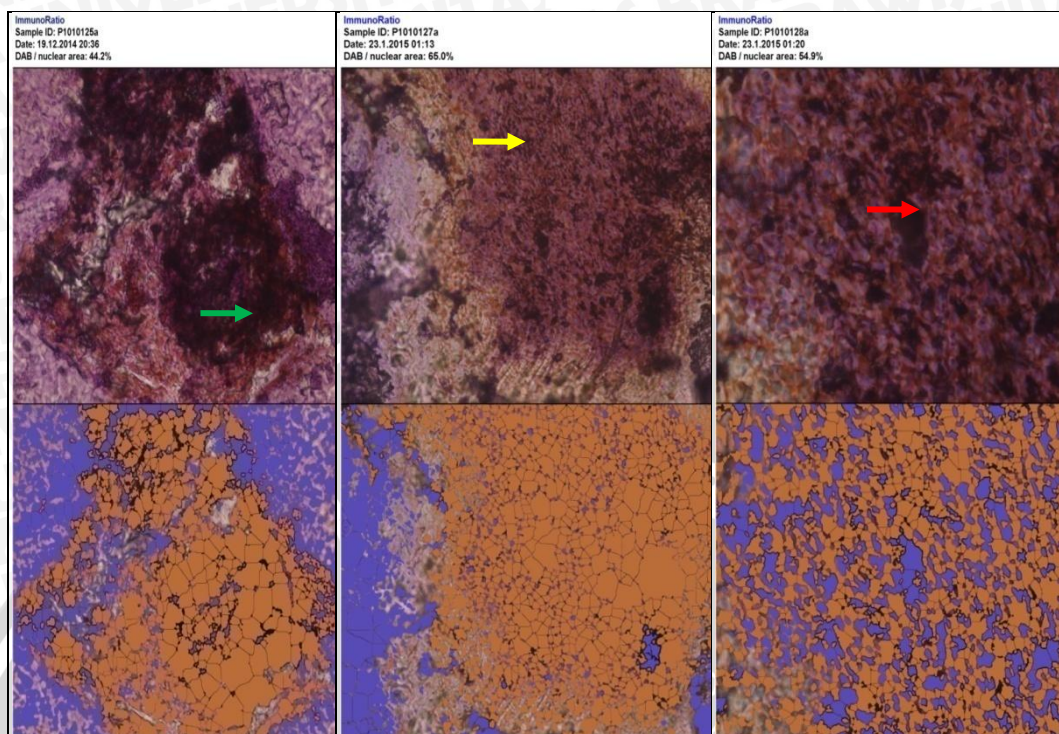
Gambar 40. Keterikatan antigen-antibodi dengan intensitas ekspresi HSP70 pada jaringan insang Ikan keting di muara Sungai Porong.

Gambar 40 menunjukkan keterikatan yang terjadi pada jaringan organ insang ikan keting di muara Sungai Porong dengan menunjukkan intensitas ekspresi

HSP70 yang muncul dari terjadinya ikatan antigen-antibodi. Gambar a, b dan c pada Gambar 40 merupakan tingkat kesetresan tertinggi yang terekspresi yaitu Gambar 40a menunjukkan kisaran intensitas yang positif, 40ambar b kisaran intensitas yang positif dan Gambar 40c menunjukkan kisaran intensitas yang positif. Sebagaimana dijelaskan oleh Varghese *et al.*, (2014), wilayah jaringan antara 0–60 merupakan positif kuat, kisaran intensitas untuk zona positif 61–120; 121–180 untuk zona positif lemah dan 181–235 untuk zona negatif sedangkan zona 235–255 tidak terlabel dikarenakan pada zona tersebut merupakan jaringan lemak yang tidak dapat menunjukkan terjadinya tingkatan ekspresi tertinggi. Kemudian rata-rata persentase ketiga gambar tersebut sebesar 28 %, Varghese *et al.*, (2014), memaparkan bahwa pola noda dikategorikan berdasarkan persentase sel yang ternoda yaitu > 75 % seragam; 25–75 % sedang dan 0–25 % langka. Artinya, pada jaringan organ insang Ikan keting di muara Sungai Porong positif terekspresi HSP70 dengan rata-rata sel yang terekspresi HSP70 adalah 28%.

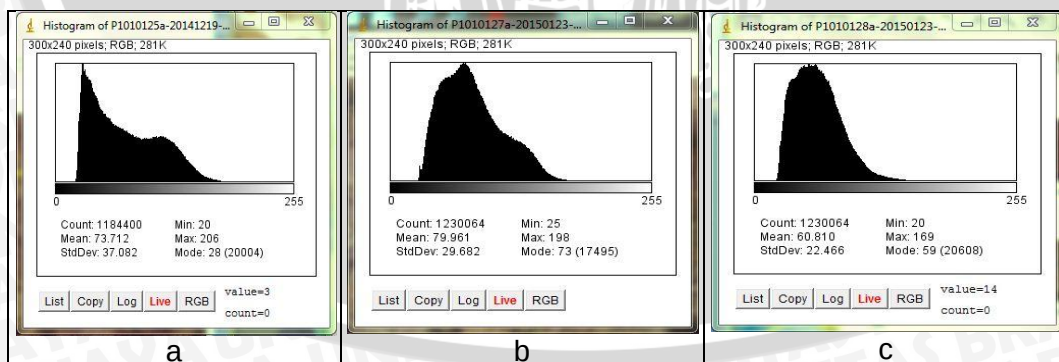
b. Jantung

Gambar dibawah ini menunjukkan hasil immunohistokimia organ jantung Ikan keting dari muara Sungai Porong (Pasuruan), Surabaya. Gambar 41 menunjukkan hasil *immunoRatio* pada organ jantung ikan keting di muara Sungai Porong. Ketiga gambar pada gambar 41 diatas mendapatlan hasil rata-rata 54.7 %. rata-rata tersebut dapat menunjukkan seberapa besar HSP70 yang terekspresi pada jaringan organ ikan keting di muara Sungai Porong. Gambar tersebut menunjukkan perbedaan warna coklat dan biru yang dapat diartikan bahwa HSP70 telah terekspresi pada organ, dapat dilihat pada Gambar 41.



Gambar 41. Hasil pengamatan sampel jantung ikan keting di muara Sungai Porong, dengan keterangan: (→) hyperplasia, (→) edema, (→) nekrosis.

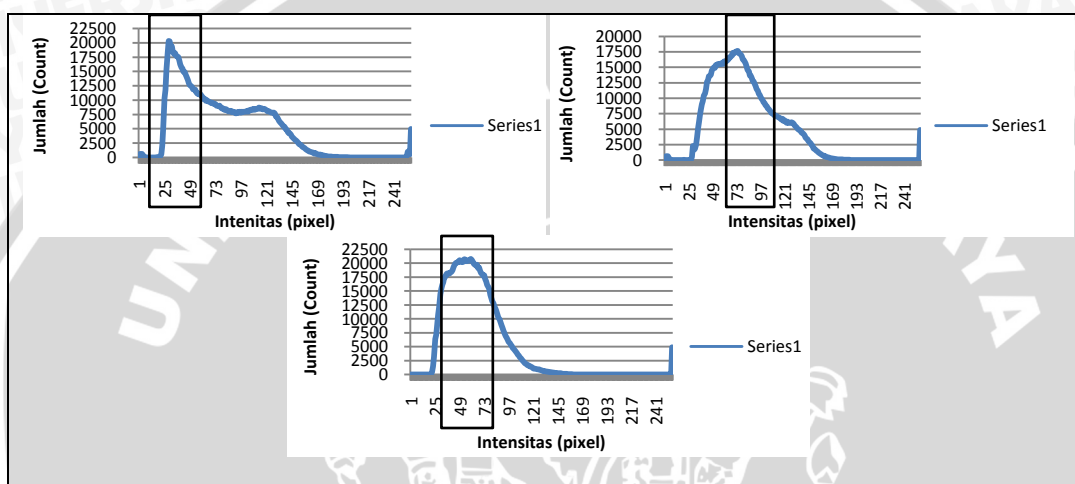
Selain itu, kesetresan yang muncul pada ikan keting juga dapat ditandai dengan adanya kerusakan pada jaringan organ seperti nekrosis, sedangkan untuk grafik histogram dengan menggunakan *software imageJ* dapat dilihat pada Gambar 42.



Gambar 42. Histogram dengan menggunakan *software imageJ* pada organ jantung ikan keting di muara Sungai Porong

Gambar 42 adalah hasil *imageJ* jaringan organ jantung Ikan keting di muara Sungai Porong yang menunjukkan data secara kuantitatif melalui histogram nilai

mean yang muncul. Gambar 42a menunjukkan mean sebesar 73,713 dengan persentase DAB sebesar 44,2 %, Gambar 42b menunjukkan mean sebesar 79,961 dengan persentase DAB sebesar 65,0 % dan Gambar 42c menunjukkan mean sebesar 60,810 dengan persentase DAB sebesar 54,9 %. Sedangkan untuk model ekspresi HSP70 pada jantung Ikan keting di muara Sungai Porong berdasarkan gambar dari *imageJ* pada Gambar 43.



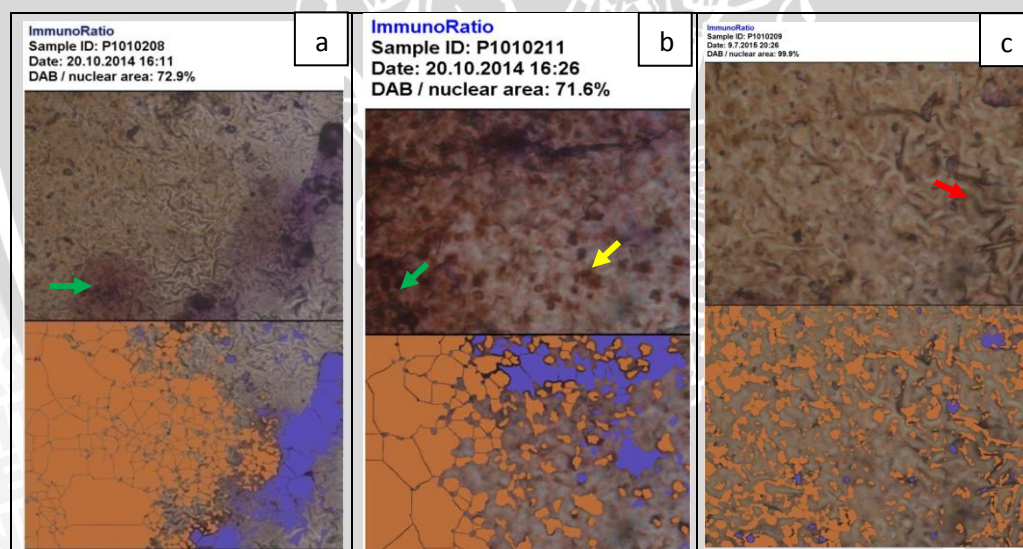
Gambar 43. Model ekspresi HSP70 dari keterikatan antigen-antibodi yang muncul pada organ jantung ikan keting di muara Sungai Porong.

Gambar 43 menunjukkan keterikatan yang terjadi pada jaringan organ jantung Ikan keting di muara Sungai Porong dengan menunjukkan intensitas DAB yang muncul dari terjadinya ikatan antigen-antibody. Gambar a, b dan c pada gambar 43 merupakan tingkat kesetresan tertinggi yang terekspresi dimana, Gambar 43a menunjukkan kisaran intensitas yang positif kuat, Gambar 43b menunjukkan kisaran intensitas yang positif dan Gambar 43c menunjukkan kisaran intensitas yang positif kuat. Menurut Varghese *et al.*, (2014), wilayah jaringan antara 0-60 merupakan positif kuat, kisaran intensitas untuk zona positif 61-120; 121-180 untuk zona positif lemah dan 181-235 untuk zona negatif sedangkan untuk zona 235-255 tidak terlabel dikarenakan biasanya pada zona tersebut merupakan jaringan lemak yang tidak dapat menunjukkan terjadinya

tingkatan ekspresi tertinggi. Kemudian rata-rata persentase DAB yang muncul dari ketiga gambar tersebut adalah 54,7 %, Varghese *et al.*, (2014) kembali memaparkan bahwa pola noda dikategorikan berdasarkan persentase sel yang ternoda yaitu > 75 % seragam; 25-75 % sedang dan 0-25 % langka. Artinya, pada jaringan organ jantung ikan keting di muara Sungai Porong positif kuat terekspresi HSP70 dengan rata-rata sel yang terekspresi HSP70 adalah 54,7%.

c. Hati

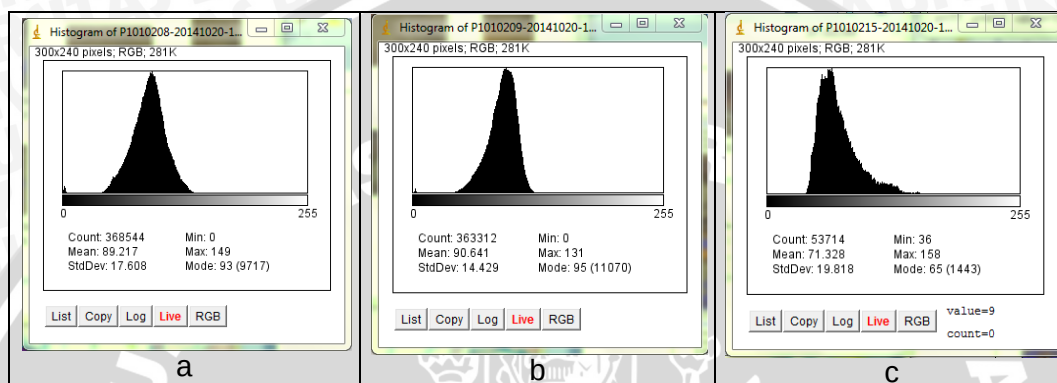
Gambar dibawah ini menunjukkan hasil immunohistokimia dari hati Ikan keting yang berasal dari muara Sungai Porong (Pasuruan). Gambar tersebut akan menunjukkan bahwa jika persentase warna coklat lebih tebal dan banyak, mengartikan bahwa hsp telah terekspresi pada jaringan internal jantung Ikan keting (*Mystus nigriceps*), dapat di lihat pada Gambar 44.



Gambar 44. Hasil pengamatan sampel hati ikan keting di muara Sungai Porong, dengan keterangan: (→) hyperplasia, (→) edema.

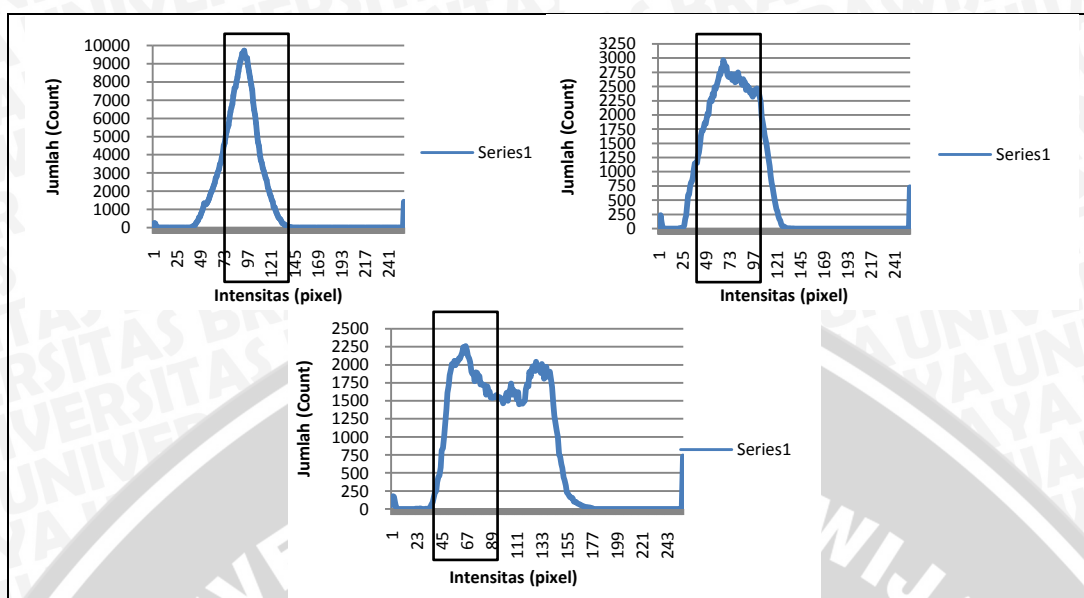
Gambar 44 menunjukkan hasil immunoratio pada hati ikan keting di muara Sungai Porong. Ketiga gambar pada gambar 44 diatas mendapatkan hasil rata-rata persentase DAB/Nuclear Area yang didapat sebesar 63,77%. Rata-rata tersebut dapat menunjukkan seberapa besar HSP70 yang telah terekspresi pada

jaringan organ hati ikan keting di muara Sungai Porong. Selain itu, kesetresan yang muncul pada Ikan keting juga dapat ditandai dengan adanya kerusakan pada jaringan organ seperti nekrosis, cloudy swelling. Sedangkan untuk grafik histogram dengan menggunakan *software imageJ* pada jaringan organ Ikan keting di muara Sungai Porong dapat dilihat Gambar 4.:



Gambar 45. Histogram dengan menggunakan *software imageJ* pada organ hati ikan keting di muara Sungai Porong

Gambar 45 adalah hasil *imageJ* jaringan organ hati ikan keting di muara Sungai Porong yang menunjukkan data secara kuantitatif melalui histogram nilai mean yang muncul pada gambar diatas. Gambar 45a menunjukkan mean sebesar 89,217 dengan persentase DAB sebesar 72,9%, Gambar 45b menunjukkan mean sebesar 90,541 dengan persentase DAB sebesar 71,6% dan Gambar 45c menunjukkan mean sebesar 71,328 dengan persentase DAB yang muncul sebesar 46,8%. Gambar 46 menunjukkan keterikatan yang terjadi pada jaringan organ hati Ikan keting di muara Sungai Porong dengan menunjukkan intensitas DAB yang muncul dari terjadinya ikatan antigen-antibody Sedangkan untuk model ekspresi HSP70 pada hati Ikan keting di muara Sungai Porong berdasarkan gambar dari *software imageJ* dapat dilihat pada Gambar 46.

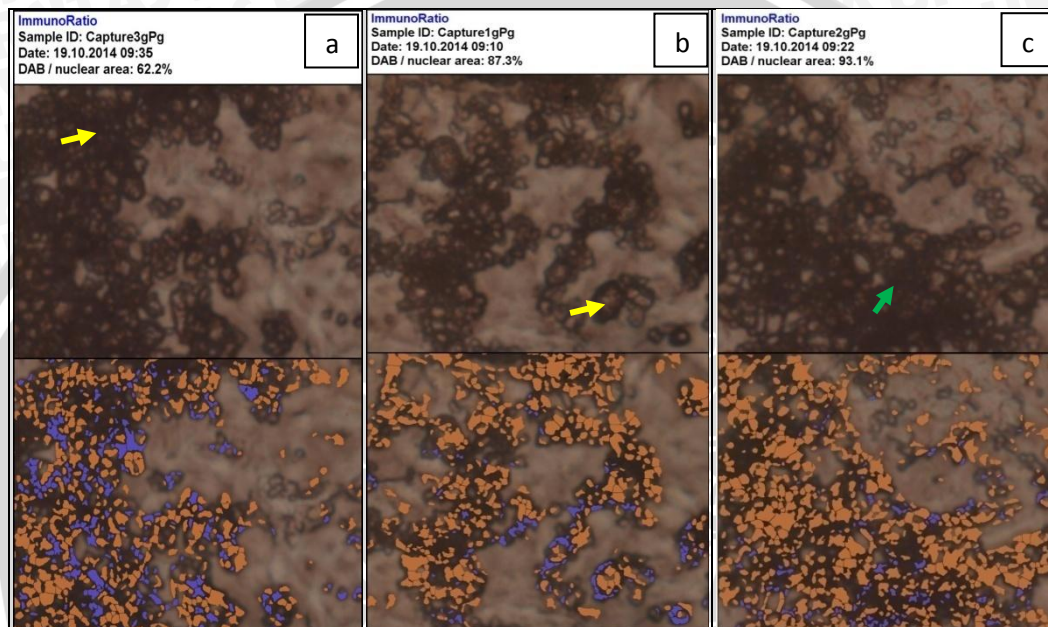


Gambar 46. Model ekspresi HSP70 dari keterikatan antigen-antibodi yang muncul pada organ hati ikan keting di muara Sungai Porong.

. Gambar a, b dan c pada Gambar 46 merupakan tingkat kesetresan tertinggi yang terekspresi dimana, Gambar 46a menunjukkan kisaran intensitas yang positif, Gambar 46b menunjukkan kisaran intensitas yang positif dan Gambar 46c menunjukkan kisaran intensitas yang positif. Menurut Varghese *et al.*, (2014), menyatakan bahwa wilayah jaringan antara 0-60 merupakan positif kuat, kisaran intensitas untuk zona positif 61-120; 121-180 untuk zona positif lemah dan 181-235 untuk zona negatif sedangkan untuk zona 235-255 tidak terlabel dikarenakan biasanya pada zona tersebut merupakan jaringan lemak yang tidak dapat menunjukkan terjadinya tingkatan ekspresi tertinggi. Kemudian rata-rata persentase DAB yang muncul dari ketiga gambar tersebut adalah 81,5%, Varghese *et al.*, (2014) kembali memaparkan bahwa pola noda dikategorikan berdasarkan persentase sel yang ternoda yaitu > 75 % seragam; 25-75 % sedang dan 0-25 % langka. Artinya, pada jaringan organ hati ikan keting di muara Sungai Porong positif terekspresi HSP70 dengan rata-rata sel yang terekspresi HSP70 adalah 81,5 %.

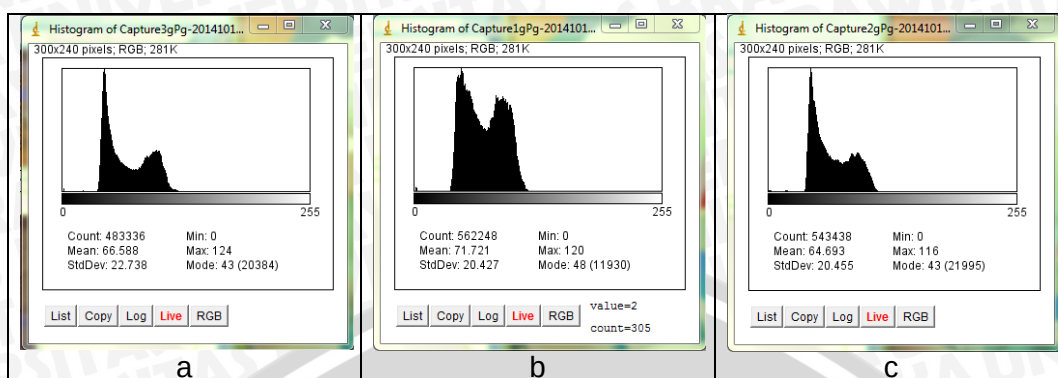
d. Ginjal

Gambar dibawah ini menunjukkan hasil immunohistokimi dari ginjal ikan keting yang berasal dari muara Sungai Porong (Pasuruan). Gambar tersebut akan menunjukkan bahwa jika persentase warna coklat lebih tebal dan banyak, mengartikan bahwa *hsp* telah terekspresi, dapat dilihat pada Gambar 47.



Gambar 47. Hasil pengamatan sampel ginjal ikan keting di muara Sungai Porong, dengan keterangan: (→) edema, (→) nekrosis.

Gambar 47 menunjukkan hasil *immunoRatio* pada jaringan organ ginjal ikan keting di muara Sungai Wonokromo, ketiga gambar pada Gambar 47 diatas mendapatkan hasil rata-rata persentase DAB/Nuclear Area sebesar 80,87%. Rata-rata tersebut dapat menunjukkan seberapa banyak HSP70 yang sudah terekspresi pada jaringan organ ginjal ikan keting di muara Sungai Porong. Selain itu, juga dapat ditandai dengan adanya kerusakan pada jaringan organ seperti kerusakan dengan tipe hiperplasia, edema, nekrosis, vakuola. Sedangkan grafik histogram menggunakan *software imageJ* pada jaringan organ ginjal Ikan keting di muara Sungai Porong dapat dilihat pada Gambar 48.

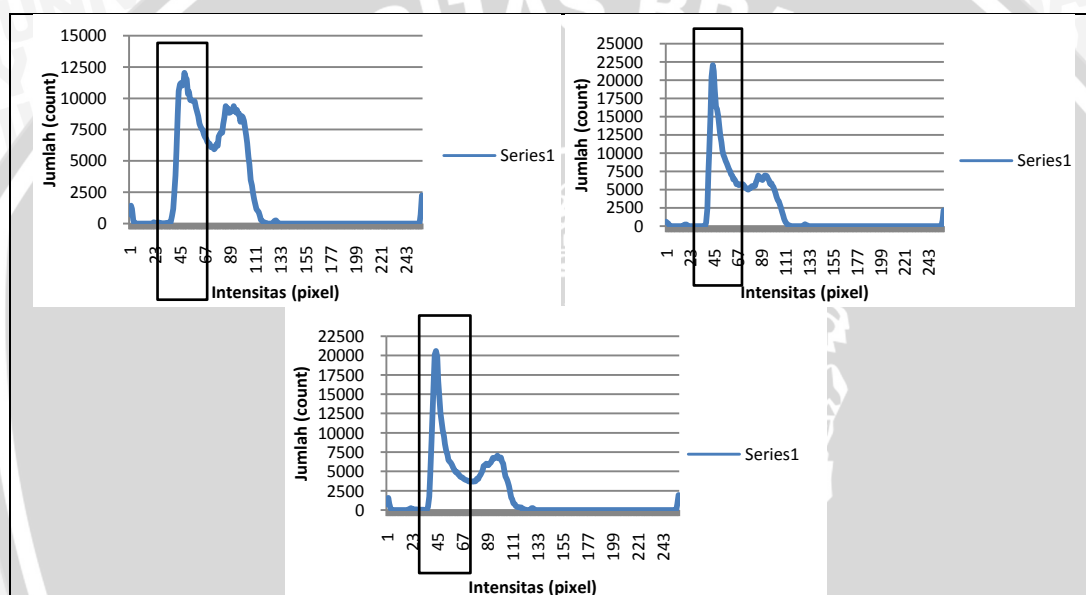


Gambar 48. Histogram dengan menggunakan *software imageJ* pada organ ginjal ikan keting di muara Sungai Porong.

Gambar 48 adalah hasil *imageJ* pada organ ginjal ikan kering di muara Sungai Porong yang menunjukkan data secara kuantitatif melalui histogram nilai mean yang muncul pada gambar 47 diatas. Gambar 48a menunjukkan mean sebesar 66,688 dengan persentase DAB sebesar 71,6 %, Gambar 48b menunjukkan mean sebesar 71,721 dengan persentase DAB sebesar 72,9 % dan Gambar 48c menunjukkan mean sebesar 64,693 dengan persentase DAB sebesar 81,5 %. Sedangkan untuk model ekspresi HSP70 pada organ ginjal Ikan keting di muara Sungai Porong berdasarkan *imageJ* apabila disajikan dalam bentuk grafik dapat dilihat pada Gambar 49.

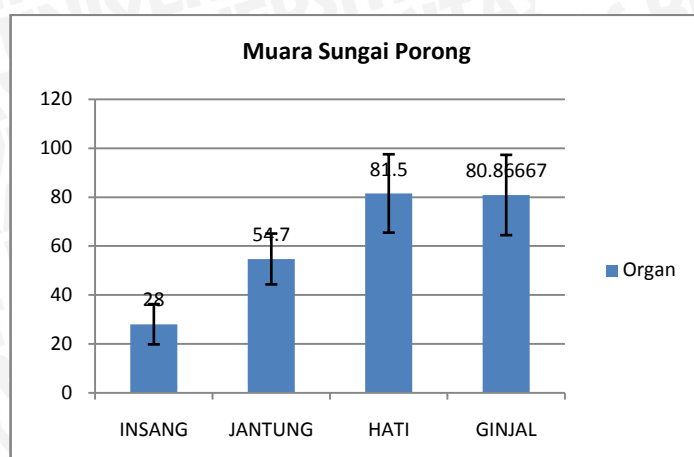
Gambar 49 menunjukkan keterikatan yang terjadi pada jaringan organ ginjal Ikan keting di muara Sungai Porong dengan menunjukkan intensitas DAB yang muncul dari terjadinya ikatan antigen-antibody. Gambar a, b dan c pada gambar 49 merupakan tingkat kesetresan tertinggi yang terekspresi dimana, Gambar 49a menunjukkan kisaran intensitas yang positif kuat, Gambar 49b menunjukkan kisaran intensitas yang positif kuat dan Gambar 49c menunjukkan kisaran intensitas yang positif kuat. Menurut Varghese *et al.*, (2014), wilayah jaringan antara 0-60 merupakan positif kuat, kisaran intensitas untuk zona positif 61-120; 121-180 untuk zona positif lemah dan 181-235 untuk zona negatif sedangkan untuk zona 235-255 tidak terlabel dikarenakan biasanya pada zona tersebut

merupakan jaringan lemak yang tidak dapat menunjukkan terjadinya tingkatan ekspresi tertinggi. Kemudian rata-rata persentase DAB yang muncul dari ketiga gambar tersebut adalah 80,87 %, Varghese *et al.*, (2014) kembali memaparkan bahwa pola noda dikategorikan berdasarkan persentase sel yang ternoda yaitu > 75 % seragam; 25-75 % sedang dan 0-25 % langka. Artinya, pada jaringan organ ginjal Ikan keting di muara Sungai Porong positif kuat terekspresi HSP70 dengan rata-rata sel yang terekspresi HSP70 80,87 %.



Gambar 49. Model ekspresi HSP70 dari keterikatan antigen-antibodi yang muncul pada jaringan organ ginjal ikan keting di muara Sungai Porong.

Berdasarkan hasil pengamatan pada keempat organ yang berasal dari muara Sungai Porong diatas, jaringan organ tersebut menunjukkan sudah adanya kerusakan pada sel jaringan organ. Hasil ini sudah dapat menunjukkan bahwa sudah ada stres terhadap ikan, hal ini juga dapat ditunjukkan dengan persentase yang muncul pada organ saat dilihat dengan *software immunoRatio* dengan organ yang paling tinggi terekspresi HSP70. Berikut grafik persentase rata-rata ekspresi HSP70 pada organ Ikan keting yang berasal dari muara Sungai Porong pada Gambar 50.



Tabel 12. Data kualitas air muara Sungai Porong.

Σ Kualitas Air	
pH	7
Suhu (⁰ c)	28,5
DO (Mg/l)	2,5
Salinitas (ppt)	4,5
BOD (Mg/l)	25,8
COD (Mg/l)	68,8
TOM (Mg/l)	87,22
TSS (Mg/l)	0,316

Gambar 50. Grafik rata-rata ekspresi HSP70 pada organ ikan keting di muara Sungai Porong.

Gambar 50 menunjukkan hasil persentase HSP70 pada jaringan organ ikan keting yang berasal dari muara Sungai Porong, dimana nilai rata-rata ekspresi HSP70 organ hati menunjukkan hasil yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan organ yang lain yaitu sebesar 81,5 % dengan standart deviasi sebesar 8,227393269. Sedangkan, nilai rata-rata ekspresi HSP70 organ insang sebesar 28% dengan standart deviasi sebesar 10,40144221, nilai rata-rata ekspresi HSP70 organ jantung sebesar 54,7 % dengan standart deviasi sebesar 16,03464998 dan nilai rata-rata ekspresi HSP70 organ ginjal sebesar 80,87% dengan satandard deviasi sebesar 16,42386475. Seperti pembahasan sebelumnya, bahwa tingginya persentase organ hati ini dapat diakibatkan karena fungsi dari organ hati sendiri merupakan tempat menyaring darah yang berasal dari aktivitas metabolisme tubuh. Sehingga diduga, segala zat-zat yang mengandung bahan toksik yang terlarut dalam darah seperti logam berat dapat tersaring dan tinggal di hati. Keberadaan zat toksik seperti logam berat dalam hati tentunya akan dapat merusak sistem kerja dari organ hati sendiri.

Jika dilihat dari lokasi muara Sungai Porong yang merupakan muara dari Sungai Porong yang merupakan jalur buangan lumpur PT. Lapindo Brantas (Prihanto, 2011), dapat diduga muara ini banyak mendapat beban bahan

pencemar dari daerah aliran sungainya. Akibat adanya buangan lumpur lapindo terjadi transport sedimen yang besar menuju estuary Sungai Porong (Sari *et al.*, 2013). Buangan lumpur lapindo ini mengandung bahan-bahan yang berbahaya antara lain logam berat (Pahlevi *et al.*, 2010). Keadaan lingkungan perairan yang seperti ini akan akan berdampak terhadap Ikan keting yang hidup di muara Sungai Porong. Samsundari dan Perwira (2011) melaporkan bahwa kandungan logam berat yang ada di air dari buangan lumpur lapindo kandungan Hg terukur 9,6–14 $\mu\text{g/g}$; Pb terukur 13,5-17 $\mu\text{g/g}$; Cd terukur 0,13 $\mu\text{g/g}$; Cr terukur 25-40 $\mu\text{g/g}$. sedangkan hasil pengukuran oleh Hidayati dan Widyanti (2007) dalam Samsundari dan Perwira (2011) menyebutkan bahwa hasil uji pendahuluan terhadap air lumpur lapindo diketahui mengandung Pb sebesar 3,08 ppm dan Fenol sebesar 1,56 ppm. Selain diakibatkan oleh keberadaan buangan lumpur lapindo, muara Sungai Porong ini juga mendapatkan pengaruh buangan limbah yang berasal dari industri/Pabrik yang ada disekitar Kabupaten Sidoarjo (Yuniar *et al.*, 2010) dalam Sari *et al.*, (2013) sehingga akan menabab sumber bahan pencemar ke daerah muara.

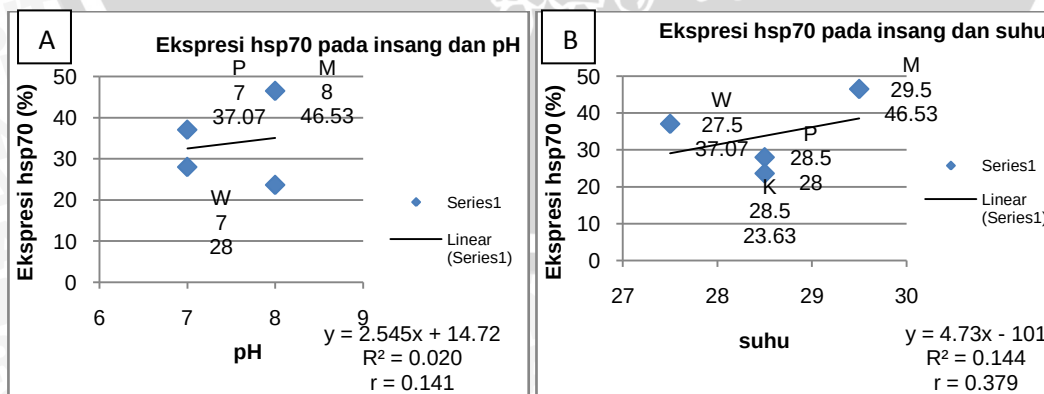
Tingkat stres pada ikan diduga diakibatkan oleh banyaknya masukan limbah industri ataupun lumpur lapido yang membawa banyak lumpur dan juga kandungan logam berat dan bahan organik yang tinggi pada perairan muara. ikan yang stres karena pencemaran lingkungan perairan akan berusaha menstabilkan keadaan tubuhnya untuk bertahan hidup. Produksi HSP70 akan dibentuk saat ikan ada di kondisi seperti ini. HSP70 akan dibentuk dalam sel-sel tubuh ikan. tingkatan HSP70 yang ada dalam jaringan organ Ikan keting dapat lihat dari hasil *immuoRatio*, gambar dari hasil jaringan organ insang (lihat Gambar 38), untuk jaringan organ jantung (lihat Gambar 41), untuk jaringan organ hati (lihat Gambar 44) dan untuk jaringan organ ginjal (lihat Gambar 47).

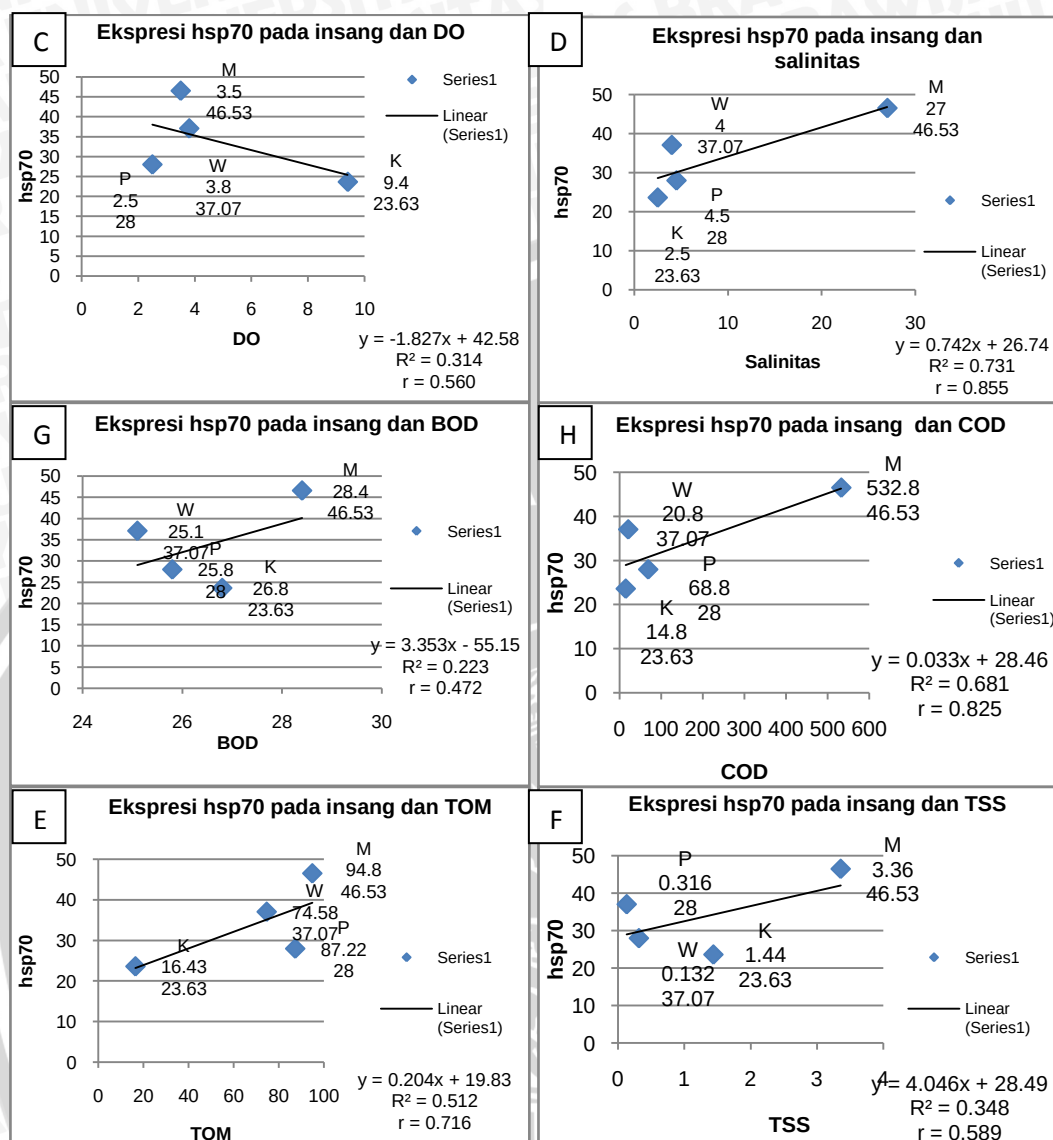
4.4 Hubungan antara kualitas air dan ekspresi HSP70 pada jaringan organ

Berikut adalah pembahasan mengenai hubungan antara ekspresi HSP70 pada jaringan organ dan kualitas air, dimana kualitas air mempengaruhi tinggi rendahnya ekspresi HSP70 yang muncul pada organ di setiap muara sungai tempat pengambilan sampel. Analisis yang digunakan adalah analisis korelasi yaitu suatu cara analisis data yang digunakan untuk menunjukkan ada atau tidaknya pengaruh variabel yang digunakan antara variabel bebas (x) dan variabel terikat (y). Selain itu, juga untuk menganalisis regresi dimana cara ini digunakan untuk menganalisis data yang menunjukkan seberapa besar pengaruh variabel-variabel tersebut jika dihubungkan. Selanjutnya hubungan tiap organ dan tiap parameter kualitas air di empat muara pengambilan sampel dapat dilihat pada pembahasan berikut:

4.4.1 Hubungan kualitas air dengan insang pada setiap muara

Gambar dibawah ini menunjukkan hubungan antara kualitas air terhadap insang dimana, faktor x sebagai variabel bebas adalah kualitas air dan faktor y sebagai variabel terikat adalah ekspresi HSP70 pada setiap muara pengambilan sampel. Dalam artian, kualitas air mempengaruhi tinggi rendahnya ekspresi HSP70, grafik tersebut dapat dilihat pada Gambar 51.





Gambar 51. Grafik hubungan antara ekspresi HSP70 pada insang ikan keting dan kualitas air pada empat lokasi pengambilan sampel

Gambar 51A menunjukkan hubungan antara pH air mempengaruhi ekspresi HSP70 pada jaringan insang ikan keting di empat lokasi pengambilan sampel. Dimana, persamaan linear $y = 2,545x + 14,72$ mempunyai nilai Koefisien determinasi (KD) $R^2 = 0,141$. Persamaan y mengartikan bahwa y fungsi x. Artinya, jika y adalah tinggi rendahnya HSP70 yang muncul dan fungsi x adalah pH, maka nilai HSP70 bergantung pada pH.

Nilai 2,545x disebut juga slope yang menentukan arah regresi linier. Nilai slope diatas positif yang menunjukkan hubungan positif, artinya semakin tinggi

nilai x maka semakin besar nilai y nya. Slope ini juga menunjukkan pendugaan laju peningkatan ekspresi HSP70 saat pH-nya juga naik. Jadi, pendugaan peningkatan nilai HSP70 akan meningkat sebanyak 14.72. Nilai 0.020 disebut juga *intercept*. Dalam hal ini *intercept* mengartikan bahwa pada nilai $x=0$, maka nilai HSP70 adalah 0,020 atau *intercept* mengartikan nilai awal perhitungan x .

Diketahui KD pada gambar tersebut sebesar 0.020, dengan mengakarkan nilai 0.020 didapatkan hasil 0.141. Hasil pengakaran tersebut merupakan koefisien korelasinya. Artinya, keeratan korelasi antara ekspresi HSP70 dan pH sebesar 0.141. Nilai KF 0.141 termasuk pada kategori sangat rendah. jadi, korelasi antara pH terhadap terekspresinya HSP70 sangat rendah atau pengaruh pH terhadap HSP70 sangat rendah yang ketentuannya menurut Sudjana (1982), 0,00–0,199 sangat rendah; 0,20–0,399 rendah; 0,40–0,599 cukup; 0,60–0,799 kuat dan 0,80–1,000 sangat kuat. Kemudian, KD sebesar 0,2 artinya sebanyak 0,2% perubahan HSP70 dipengaruhi pH. Sedangkan sisanya sebesar 99,8 % merupakan faktor lain diluar variabel bebasnya.

Gambar 51 B diatas menunjukkan hubungan antara suhu air mempengaruhi terekspresinya HSP70 pada jaringan insang ikan keting di 4 lokasi pengambilan sampel. Dimana, persamaan linear $y = 4,73x - 101$ yang mempunyai nilai Koefisien determinasi (KD) $R^2 = 0,144$. Persamaan y mengartikan bahwa y fungsi x . Artinya, jika y adalah tinggi rendahnya HSP70 yang muncul dan fungsi x adalah suhu, maka nilai HSP70 bergantung pada suhu.

Nilai $4,73x$ disebut juga slope yang menentukan arah regresi linier. Dalam hal ini, karena nilai slope nya positif maka menunjukkan hubungan yang positif, yang artinya semakin tinggi nilai x maka semakin besar pula nilai y nya. Slope ini juga menunjukkan pendugaan laju peningkatan HSP70 saat suhunya juga naik. Jadi, pendugaan peningkatan nilai HSP70 akan meningkat sebanyak 101. Nilai

0,144 disebut juga *intercept*. Dalam hal ini *intercept* mengartikan bahwa pada nilai $x=0$, maka nilai HSP70 adalah sebesar 0,144, atau *intercept* mengartikan nilai awal perhitungan x .

Diketahui KD pada gambar tersebut sebesar 0,144, dengan mengakarkan nilai 0,144 didapatkan hasil 0.379. Hasil pengakaran tersebut merupakan koefisien korelasinya. Artinya, keeratan korelasi antara ekspresi HSP70 dan suhu sebesar 0.379. Nilai KF 0.379 termasuk pada kategori cukup. Jadi, korelasi antara suhu terhadap terekspresinya HSP70 rendah atau pengaruh suhu terhadap HSP70 rendah yang ketentuannya Sudjana (1982) menyatakan 0,00–0,199 sangat rendah; 0,20–0,399 rendah; 0,40–0,599 cukup; 0,60–0,799 kuat dan 0,80–1,000 sangat kuat. Kemudian, KD sebesar 0,144 artinya sebanyak 14,4% perubahan HSP70 dipengaruhi suhu. Sedangkan sisanya sebesar 85,6% merupakan faktor lain diluar variabel bebasnya.

Gambar 51C diatas menunjukkan hubungan antara DO air mempengaruhi terekspresinya HSP70 pada jaringan insang Ikan keting di 4 lokasi pengambilan sampel. Dimana, persamaan linear $y = -1,827x + 42,58$ yang mempunyai nilai Koefisien determinasi (KD) $R^2 = 0,314$. Persamaan y mengartikan bahwa y fungsi x . Artinya, jika y adalah tinggi rendahnya ekspresi HSP70 dan fungsi x adalah DO, maka nilai HSP70 bergantung pada DO.

Nilai $-1,827x$ disebut juga slope yang menentukan arah regresi linier. Dalam hal ini, karena nilai slope nya negatif maka menunjukkan hubungan yang negatif, yang artinya semakin tinggi nilai x maka semakin rendah pula nilai y nya. Slope ini juga menunjukkan pendugaan laju peningkatan HSP70 saat DONya juga rendah. Jadi, pendugaan peningkatan nilai HSP70 akan meningkat sebanyak 42,58. Nilai 0,314 disebut juga *intercept*. Dalam hal ini *intercept* mengartikan

bahwa pada nilai $x = 0$, maka nilai HSP70 adalah sebesar 0,314, atau *intercept* mengartikan nilai awal perhitungan x .

Diketahui KD pada gambar tersebut sebesar 0,314, dengan mengakarkan nilai 0,314 didapatkan hasil 0,560. Hasil pengakaran tersebut merupakan koefisien korelasinya. Artinya, keeratan korelasi antara ekspresi HSP70 dan DO sebesar 0,560. Nilai KF 0,560 termasuk pada kategori cukup. Jadi, korelasi antara DO terhadap terekspresinya HSP70 cukup atau pengaruh DO terhadap terekspresinya HSP70 berkorelasi cukup yang diperkuat oleh Sudjana (1982) menyatakan 0,00–0,199 sangat rendah; 0,20–0,399 rendah; 0,40–0,599 cukup; 0,60–0,799 kuat dan 0,80–1,000 sangat kuat. Kemudian, KD sebesar 0,314 artinya sebanyak 31,4% perubahan HSP70 dipengaruhi DO. Sedangkan sisanya sebesar 68,6% merupakan faktor lain diluar variabel bebasnya.

Gambar 51D diatas menunjukkan hubungan antara salinitas air mempengaruhi ekspresi HSP70 pada insang Ikan keting di empat lokasi pengambilan sampel. Dimana, persamaan linear $y = 0,742x + 26,74$ yang mempunyai nilai Koefisien determinasi (KD) $R^2 = 0,731$. Persamaan y mengartikan bahwa y fungsi x . Artinya, jika y adalah tinggi rendahnya HSP70 yang muncul dan fungsi x adalah salinitas, maka nilai HSP70 bergantung pada salinitas.

Nilai $0,742x$ disebut juga slope yang menentukan arah regresi linier. Dalam hal ini, karena nilai slopenya positif maka menunjukkan hubungan yang positif, artinya semakin tinggi nilai x maka semakin besar pula nilai y nya. Slope juga menunjukkan pendugaan laju peningkatan HSP70 saat salinitasnya juga naik. Jadi, pendugaan peningkatan nilai HSP70 akan meningkat sebanyak 26,74. Nilai 0,731 disebut juga *intercept* yang mengartikan bahwa pada nilai $x = 0$, maka nilai HSP70 sebesar 0,731, atau *intercept* mengartikan nilai awal perhitungan x .

Diketahui KD sebesar 0,731, dengan mengakarkan nilai 0,731 didapatkan hasil 0,855. Hasil pengakaran tersebut merupakan koefisien korelasi. Artinya, keeratan korelasi ekspresi HSP70 dan salinitas sebesar 0,855. Nilai KF 0,855 termasuk kategori sangat kuat. Jadi, korelasi salinitas terhadap terekspresinya HSP70 sangat kuat atau pengaruh salinitas terhadap HSP70 sangat kuat, ketentuannya menurut Sudjana (1982), jika 0,00–0,199 sangat rendah; 0,20–0,399 rendah; 0,40–0,599 cukup; 0,60–0,799 kuat dan 0,80–1,000 sangat kuat. Kemudian, KD 0,731 artinya, sebanyak 73,1 % perubahan HSP70 dipengaruhi salinitas. Sedangkan sisanya sebesar 26,9 % merupakan faktor lain diluar variabel bebasnya.

Gambar 51 E diatas menunjukkan hubungan antara BOD air mempengaruhi ekspresi HSP70 pada insang Ikan keting di empat lokasi pengambilan sampel. Dimana, persamaan linear $y = 3,353x - 55,15$ mempunyai nilai Koefisien determinasi (KD) $R^2 = 0,223$. Persamaan y mengartikan bahwa y fungsi x. Artinya, jika y adalah tinggi rendahnya HSP70 yang muncul dan fungsi x adalah BOD, maka nilai HSP70 bergantung pada BOD.

Nilai $3,353x$ disebut juga *slope* menentukan arah regresi linier. Nilai slopenya positif maka menunjukkan hubungan yang positif, artinya semakin tinggi nilai x maka semakin besar pula nilai y nya. Slope juga menunjukkan pendugaan laju peningkatan HSP70 saat BODnya juga naik. Jadi, pendugaan peningkatan nilai HSP70 akan meningkat sebanyak 55,15. Nilai 0,223 disebut juga *intercept*, mengartikan bahwa pada nilai $x = 0$, maka nilai HSP70 adalah sebesar 0,223 atau *intercept* mengartikan nilai awal perhitungan x.

Diketahui KD pada gambar tersebut sebesar 0,223, dengan mengakarkan nilai 0,223 didapatkan hasil 0,472. Hasil pengakaran tersebut merupakan koefisien korelasinya. Artinya, keeratan korelasi antara ekspresi HSP70 dan BOD

sebesar 0,472. Nilai KF 0,472 termasuk pada kategori cukup. Jadi, korelasi antara BOD terhadap terekspresinya HSP70 cukup atau pengaruh BOD terhadap HSP70 cukup yang ketentuannya Sudjana (1982) menyatakan 0,00-0,199 sangat rendah; 0,20–0,399 rendah; 0,40–0,599 cukup; 0,60–0,799 kuat dan 0,80-1,000 sangat kuat. Kemudian, KD sebesar 0,223 artinya sebanyak 22,3 % perubahan HSP70 dipengaruhi BOD. Sedangkan sisanya sebesar 77,7 % merupakan faktor lain diluar variabel bebasnya.

Gambar 51F menunjukkan hubungan antara COD air yang mempengaruhi terekspresinya HSP70 pada jaringan insang Ikan keting di empat lokasi pengambilan sampel. Dimana, persamaan linear $y = 0,033x + 28,46$ yang mempunyai nilai Koefisien determinasi (KD) $R^2 = 0,681$. Persamaan y mengartikan bahwa y fungsi x. Artinya, jika y adalah tinggi rendahnya ekspresi HSP70 yang muncul dan fungsi x adalah COD, maka nilai HSP70 bergantung pada COD.

Nilai $0,033x$ disebut juga slope yang menentukan arah regresi linier. Dalam hal ini, karena nilai slopenya positif maka menunjukkan hubungan yang positif, yang artinya semakin tinggi nilai x maka semakin besar pula nilai y nya. Slope ini juga menunjukkan pendugaan laju peningkatan HSP70 saat COD-nya juga turun. Jadi, pendugaan peningkatan nilai HSP70 akan meningkat sebanyak 28,46. Nilai 0,681 disebut juga *intercept*. Dalam hal ini *intercept* mengartikan bahwa pada nilai $x = 0$, maka nilai HSP70 adalah sebesar 0,681, atau *intercept* mengartikan nilai awal perhitungan x.

Diketahui $KD = 0,681$ dan diakarkan mendapatkan hasil 0,825. Hasil pengakaran tersebut merupakan koefisien korelasi. Artinya, keeratan korelasi ekspresi HSP70 dan COD sebesar 0,825. Nilai KF 0,825 termasuk kategori sangat kuat. Jadi, korelasi antara COD terhadap ekspresi HSP70 sangat kuat

atau pengaruh COD terhadap HSP70 sangat kuat yang ketentuannya Sudjana (1982) menyatakan 0,00-0,199 sangat rendah; 0,20-0,399 rendah; 0,40-0,599 cukup; 0,60-0,799 kuat dan 0,80-1,000 sangat kuat. Kemudian, KD sebesar 0,681 artinya sebanyak 68,1 % perubahan HSP70 dipengaruhi COD. Sedangkan sisanya sebesar 31,9 % merupakan faktor lain diluar variabel bebasnya.

Gambar 51 G menunjukkan hubungan antara TOM air mempengaruhi terekspresinya HSP70 pada jaringan insang Ikan keting di empat lokasi pengambilan sampel. Dimana, persamaan linear $y = 0,204x + 19,83$ yang mempunyai nilai Koefisien determinasi (KD) $R^2 = 0,512$. Persamaan y mengartikan bahwa y fungsi x . Artinya, jika y adalah tinggi rendahnya ekspresi HSP70 yang muncul dan fungsi x adalah TOM, maka nilai HSP70 bergantung pada TOM.

Nilai $0,204x$ disebut juga slope yang menentukan arah regresi linier. Dalam hal ini, karena nilai slope-nya positif maka menunjukkan hubungan yang positif, yang artinya semakin tinggi nilai x maka semakin besar pula nilai y nya. Slope ini juga menunjukkan pendugaan laju peningkatan HSP70 saat TOM-nya juga naik. Jadi, pendugaan peningkatan nilai HSP70 akan meningkat sebanyak 19,83. Nilai 0,512 disebut juga *intercept*. Dalam hal ini *intercept* mengartikan bahwa pada nilai $x = 0$, maka nilai HSP70 adalah sebesar 0,512 atau *intercept* mengartikan nilai awal perhitungan x .

Diketahui KD pada gambar tersebut sebesar 0.512, dengan mengakarkan nilai 0,512 didapatkan hasil 0,716. Hasil pengakaran tersebut merupakan koefisien korelasinya. Artinya, keeratan korelasi antara ekspresi HSP70 dan TOM sebesar 0,716. Nilai KF 0,716 termasuk pada kategori kuat. Jadi, korelasi antara Y terhadap terekspresinya HSP70 cukup kuat atau pengaruh TOM terhadap HSP70 kuat yang ketentuannya Sudjana (1982) menyatakan 0,00-

0,199 sangat rendah; 0,20–0,399 rendah; 0,40–0,599 cukup; 0,60–0,799 kuat dan 0,80–1,000 sangat kuat. Kemudian, KD sebesar 0,512 artinya sebanyak 51,2 % perubahan HSP70 dipengaruhi TOM. Sedangkan sisanya sebesar 48,8 % merupakan faktor lain diluar variabel bebasnya.

Gambar 51 H menunjukkan hubungan antara TSS air mempengaruhi terekspresinya HSP70 pada jaringan insang Ikan keting di 4 lokasi pengambilan sampel. Dimana, persamaan linear $y = 4,046x + 28,49$ yang mempunyai nilai Koefisien determinasi (KD) $R^2 = 0,348$. Persamaan y mengartikan bahwa y fungsi x . Artinya, jika y adalah tinggi rendahnya ekspresi HSP70 yang muncul dan fungsi x adalah TSS, maka nilai HSP70 bergantung pada TSS.

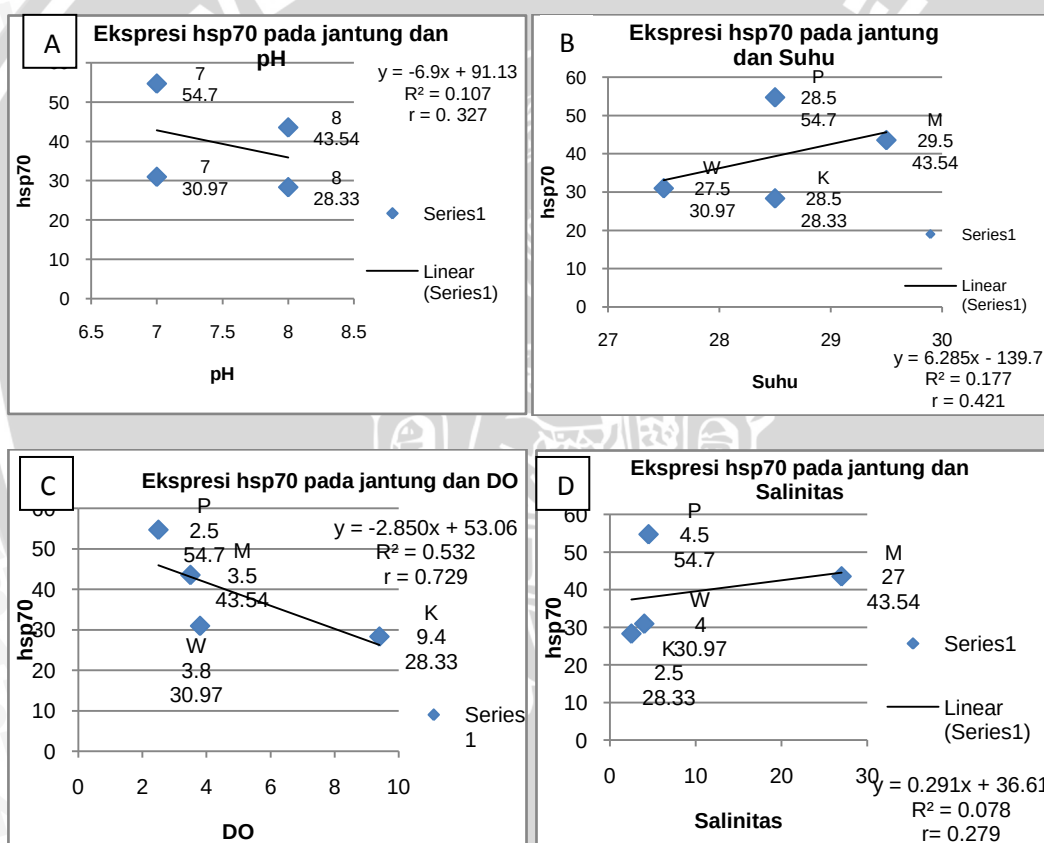
Nilai $4,046x$ disebut juga slope yang menentukan arah regresi linier. Dalam hal ini, karena nilai slope nya positif maka menunjukkan hubungan yang positif, yang artinya semakin tinggi nilai x maka semakin besar pula nilai y nya. Slope ini juga menunjukkan pendugaan laju peningkatan HSP70 saat TSS-nya juga naik. Jadi, pendugaan peningkatan nilai HSP70 akan meningkat sebanyak 28,49. Nilai 0,348 disebut juga *intercept*. Dalam hal ini *intercept* mengartikan bahwa pada nilai $x = 0$, maka nilai HSP70 adalah sebesar 0,348, atau *intercept* mengartikan nilai awal perhitungan x .

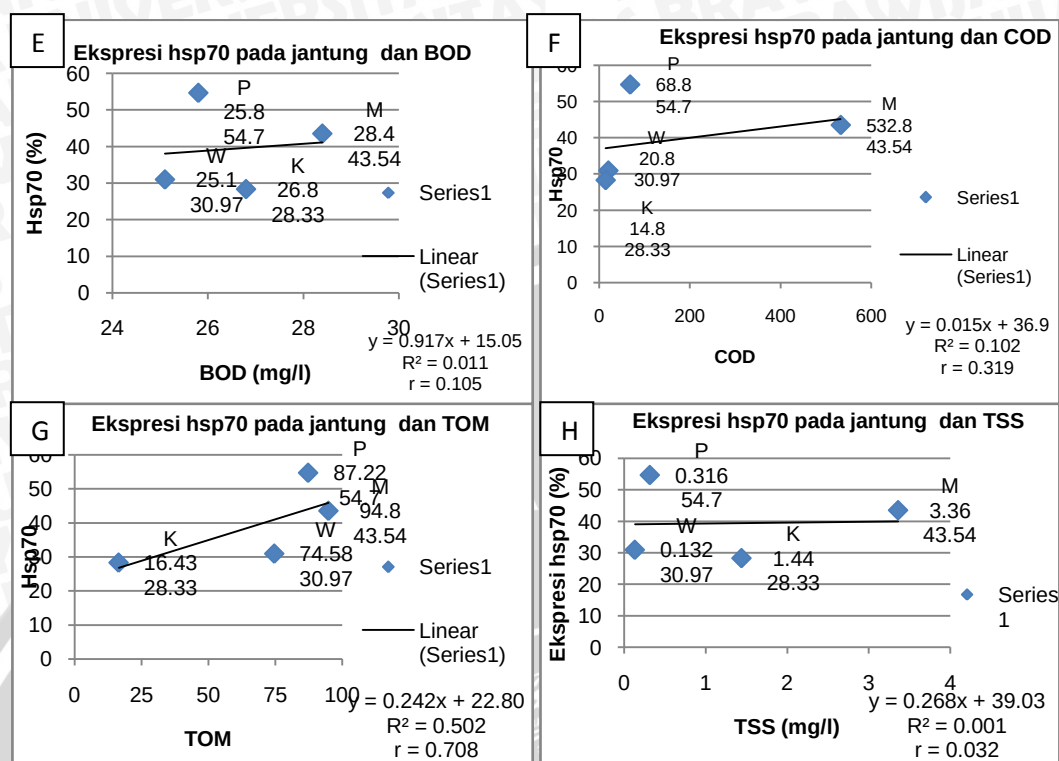
Diketahui KD pada gambar tersebut sebesar 0,348, dengan mengakarkan nilai 0,348 didapatkan hasil 0,589. Hasil pengakaran tersebut merupakan koefisien korelasinya. Artinya, keeratan korelasi antara ekspresi HSP70 dan TSS sebesar 0,589. Nilai KF 0,589 termasuk pada kategori TSS cukup. Jadi, korelasi antara Y terhadap terekspresinya HSP70 cukup atau pengaruh TSS terhadap HSP70 kuat yang ketentuannya Sudjana (1982) menyatakan 0,00–0,199 sangat rendah; 0,20–0,399 rendah; 0,40–0,599 cukup; 0,60–0,799 kuat dan 0,80–1,000 sangat kuat. Kemudian, KD sebesar 0,348 artinya sebanyak 34,8 % perubahan

HSP70 dipengaruhi TSS. Sedangkan sisanya sebesar 65,2 % merupakan faktor lain diluar variabel bebasnya.

4.4.2 Hubungan kualitas air dengan hati pada setiap muara

Gambar dibawah ini menunjukkan hubungan antara kualitas air terhadap hati dimana, faktor x sebagai variabel bebas adalah kualitas air dan faktor y sebagai variabel terikat adalah ekspresi HSP70 pada setiap muara pengambilan sampel. Dalam artian, kualitas air mempengaruhi tinggi rendahnya ekspresi HSP70, grafik tersebut dapat dilihat pada Gambar 52.





Gambar 52: Grafik hubungan kualitas air dengan ekspresi HSP70 pada organ hati Ikan keting (*Mystus nigriceps*).

Gambar 52 A diatas menunjukkan hubungan antara pH air yang mempengaruhi ekspresi HSP70 pada jaringan hati Ikan keting di empat lokasi pengambilan sampel. Dimana, persamaan $y = -16,91x + 183,7$ yang mempunyai nilai koefisien determinasi (KD) $R^2 = 0,235$. Persamaan y mengartikan bahwa fungsi x yang artinya, jika y adalah tinggi rendahnya ekspresi HSP70 yang muncul dan fungsi x adalah pH jadi, nilai HSP70 bergantung pada pH.

Nilai $-16,91x$ disebut juga slope yang menentukan arah regresi linear. Dalam hal ini, karena nilai slopenya negatif, maka menunjukkan hubungan yang negatif, yang artinya semakin tinggi nilai x maka semakin rendah nilai y nya. Slope ini juga menunjukkan pendugaan laju peningkatan HSP70 saat pH-nya naik. Jadi, pendugaan peningkatan nilai HSP70 akan meningkat sebanyak 183,7. Nilai 0,235 disebut juga *intercept* yang mengartikan bahwa pada nilai $x = 0$, maka nilai HSP70 sebesar 0,235 atau *intercept* mengartikan nilai awal perhitungan x.

Diketahui KD pada gambar tersebut sebesar 0,235, dengan mengakarkan nilai 0,235 didapatkan hasil 0,485. Hasil pengakaran tersebut merupakan koefisien korelasinya. Artinya, keeratan korelasi antara ekspresi HSP70 dan pH sebesar 0,485. Nilai KF 0,485 termasuk pada kategori cukup. Jadi, korelasi antara pH terhadap terekspresinya HSP70 di organ hati cukup atau pengaruh pH terhadap HSP70 cukup, yang diperkuat oleh Sudjana (1982) menyatakan 0,00–0,199 sangat rendah; 0,20–0,399 rendah; 0,40–0,599 cukup; 0,60–0,799 kuat dan 0,80–1,000 sangat kuat. Kemudian, KD sebesar 0,235 artinya sebanyak 23,5 % perubahan HSP70 dipengaruhi pH. Sedangkan sisanya sebesar 76,5 % merupakan faktor lain diluar variabel bebasnya.

Gambar 52 B diatas menunjukkan hubungan antara suhu air yang mempengaruhi terekspresinya HSP70 pada jaringan hati Ikan keting di empat lokasi pengambilan sampel. Dimana, persamaan $y = 6,75x - 135,4$ yang mempunyai nilai koefisien determinasi (KD) $R^2 = 0,075$. Persamaan y mengartikan bahwa fungsi x yang artinya, jika y adalah tinggi rendahnya ekspresi HSP70 yang muncul dan fungsi x adalah suhu jadi, nilai HSP70 bergantung pada suhu.

Nilai $6,75x$ disebut juga slope yang menentukan arah regresi linear. Dalam hal ini, karena nilai slopenya positif, maka menunjukkan hubungan yang positif, yang artinya semakin tinggi nilai x maka semakin tinggi pula nilai y nya. Slope ini juga menunjukkan pendugaan laju peningkatan HSP70 saat suhunya naik. Jadi, pendugaan peningkatan nilai HSP70 akan meningkat sebanyak 135,4. Nilai 0,075 disebut juga *intercept* yang mengartikan bahwa pada nilai $x = 0$, maka nilai HSP70 sebesar 0,075 atau *intercept* mengartikan nilai awal perhitungan x.

Diketahui KD pada gambar tersebut sebesar 0,075, dengan mengakarkan nilai 0,075 didapatkan hasil 0,274. Hasil pengakaran tersebut merupakan

koefisien korelasinya. Artinya, keeratan korelasi antara ekspresi HSP70 dan suhu sebesar 0,274. Nilai KF 0,274 termasuk pada kategori rendah. Jadi, korelasi antara suhu terhadap terekspresinya HSP70 cukup kuat atau pengaruh suhu terhadap HSP70 cukup kuat yang diperkuat oleh Sudjana (1982) menyatakan 0,00–0,199 sangat rendah; 0,20–0,399 rendah; 0,40–0,599 cukup; 0,60–0,799 kuat dan 0,80–1,000 sangat kuat. Kemudian, KD sebesar 0,075 artinya sebanyak 7,5 % perubahan HSP70 dipengaruhi suhu. Sedangkan sisanya sebesar 92,5 % merupakan faktor lain diluar variabel bebasnya.

Gambar 52 C menunjukkan hubungan antara DO air yang mempengaruhi terekspresinya HSP70 pada jaringan hati Ikan keting di empat lokasi pengambilan sampel. Dimana, persamaan $y = -5,524x + 83,40$ yang mempunyai nilai koefisien determinasi (KD) $R^2 = 0,732$. Persamaan y mengartikan bahwa fungsi x yang artinya, jika y adalah tinggi rendahnya ekspresi HSP70 yang muncul dan fungsi x adalah DO jadi, nilai HSP70 bergantung pada DO.

Nilai $-5,524x$ disebut juga slope yang menentukan arah regresi linear. Dalam hal ini, karena nilai slopenya negatif, maka menunjukkan hubungan yang negatif, yang artinya semakin tinggi nilai x maka semakin rendah nilai y nya. Slope ini juga menunjukkan pendugaan laju peningkatan HSP70 saat DO-nya turun. Jadi, pendugaan peningkatan nilai HSP70 akan meningkat sebanyak 83,40. Nilai 0,732 disebut juga *intercept* yang mengartikan bahwa pada nilai $x = 0$, maka nilai HSP70 sebesar 0,732 atau *intercept* mengartikan nilai awal perhitungan x .

Diketahui KD pada gambar tersebut sebesar 0,732, dengan mengakarkan nilai 0,732 didapatkan hasil 0,856. Hasil pengakaran tersebut merupakan koefisien korelasinya. Artinya, keeratan korelasi antara ekspresi HSP70 dan DO sebesar 0,856. Nilai KF 0,856 termasuk pada kategori tinggi. Jadi, korelasi antara DO terhadap terekspresinya HSP70 sangat kuat atau pengaruh DO terhadap

HSP70 sangat kuat yang diperkuat oleh Sudjana (1982) menyatakan 0,00–0,199 sangat rendah; 0,20–0,399 rendah; 0,40–0,599 cukup; 0,60–0,799 kuat dan 0,80–1,000 sangat kuat. Kemudian, KD sebesar 0,732 artinya sebanyak 73,2 % perubahan HSP70 dipengaruhi DO. Sedangkan sisanya sebesar 6,8 % merupakan faktor lain diluar variabel bebasnya.

Gambar 52 D diatas menunjukkan hubungan antara salinitas air yang mempengaruhi terekspresinya HSP70 pada jaringan hati Ikan keting di empat lokasi pengambilan sampel. Dimana, persamaan $y = 0,438x + 52,72$ yang mempunyai nilai koefisien determinasi (KD) $R^2 = 0,064$. Persamaan y mengartikan bahwa fungsi x yang artinya, jika y adalah tinggi rendahnya ekspresi HSP70 yang muncul dan fungsi x adalah salinitas jadi, nilai HSP70 bergantung pada salinitas.

Nilai 0,438x disebut juga slope yang menentukan arah regresi linear. Dalam hal ini, karena nilai slopenya positif, maka menunjukkan hubungan yang positif, yang artinya semakin tinggi nilai x maka semakin tinggi pula nilai y nya. Slope ini juga menunjukkan pendugaan laju peningkatan HSP70 saat salinitasnya turun. Jadi, pendugaan peningkatan nilai HSP70 akan meningkat sebanyak 52,72. Nilai 0,064 disebut juga *intercept* yang mengartikan bahwa pada nilai $x = 0$, maka nilai HSP70 sebesar 0,064 atau *intercept* mengartikan nilai awal perhitungan x.

Diketahui KD pada gambar tersebut sebesar 0,064, dengan mengakarkan nilai 0,0642 didapatkan hasil 0,253. Hasil pengakaran tersebut merupakan koefisien korelasinya. Artinya, keeratan korelasi antara ekspresi HSP70 dan salinitas sebesar 0,253. Nilai KF 0,253 termasuk pada kategori rendah. Jadi, korelasi antara salinitas terhadap terekspresinya HSP70 rendah atau pengaruh salinitas terhadap HSP70 cukup rendah yang diperkuat oleh Sudjana (1982) menyatakan 0,00–0,199 sangat rendah; 0,20–0,399 rendah; 0,40–0,599 cukup;

0,60–0,799 kuat dan 0,80–1,000 sangat kuat. Kemudian, KD sebesar 0,064 artinya sebanyak 6,4 % perubahan HSP70 dipengaruhi salinitas. Sedangkan sisanya sebesar 93,6 % merupakan faktor lain diluar variabel bebasnya.

Gambar 52 E diatas menunjukkan hubungan antara BOD air yang mempengaruhi terekspresinya HSP70 pada jaringan hati Ikan keting di empat lokasi pengambilan sampel. Dimana, persamaan $y = 3,128x^2 - 168,0x + 2308$ yang mempunyai nilai koefisien determinasi (KD) $R^2 = 0,045$. Persamaan y mengartikan bahwa fungsi x yang artinya, jika y adalah tinggi rendahnya ekspresi HSP70 yang muncul dan fungsi x adalah BOD jadi, nilai HSP70 bergantung BOD.

Nilai $3,129x^2 - 168,0x$ disebut juga slope yang menentukan arah regresi polylomial. Dalam hal ini, karena nilai slopenya positif, maka menunjukkan hubungan yang positif, yang artinya semakin tinggi nilai x maka semakin tinggi pula nilai y nya. Slope ini juga menunjukkan pendugaan laju peningkatan HSP70 saat BOD-nya naik. Jadi, pendugaan peningkatan nilai HSP70 akan meningkat sebanyak 2308. Nilai 0,045 disebut juga *intercept* yang mengartikan bahwa pada nilai $x = 0$, maka nilai HSP70 sebesar 0,045 atau *intercept* mengartikan nilai awal perhitungan x.

Diketahui KD pada gambar tersebut sebesar 0,045, dengan mengakarkan nilai 0,045 didapatkan hasil 0,212. Hasil pengakaran tersebut merupakan koefisien korelasinya. Artinya, keeratan korelasi antara ekspresi HSP70 dan BOD sebesar 0,212. Nilai KF 0,212 termasuk pada kategori rendah. Jadi, korelasi antara BOD terhadap terekspresinya HSP70 cukup rendah atau pengaruh BOD terhadap HSP70 cukup rendah yang diperkuat oleh Sudjana (1982), 0,00–0,199 sangat rendah; 0,20–0,399 rendah; 0,40–0,599 cukup; 0,60–0,799 kuat dan 0,80–1,000 sangat kuat. Kemudian, KD sebesar 0,045 artinya sebanyak 4,5 %

perubahan HSP70 dipengaruhi BOD. Sedangkan sisanya sebesar 95,5 % merupakan faktor lain diluar variabel bebasnya.

Gambar 52 F diatas menunjukkan hubungan antara COD air yang mempengaruhi terekspresinya HSP70 pada jaringan hati Ikan keting di empat lokasi pengambilan sampel. Dimana, persamaan $y = 0,022x + 53,25$ yang mempunyai nilai koefisien determinasi (KD) $R^2 = 0,080$. Persamaan y mengartikan bahwa fungsi x yang artinya, jika y adalah tinggi rendahnya ekspresi HSP70 yang muncul dan fungsi x adalah COD jadi, nilai HSP70 bergantung COD.

Nilai $0,022x$ disebut juga slope yang menentukan arah regresi linear. Dalam hal ini, karena nilai slopenya positif, maka menunjukkan hubungan yang positif, yang artinya semakin tinggi nilai x maka semakin tinggi pula nilai y nya. Slope ini juga menunjukkan pendugaan laju peningkatan HSP70 saat COD-nya tinggi. Jadi, pendugaan peningkatan nilai HSP70 akan meningkat sebanyak 53,25. Nilai 0,08 disebut juga *intercept* yang mengartikan bahwa pada nilai $x = 0$, maka nilai HSP70 sebesar 0,08 atau *intercept* mengartikan nilai awal perhitungan x.

Diketahui KD pada gambar tersebut sebesar 0,08, dengan mengakarkan nilai 0,08 didapatkan hasil 0,283. Hasil pengakaran tersebut merupakan koefisien korelasinya. Artinya, keeratan korelasi antara ekspresi HSP70 dan COD sebesar 0,283. Nilai KF 0,283 termasuk pada kategori rendah. Jadi, korelasi antara COD terhadap terekspresinya HSP70 organ hati rendah atau pengaruh COD terhadap HSP70 sendah yang diperkuat oleh Sudjana (1982), 0,00–0,199 sangat rendah; 0,20–0,399 rendah; 0,40–0,599 cukup; 0,60–0,799 kuat dan 0,80–1,000 sangat kuat. Kemudian, KD sebesar 0,080 artinya sebanyak 8,0 % perubahan HSP70 dipengaruhi COD. Sedangkan sisanya sebesar 92,0% merupakan faktor lain diluar variabel bebasnya.

Gambar 52 G diatas menunjukkan hubungan antara TOM air yang mempengaruhi terekspresinya HSP70 pada jaringan hati Ikan keting di empat lokasi pengambilan sampel. Dimana, persamaan $y = 0,461x + 25,38$ yang mempunyai nilai koefisien determinasi (KD) $R^2 = 0,665$. Persamaan y mengartikan bahwa fungsi x yang artinya, jika y adalah tinggi rendahnya ekspresi HSP70 yang muncul dan fungsi x adalah TOM jadi, nilai HSP70 bergantung pada TOM.

Nilai $0,461x$ disebut juga slope yang menentukan arah regresi linear. Dalam hal ini, karena nilai slopenya positif, maka menunjukkan hubungan yang positif, yang artinya semakin tinggi nilai x maka semakin tinggi pula nilai y nya. Slope ini juga menunjukkan pendugaan laju peningkatan HSP70 saat TOM-nya naik. Jadi, pendugaan peningkatan nilai HSP70 akan meningkat sebanyak 25,38. Nilai 0,665 disebut juga *intercept* yang mengartikan bahwa pada nilai $x = 0$, maka nilai HSP70 sebesar 0,665 atau *intercept* mengartikan nilai awal perhitungan x.

Diketahui KD pada gambar tersebut sebesar 0,665, dengan mengakarkan nilai 0,665 didapatkan hasil 0,815. Hasil pengakaran tersebut merupakan koefisien korelasinya. Artinya, keeratan korelasi antara ekspresi HSP70 dan TOM sebesar 0,815. Nilai KF 0,815 termasuk pada kategori sangat. Jadi, korelasi antara TOM terhadap terekspresinya HSP70 sangat kuat atau pengaruh TOM TOM HSP70 sangat kuat yang diperkuat oleh Sudjana (1982), jika 0,00–0,199 sangat rendah; 0,20–0,399 rendah; 0,40–0,599 cukup; 0,60–0,799 kuat dan 0,80–1,000 sangat kuat. Kemudian, KD sebesar 0,665 artinya sebanyak 66,5 % perubahan HSP70 dipengaruhi TOM. Sedangkan sisanya sebesar 33,5 % merupakan faktor lain diluar variabel bebasnya.

Gambar 52 H diatas menunjukkan hubungan antara TSS air yang mempengaruhi terekspresinya HSP70 pada jaringan hati Ikan keting di empat

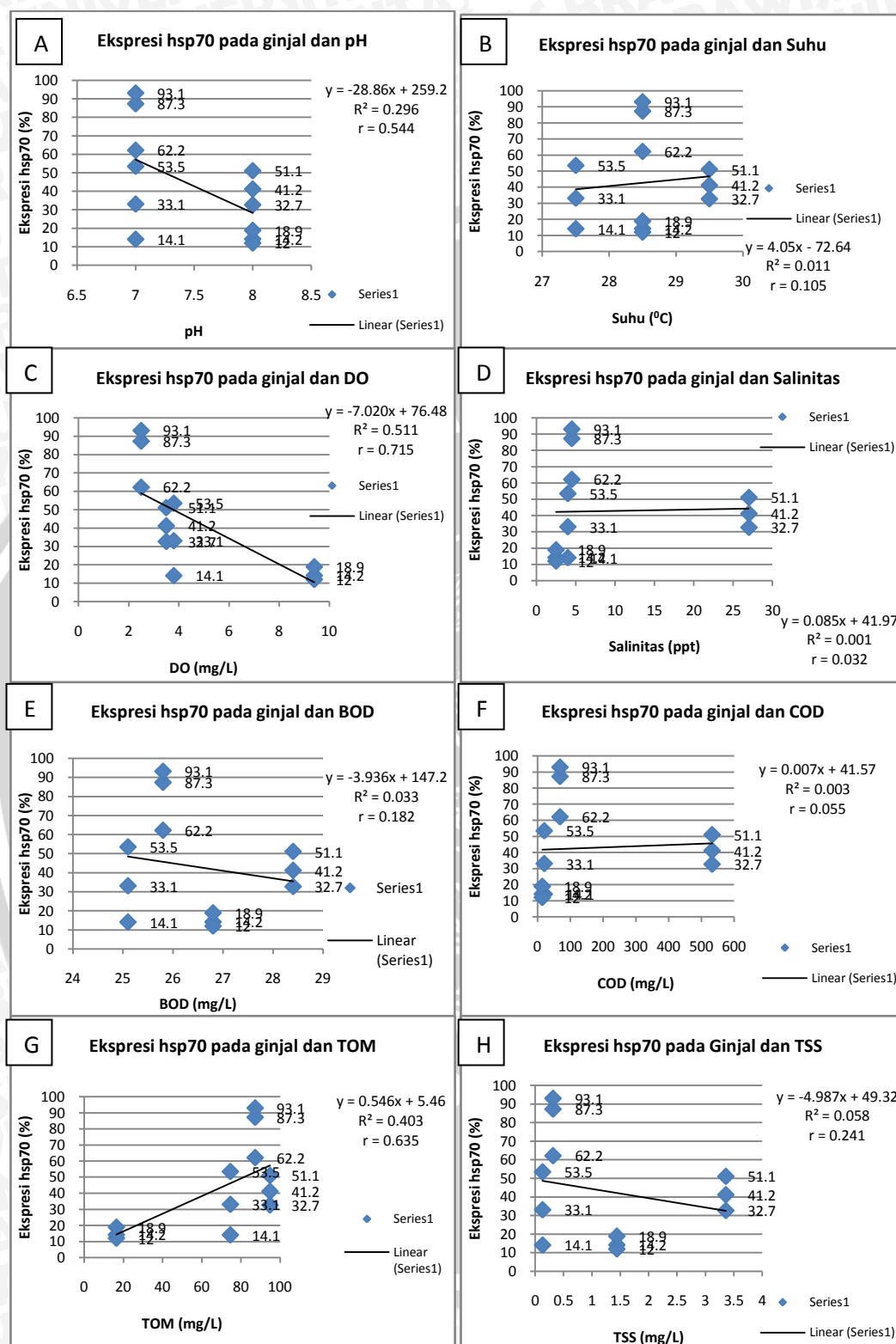
lokasi pengambilan sampel. Dimana, persamaan $y = -0,977x + 58,17$ yang mempunyai nilai koefisien determinasi (KD) $R^2 = 0,005$. Persamaan y mengartikan bahwa fungsi x yang artinya, jika y adalah tinggi rendahnya ekspresi HSP70 yang muncul dan fungsi x adalah TSS jadi, nilai HSP70 bergantung TSS.

Nilai $-0,977x$ disebut juga slope yang menentukan arah regresi linear. Dalam hal ini, karena nilai slopenya negatif, maka menunjukkan hubungan yang positif, yang artinya semakin tinggi nilai x maka semakin tinggi nilai y nya. Slope ini juga menunjukkan pendugaan laju peningkatan HSP70 saat TSS-nya naik. Jadi, pendugaan peningkatan nilai HSP70 akan meningkat sebanyak 58,17. Nilai 0,005 disebut juga *intercept* yang mengartikan bahwa pada nilai $x = 0$, maka nilai HSP70 sebesar 0,005 atau *intercept* mengartikan nilai awal perhitungan x .

Diketahui KD pada gambar tersebut sebesar 0,005, dengan mengakarkan nilai 0,005 didapatkan hasil 0,071. Hasil pengakaran tersebut merupakan koefisien korelasinya. Artinya, keeratan korelasi antara ekspresi HSP70 dan TSS sebesar 0,071. Nilai KF 0,071 termasuk pada kategori sangat rendah. Jadi, korelasi antara TSS terhadap terekspresinya HSP70 organ hati sangat rendah atau pengaruh TSS terhadap HSP70 sangat rendah yang diperkuat oleh Sudjana (1982), jika 0,00–0,199 sangat rendah; 0,20–0,399 rendah; 0,40–0,599 cukup; 0,60–0,799 kuat dan 0,80–1,000 sangat kuat. Kemudian, KD sebesar 0,005 artinya sebanyak 0,5 % perubahan HSP70 dipengaruhi TSS. Sedangkan sisanya sebesar 99,5 % merupakan faktor lain diluar variabel bebasnya.

4.4.3 Hubungan Kualitas air dengan ginjal pada setiap muara

Gambar dibawah ini menunjukkan hubungan antara kualitas air terhadap ginjal dimana, faktor x sebagai variabel bebas adalah ginjal dan faktor y sebagai variabel terikat adalah ekspresi HSP70 pada setiap muara pengambilan sampel yang dapat dilihat pada Gambar 53.



Gambar 53: Grafik hubungan kualitas air dengan ekspresi HSP70 pada organ ginjal ikan kiting (*Myxus nigriceps*).

Gambar 53 A menunjukkan hubungan antara pH air yang mempengaruhi terekspresinya HSP70 pada jaringan ginjal Ikan keting di empat lokasi pengambilan sampel. Dimana, persamaan $y = -28,87x + 259,2$ yang mempunyai nilai koefisien determinasi (KD) $R^2 = 0,361$. Persamaan y mengartikan bahwa fungsi x yang artinya, jika y adalah tinggi rendahnya ekspresi HSP70 yang muncul dan fungsi x adalah pH jadi, nilai HSP70 bergantung pada pH.

Nilai $-28,87x$ disebut juga slope yang menentukan arah regresi linear. Dalam hal ini, karena nilai slopenya negatif, maka menunjukkan hubungan yang negative, yang artinya semakin tinggi nilai x maka semakin rendah nilai y nya. Slope ini juga menunjukkan pendugaan laju peningkatan HSP70 saat pH-nya turun. Jadi, pendugaan peningkatan nilai HSP70 akan meningkat sebanyak 259,3. Nilai 0,361 disebut juga *intercept* yang mengartikan bahwa pada nilai $x = 0$, maka nilai HSP70 sebesar 0,361 atau *intercept* mengartikan nilai awal perhitungan x .

Diketahui KD pada gambar tersebut sebesar 0,361, dengan mengakarkan nilai 0,361 didapatkan hasil 0,601. Hasil pengakaran tersebut merupakan koefisien korelasinya. Artinya, keeratan korelasi antara ekspresi HSP70 dan pH sebesar 0,601. Nilai KF 0,601 termasuk pada kategori kuat. Jadi, korelasi antara pH terhadap terekspresinya HSP70 cukup kuat atau pengaruh pH terhadap HSP70 kuat yang diperkuat oleh Sudjana (1982), menyatakan 0,00–0,199 sangat rendah; 0,20–0,399 rendah; 0,40–0,599 cukup; 0,60–0,799 kuat dan 0,80–1,000 sangat kuat. Kemudian, KD sebesar 0,361 artinya sebanyak 36,1 % perubahan HSP70 dipengaruhi pH. Sedangkan sisanya sebesar 63,9 % merupakan faktor lain diluar variabel bebasnya.

Gambar 53B menunjukkan hubungan antara suhu air yang mempengaruhi ekspresi HSP70 pada jaringan ginjal Ikan keting di empat lokasi pengambilan

sampel. Dimana, persamaan $y = 4,05x - 72,64$ yang mempunyai nilai koefisien determinasi (KD) $R^2 = 0,014$. Persamaan y mengartikan bahwa fungsi x yang artinya, jika y adalah tinggi rendahnya ekspresi HSP70 yang muncul dan fungsi x adalah suhu jadi, nilai HSP70 bergantung pada suhu.

Nilai $4,05x$ disebut juga slope yang menentukan arah regresi linear. Dalam hal ini, karena nilai slopenya negatif, maka menunjukkan hubungan yang negatif, yang artinya semakin tinggi nilai x maka semakin tinggi pula nilai y nya. Slope ini juga menunjukkan pendugaan laju peningkatan HSP70 saat suhunya naik. Jadi, pendugaan peningkatan nilai HSP70 akan meningkat sebanyak 72,64. Nilai 0,014 disebut juga *intercept* yang mengartikan bahwa pada nilai $x = 0$, maka nilai HSP70 sebesar 0,014 atau *intercept* mengartikan nilai awal perhitungan x .

Diketahui KD pada gambar tersebut sebesar 0,014, dengan mengakarkan nilai 0,014 didapatkan hasil 0,118. Hasil pengakaran tersebut merupakan koefisien korelasinya. Artinya, keeratan korelasi antara ekspresi HSP70 dan suhu sebesar 0,118. Nilai KF 0,118 termasuk pada kategori sangat rendah Jadi, korelasi antara suhu terhadap terekspresinya HSP70 organ ginjal sangat rendah atau pengaruh suhu terhadap HSP70 sangat rendah yang diperkuat oleh Sudjana (1982), menyatakan 0,00–0,199 sangat rendah; 0,20–0,399 rendah; 0,40–0,599 cukup; 0,60–0,799 kuat dan 0,80–1,000 sangat kuat. Kemudian, KD sebesar 0,014 artinya sebanyak 1,4 % perubahan HSP70 dipengaruhi suhu. Sedangkan sisanya sebesar 98,6 % merupakan faktor lain diluar variabel bebasnya.

Gambar 53C menunjukkan hubungan antara DO air yang mempengaruhi ekspresi HSP70 pada jaringan ginjal Ikan keting di empat lokasi pengambilan sampel. Dimana, persamaan $y = -7,021x + 76,48$ yang mempunyai nilai koefisien determinasi (KD) $R^2 = 0,622$. Persamaan y mengartikan bahwa fungsi x yang

artinya, jika y adalah tinggi rendahnya ekspresi HSP70 yang muncul dan fungsi x adalah DO jadi, nilai HSP70 bergantung pada DO.

Nilai $-7,021x$ disebut juga slope yang menentukan arah regresi linear. Dalam hal ini, karena nilai slopenya negatif, maka menunjukkan hubungan yang negatif, yang artinya semakin tinggi nilai x maka semakin rendah nilai y nya. Slope ini juga menunjukkan pendugaan laju peningkatan HSP70 saat DO-nya turun. Jadi, pendugaan peningkatan nilai HSP70 akan meningkat sebanyak 76,48. Nilai 0,622 disebut juga *intercept* yang mengartikan bahwa pada nilai $x = 0$, maka nilai HSP70 sebesar 0,622 atau *intercept* mengartikan nilai awal perhitungan x .

Diketahui KD pada gambar tersebut sebesar 0,622, dengan mengakarkan nilai 0,622 didapatkan hasil 0,789. Hasil pengakaran tersebut merupakan koefisien korelasinya. Artinya, keeratan korelasi antara ekspresi HSP70 dan DO sebesar 0,789. Nilai KF 0,789 termasuk pada kategori kuat. Jadi, korelasi antara DO terhadap terekspresinya HSP70 cukup kuat atau pengaruh DO terhadap HSP70 cukup kuat, yang diperkuat oleh Sudjana (1982), menyatakan 0,00–0,199 sangat rendah; 0,20–0,399 rendah; 0,40–0,599 cukup; 0,60–0,799 kuat dan 0,80–1,000 sangat kuat. Kemudian, KD sebesar 0,622 artinya sebanyak 66,2 % perubahan HSP70 dipengaruhi DO. Sedangkan sisanya sebesar 33,8 % merupakan faktor lain diluar variabel bebasnya.

Gambar 53D menunjukkan hubungan antara salinitas air yang mempengaruhi ekspresi HSP70 pada jaringan ginjal Ikan keting di empat lokasi pengambilan sampel. Dimana, persamaan $y = 0,085x + 41,97$ yang mempunyai nilai koefisien determinasi (KD) $R^2 = 0,001$. Persamaan y mengartikan bahwa fungsi x yang artinya, jika y adalah tinggi rendahnya ekspresi HSP70 yang muncul dan fungsi x adalah salinitas jadi, nilai HSP70 bergantung pada salinitas.

Nilai 0,085x disebut juga slope yang menentukan arah regresi linear. Dalam hal ini, karena nilai slopenya positif, maka menunjukkan hubungan yang positif, yang artinya semakin tinggi nilai x maka semakin tinggi pula nilai y nya. Slope ini juga menunjukkan pendugaan laju peningkatan HSP70 saat salinitasnya naik. Jadi, pendugaan peningkatan nilai HSP70 akan meningkat sebanyak 41,97. Nilai 0,001 disebut juga *intercept* yang mengartikan bahwa pada nilai $x = 0$, maka nilai HSP70 sebesar 0,001 atau *intercept* mengartikan nilai awal perhitungan x.

Diketahui KD pada gambar tersebut sebesar 0,001, dengan mengakarkan nilai 0,001 didapatkan hasil 0,032. Hasil pengakaran tersebut merupakan koefisien korelasinya. Artinya, keeratan korelasi antara ekspresi HSP70 dan salinitas sebesar 0,032. Nilai KF 0,032 termasuk pada kategori sangat rendah. Jadi, korelasi antara salinitas terhadap terekspresinya HSP70 sangat rendah atau pengaruh salinitas terhadap HSP70 organ ginjal sangat rendah, yang diperkuat oleh Sudjana (1982) menyatakan 0,00–0,199 sangat rendah; 0,20–0,399 rendah; 0,40–0,599 cukup; 0,60–0,799 kuat dan 0,80–1,000 sangat kuat. Kemudian, KD sebesar 0,001 artinya sebanyak 0,1 % perubahan HSP70 dipengaruhi salinitas, sedangkan sisanya sebesar 99,9% merupakan faktor lain diluar variabel bebasnya.

Gambar 53 E menunjukkan hubungan antara BOD air yang mempengaruhi ekspresi HSP70 pada jaringan ginjal Ikan keting di empat lokasi pengambilan sampel. Dimana, persamaan $y = -3,937x + 147,2$ yang mempunyai nilai koefisien determinasi (KD) $R^2 = 0,041$. Persamaan y mengartikan bahwa fungsi x yang artinya, jika y adalah tinggi rendahnya ekspresi HSP70 yang muncul dan fungsi x adalah BOD jadi, nilai HSP70 bergantung pada BOD.

Nilai $-3,937x$ disebut juga slope yang menentukan arah regresi linear. Dalam hal ini, karena nilai slopenya negatif, maka menunjukkan hubungan yang negatif,

yang artinya semakin tinggi nilai x maka semakin tinggi pula nilai y nya. Slope ini juga menunjukkan pendugaan laju peningkatan HSP70 saat BOD-nya tinggi. Jadi, pendugaan peningkatan nilai HSP70 akan meningkat sebanyak 147,2. Nilai 0,041 disebut juga *intercept* yang mengartikan bahwa pada nilai $x = 0$, maka nilai HSP70 sebesar 0,041 atau *intercept* mengartikan nilai awal perhitungan x .

Diketahui KD pada gambar tersebut sebesar 0,041, dengan mengakarkan nilai 0,041 didapatkan hasil 0,202. Hasil pengakaran tersebut merupakan koefisien korelasinya. Artinya, keeratan korelasi antara ekspresi HSP70 dan BOD sebesar 0,202. Nilai KF 0,202 termasuk pada kategori rendah. Jadi, korelasi antara BOD terhadap terekspresinya HSP70 cukup rendah atau pengaruh BOD terhadap HSP70 organ ginjal rendah, yang diperkuat oleh Sudjana (1982) menyatakan 0,00–0,199 sangat rendah; 0,20–0,399 rendah; 0,40–0,599 cukup; 0,60–0,799 kuat dan 0,80–1,000 sangat kuat. Kemudian, KD sebesar 0,041 artinya sebanyak 4,1 % perubahan HSP70 dipengaruhi BOD, sedangkan sisanya sebesar 95,9 % merupakan faktor lain diluar variabel bebasnya.

Gambar 53 F menunjukkan hubungan antara COD air yang mempengaruhi ekspresi HSP70 pada jaringan ginjal Ikan keting di empat lokasi pengambilan sampel. Dimana, persamaan $y = 0,007x + 41,57$ yang mempunyai nilai koefisien determinasi (KD) $R^2 = 0,004$. Persamaan y mengartikan bahwa fungsi x yang artinya, jika y adalah tinggi rendahnya ekspresi HSP70 yang muncul dan fungsi x adalah COD jadi, nilai HSP70 bergantung pada COD.

Nilai $0,007x$ disebut juga slope yang menentukan arah regresi linier. Dalam hal ini, karena nilai slopenya positif, maka menunjukkan hubungan yang positif, yang artinya semakin tinggi nilai x maka semakin tinggi pula nilai y nya. Slope ini juga menunjukkan pendugaan laju peningkatan HSP70 saat COD-nya tinggi. Jadi, pendugaan peningkatan nilai HSP70 akan meningkat sebanyak 41,57. Nilai

0,004 disebut juga *intercept* yang mengartikan bahwa pada nilai $x = 0$, maka nilai HSP70 sebesar 0,004 atau *intercept* mengartikan nilai awal perhitungan x .

Diketahui KD pada gambar tersebut sebesar 0,004, dengan mengakarkan nilai 0,004 didapatkan hasil 0,063. Hasil pengakaran tersebut merupakan koefisien korelasinya. Artinya, keeratan korelasi antara ekspresi HSP70 dan COD sebesar 0,063. Nilai KF 0,063 termasuk pada kategori sangat kuat. Jadi, korelasi antara COD terhadap terekspresinya HSP70 sangat rendah atau pengaruh COD terhadap HSP70 sangat rendah, yang diperkuat oleh Sudjana (1982) menyatakan 0,00–0,199 sangat rendah; 0,20–0,399 rendah; 0,40–0,599 cukup; 0,60–0,799 kuat dan 0,80–1,000 sangat kuat. Kemudian, KD sebesar 0,004 artinya sebanyak 0,4 % perubahan HSP70 dipengaruhi COD, sedangkan sisanya sebesar 99,6 % merupakan faktor lain diluar variabel bebasnya.

Gambar 53G menunjukkan hubungan antara TOM air yang mempengaruhi ekspresi HSP70 pada jaringan ginjal Ikan keting di empat lokasi pengambilan sampel. Dimana, persamaan $y = 0,546x + 5,455$ yang mempunyai nilai koefisien determinasi (KD) $R^2 = 0,491$. Persamaan y mengartikan bahwa fungsi x yang artinya, jika y adalah tinggi rendahnya ekspresi HSP70 yang muncul dan fungsi x adalah TOM jadi, nilai HSP70 bergantung pada TOM.

Nilai $0,546x$ disebut juga slope yang menentukan arah regresi linear. Dalam hal ini, karena nilai slopenya positif, maka menunjukkan hubungan yang positif, yang artinya semakin tinggi nilai x maka semakin tinggi pula nilai y nya. Slope ini juga menunjukkan pendugaan laju peningkatan HSP70 saat TOM-nya tinggi. Jadi, pendugaan peningkatan nilai HSP70 akan meningkat sebanyak 5,455. Nilai 0,491 disebut juga *intercept* yang mengartikan bahwa pada nilai $x = 0$, maka nilai HSP70 sebesar 0,491 atau *intercept* mengartikan nilai awal perhitungan x .

Diketahui KD pada gambar tersebut sebesar 0,491 dengan mengakarkan nilai 0,491 didapatkan hasil 0,700. Hasil pengakaran tersebut merupakan koefisien korelasinya. Artinya, keeratan korelasi antara ekspresi HSP70 organ ginjal dan TOM sebesar 0,700. Nilai KF 0,700 termasuk pada kategori kuat. Jadi, korelasi antara TOM terhadap terekspresinya HSP70 cukup kuat atau pengaruh TOM terhadap HSP70 organ ginjal kuat, yang diperkuat oleh Sudjana (1982) menyatakan 0,00–0,199 sangat rendah; 0,20–0,399 rendah; 0,40–0,599 cukup; 0,60–0,799 kuat dan 0,80–1,000 sangat kuat. Kemudian, KD sebesar 0,491 artinya sebanyak 49,1 % perubahan HSP70 dipengaruhi TOM, sedangkan sisanya sebesar 50,9 % merupakan faktor lain diluar variabel bebasnya.

Gambar 53H menunjukkan hubungan antara TSS air yang mempengaruhi ekspresi HSP70 pada jaringan ginjal Ikan keting di empat lokasi pengambilan sampel. Dimana, persamaan $y = -4,987x + 49,32$ yang mempunyai nilai koefisien determinasi (KD) $R^2 = 0,071$. Persamaan y mengartikan bahwa fungsi x yang artinya, jika y adalah tinggi rendahnya ekspresi HSP70 yang muncul dan fungsi x adalah TSS jadi, nilai HSP70 bergantung pada TSS.

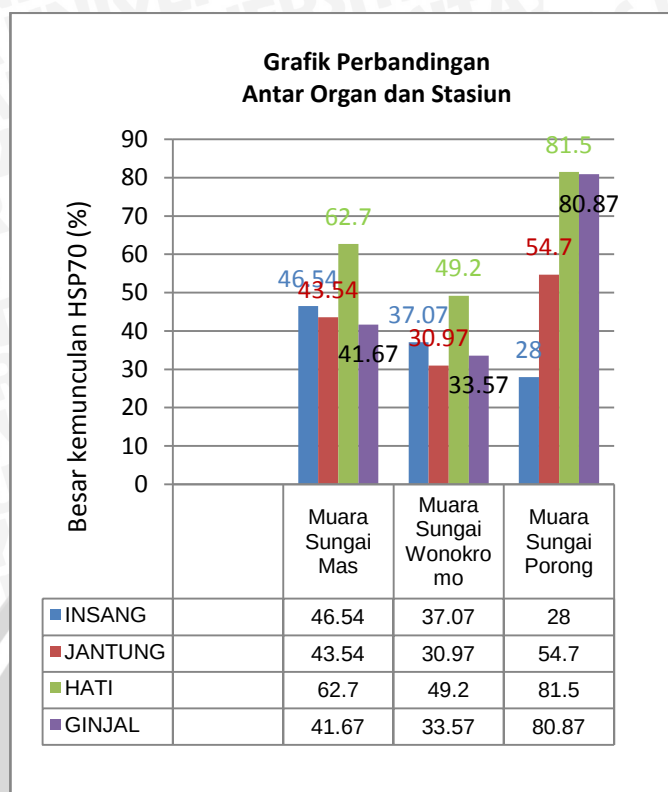
Nilai $-4,987x$ disebut juga slope yang menentukan arah regresi linear. Dalam hal ini, karena nilai slopenya negatif, maka menunjukkan hubungan yang negatif, yang artinya semakin tinggi nilai x maka semakin tinggi pula nilai y nya. Slope ini juga menunjukkan pendugaan laju peningkatan HSP70 saat TOM-nya rendah. Jadi, pendugaan peningkatan nilai HSP70 akan meningkat sebanyak 49,32. Nilai 0,071 disebut juga *intercept* yang mengartikan bahwa pada nilai $x = 0$, maka nilai HSP70 sebesar 0,071 atau *intercept* mengartikan nilai awal perhitungan x.

Diketahui KD pada gambar tersebut sebesar 0,071 dengan mengakarkan nilai 0,711 didapatkan hasil 0,266. Hasil pengakaran tersebut merupakan koefisien korelasinya. Artinya, keeratan korelasi antara ekspresi HSP70 dan TSS

sebesar 0,266. Nilai KF 0,266 termasuk pada kategori rendah. Jadi, korelasi antara TSS terhadap terekspresinya HSP70 pada organ ginjal berkorelasi cukup atau pengaruh TSS terhadap HSP70 rendah, yang diperkuat oleh Sudjana (1982) menyatakan 0,00–0,199 sangat rendah; 0,20–0,399 rendah; 0,40–0,599 cukup; 0,60–0,799 kuat dan 0,80–1,000 sangat kuat. Kemudian, KD sebesar 0,071 artinya sebanyak 7,1 % perubahan HSP70 dipengaruhi TSS, sedangkan sisanya sebesar 92,9 % merupakan faktor lain diluar variabel bebasnya.

4.5 Pembahasan

HSP merupakan suatu protein yang dijadikan sebagai biomarker tingkat kesetresan pada ikan. Penyebab stres pada ikan dapat diakibatkan oleh keadaan lingkungan perairan yang semakin memburuk. *Heat Shock Protein* 70 kDa (HSP70) merupakan protein yang muncul dalam sel akibat adanya respon dari stres dengan berat molekul 70 kDa. Stres yang muncul dapat berasal dari dua faktor yang pertama faktor stres genetik dan stres lingkungan yang meliputi kondisi fisika dan kimia air seperti perubahan oksigen terlarut, pH, amoniak, kandungan gas, tekanan parsial dan suhu juga bisa membuat ikan menjadi stres (Iwama *et al.*, 1999). Selain itu, faktor lain yang juga dapat menyebabkan stres lingkungan diakibatkan oleh adanya bahan-bahan logam berat (seperti tembaga, cadmium, seng, besi) dan bahan kontaminan lain (seperti arsenik, klorin, sianida, fenol dan polychlorinated biphenyls) (Iwama *et al.*, 1999) sehingga akan menyebabkan ikan sangat stres bahkan bisa sampai terjadi kematian. Gambar 73 akan menunjukkan rata-rata hasil HSP70 dalam jaringan organ Ikan keting (*Mystus nigriceps*) di empat muara pengambilan sampel, berikut gambarnya:



**Tabel 30. Data Kualitas Air
di Semua stasiun.**

KA	Lokasi			
		M.S. Mas	M.S. wonok	M.S porg
pH		8	7	7
Suhu		29,5	27,5	28,5
DO		3,8	3,5	2,5
Salin		27	4	4,5
BOD		28,4	25,1	25,8
COD		532,8	20,8	68,8
TOM		94,8	74,58	87,22
TSS		3,36	0,132	0,316

Gambar 54. Grafik perbandingan antar organ dan lokasi pengambilan sampel.

Lokasi yang pertama adalah muara Sungai Mas, muara Sungai Mas merupakan muara yang berasal dari aliran Sungai Surabaya yang terbelah menjadi dua aliran yaitu ke Sungai Mas yang bermuara di Pelabuhan Tanjung Perak Surabaya dan aliran yang satu lagi mengalir ke arah Sungai Wonokromo yang bermuara di daerah wisata mangrove Wonorejo. muara Sungai Mas banyak terdapat aktifitas manusia dan yang paling mendominasi adalah aktifitas kapal laut. karena merupakan pelabuhan antar pulau. Keadaan ini akan mempengaruhi terhadap endapan yang ada di bawah kapal akan teraduk akibat adanya aktivitas kapal. Selain itu, aliran sungai yang menuju muara Sungai Mas banyak membawa lumpur dan bahan organik yang berasal dari limbah rumah tangga, industri, maupun pertanian yang dilewati oleh aliran sungai.

Dilihat dari faktor kualitas air, hasil pengukuran di muara Sungai Mas mempunyai nilai pH 8, suhu 29,5 °C, oksigen terlarut (DO) 3,5 mg/l, kadar

salinitas 27 ppt, nilai BOD 28,4 mg/l, nilai COD 532,8 mg/l, nilai TOM 94,8 mg/l dan hasil pengukuran TSS sebesar 3,36 mg/l. data tersebut menunjukkan nilai suhu yang paling tinggi jika dibandingkan dengan hasil pengukuran di muara pengambilan sampel yang lain. Namun masih dalam kisaran yang normal. Hasil pengukuran DO sebesar 3,5 mg/l, nilai ini sudah berada dibawah batas normal untuk organisme Wirosarjono (1974) dalam Salmin (2005) menyatakan tingkat pencemaran berdasarkan nilai DO-nya rendah (>5 mg/l), sedang (0-5 mg/l) dan tinggi (0 mg/l). Begitu juga dengan nilai COD yang paling tinggi yaitu sebesar 532,8 mg/l, Fajri dan Karsy (2013) menyatakan nilai COD pada perairan yang tercemar lebih dari 200 mg/l dan pada limbah industri dapat mencapai 600.000 mg/l., dan dengan nilai TOM di muara Sungai Mas sebesar 94,8 mg/l, nilai ini sudah berada diatas kirasaran aman untuk organisme perairan yaitu sebesar ≤ 30 mg/l Sembiring *et al.*, (2012).

Berdasarkan data kualitas air tersebut dengan kadar DO, COD dan TOM yang sudah di atas kisaran normal untuk organisme, keadaan ini akan berdampak terhadap tingkat stres pada ikan. Rendahnya kandungan DO akan mempengaruhi dalam proses respirasi yang dilakukan oleh organ insang pada ikan, sedangkan tingginya nilai COD juga mengartikan bahwa dalam air banyak kandungan bahan organik yang harus diuraikan melalui reaksi kimia, dan nilai TOM yang juga sudah melebihi kisaran yang baik untuk ikan mengartikan bahwa banyaknya kebutuha oksigen yang dibutuhkan oleh organisme pengurai untuk menguraikan bahan organik yang ada di perairan. Keadan ini akan mempengaruhi proses homeoststis dalam tubuh ikan. dimana, ikan harus menyeimbangkan kebutuhan DO yang tinggi, nilai COD dan TOM yang normal agar reaksi dalam tubuhnya dapat berjalan dengan lancar. Maka dari itu, tubuh ikan akan memproduksi HSP70 dalam tubuhnya.

Fungsi adanya HSP70 dalam tubuh ikan sebagai penyeimbang sel. Hsp merupakan protein yang tereskpresi saat keadaan tubuh organisme dalam keadaan stres. Saat keadaan lingkungan perairan dengan nilai DO yang rendah, nilai COD dan TOM yang cukup tinggi maka proses metabolisme dalam tubuh ikan akan terganggu. Iwama *et al.*, (1999) menyatakan bahwa perubahan oksigen terlarut, pH, amoniak, kandungan gas, tekanan parsial dan suhu juga bisa membuat ikan menjadi stres. Keadaan ini akan mempengaruhi proses yang terjadi di organ insang. Keberadaan bahan organik yang tinggi akan menyebabkan ikan susah bernafas. Prosesnya terjadinya respirasi pada ikan, saat mulut ikan membuka, air masuk kedalam rongga mulut sedangkan tutup insang menutup, oksigen yang terlaui dalam air masuk berdifusi ke dalam pembuluh kapiler darah yang terdapat dalam insang, kemudian saat mulut tertutup, maka tutup insang membuka dan air dari rongga mulut keluar melalui insang bersama dengan karbondioksida, jadi pertukaran oksigen dan karbondioksida terjadi di lembaran insang. Selanjutnya, jika kandungan COD dan TOM yang tinggi dalam air, sedangkan dalam air juga terdapat oksigen terlarut yang kemudian berdifusi ke dalam pembuluh kapiler darah yang terdapat dalam insang, saat inilah bahan-bahan organik terlarut ini akan menghambat proses insang saat mengikat oksigen, sehingga proses respirasi ikan menjadi terganggu. Terganggunya proses yang terjadi saat di organ insang, akan berpengaruh juga terhadap organ internal pada ikan yaitu organ jantung, hati dan ginjal.

Keadaan ini dapat dilihat dari hasil *immunoRatio* yang menunjukkan rata-rata tingkat stres yang muncul pada organ insang sebesar 46,54 %, organ janutng sebesar 43,54 %, organ hati sebesar 62,7 % dan organ ginjal sebesar 41,67 %. Dilihat dari rata-rata tersebut organ yang paling tinggi tereskpresi HSP70 adalah organ hati. Keadaan ini dapat dikarenakan organ hati merupakan organ yang

berfungsi untuk menyaring darah dari seluruh tubuh kemabali lagi ke hati dan dialirkan lagi ke seluruh tubuh. Saat keadaan oksigen terlarut yang rendah dan kandungan COD dan TOM dalam air cukup tinggi akan menyebabkan darah yang dialirkan melewati organ hati banyak mengandung bahan organik dan rendah kandungan oksigen. Sehingga, keadaan ini juga akan mempengaruhi proses yang terjadi dalam organ hati. Karena, dalam organ hati juga terdapat sel-sel yang akan mengekspresikan adanya stres yang muncul akibat kandungan oksigen terlarut yang rendah dan nilai COD dan TOM tinggi dalam darah. Begitu juga dengan organ jantung yang paling rendah terekspresi, dapat dikarenakan organ jantung berfungsi sebagai alat pemompa darah. Jadi, kalau adanya respon stres pada organ hanya sedikit saja. Karena hanya berfungsi sebagai alat pemompa. Berbeda lagi dengan organ ginjal, tingkat ekspresi HSP70 yang muncul lebih tinggi daripada organ jantung. Hal ini dapat terjadi karena organ ginjal berperan dalam proses ekskresi metabolisme tubuh. ginjal berfungsi sebagai tempat untuk memfiltrasi dan mengekskresikan bahan-bahan yang tidak dibutuhkan oleh tubuh seperti bahan-bahan pencemar yang bersifat toksik yang terlarut dalam perairan. Ginjal merupakan organ tubuh yang rentan terhadap pengaruh zat-zat kimia, organ ini menerima 25-30 % sirkulasi darah untuk dibersihkan, sehingga sebagai organ filtrasi kemungkinan terjadinya perubahan patologik sangat tinggi (Corwin, 2001 dalam Suhita et al., 2013).

Lokasi pengambilan sampel kedua yaitu di muara Sungai Wonokromo, muara ini juga satu aliran dengan muara dari Sungai Surabaya. Muara Sungai Wonokromo ini bermuara di daerah wisata mangrove Wonorejo. Aliran sungai yang mengalir ke daerah wisata mangrove wonorejo mendapat pengaruh dari beberapa aktivitas manusia antara lain industri, rumah tangga (domestik), begitupun dengan pertanian bisa juga dengan banyaknya kendaraan bermotor.

Semua kegiatan tersebut akan berdampak terhadap kualitas air sungai yang menuju muara, terlebih dengan adanya penebangan pohon mangrove berakar kuat di daerah wisata yang dapat menyebabkan terganggunya ekosistem dan berkurangnya penyerapan logam-logam berat yang terkandung dalam air dan sedimen di muara serta berkurangnya tempat berlindung ikan.

Dilihat dari faktor kualitas air, hasil pengukuran di muara Sungai Wonokromo mempunyai nilai pH 7, suhu 27,5 °C, oksigen terlarut (DO) 3,8 mg/l, kadar salinitas 3,5 ppt, kadar BOD 25,1 mg/l, COD sebesar 20,8 mg/l, nilai TOM 74,58 mg/l dan nilai TSS sebesar 0,132 mg/l. Data tersebut menunjukkan nilai suhu cukup normal, sedangkan nilai DO 3,8 mg/l lebih tinggi dari hasil DO di muara Sungai Mas. Namun juga sudah melebihi kisaran normal untuk organisme perairan Wirosarjono (1974) *dalam* Salmin (2005) menyebutkan bahwa nilai DO 0-5 mg/l termasuk dalam tingkat pencemaran yang sedang. Namun, Schmitz (1971) *dalam* Mulyanto (1995) menyatakan berdasarkan kandungan oksigen terlarut kualitas air perairan nilai 3,8 termasuk dalam perairan yang kritis. Nilai TOM muara Sungai Wonokromo jika dibandingkan dengan muara Sungai Mas masih lebih rendah sedangkan Afu (2005) *dalam* Sembiring *et al.*, (2012) y menyatakan nilai konsentrasi TOM yang aman adalah ≤ 30 mg/l. Keberadaan TOM adalah total bahan organik yang ada di perairan yang dapat dipengaruhi oleh adanya arus, dapat pula terjadi akibat adanya pasang surut yang dapat membilas keberadaan dari TOM dengan adanya proses keluarnya air dari muara menuju laut (Sembiring, 2012). Selain itu, keberadaan bahan organik dapat juga dipengaruhi lokasi muara sungai yang alirannya membawa segala macam zat yang dapat berasal dari industri ataupun segala aktivitas manusia yang berada di sepanjang aliran sungai menuju muara. dan untuk hasil kualitas air yang lain masih dalam kisaran normal.

Berdasarkan data kualitas air tersebut dengan kadar oksigen terlarut yang rendah dan nilai TOM yang sudah diatas kadar aman untuk organisme, keadaan ini juga akan memberikan dampak terhadap tingkat kesetresan pada ikan. Rendahnya kandungan oksigen terlarut akan mempengaruhi proses respirasi ikan. Begitu juga dengan nilai TOM yang juga sudah melebihi kisaran yang baik untuk ikan yang mengartikan bahwa kebutuhan oksigen yang dibutuhkan oleh organisme pengurai untuk menguraikan bahan organik yang terlarut dalam perairan, sehingga ikan harus menyeimbangkan proses metabolise dalam tubuhnya dengan keadaan lingkungan perairan dengan kadar DO yang rendah dan TOM yang tinggi. Oleh sebab itulah tubuh ikan akan memproduksi protein HSP70 dalam tubuhnya dengan lebih banyak. HSP70 yang terekspresi merupakan hasil dari adanya respon stres DO rendah dan TOM yang tinggi di muara Sungai Wonokromo.

Fungsi dari protein HSP70 dala tubuh ikan sebagai penyeimbang sel, dan merupakan protein yang akan terekspresi untuk melindungi sel akibat adanya respon stres dari lingkungan sekitar. Saat keadaan perairan muara Sungai Wonokromo dengan DO yang rendah dan TOM yang tinggi akan menghambat proses metabolisme dalam tubuh ikan. Iwama *et al.*, (1999) menyatakan bahwa perubahan oksigen terlarut, pH, amoniak, kandungan gas, tekanan parsial dan suhu juga bisa membuat ikan menjadi stres. Keadaan ini akan mempengaruhi proses yang terjadi pada organ insang, TOM yang tinggi dalam air kemudiandalam air juga terdapat oksigen terlarut yang rendah yang kemudian berdifusi ke dalam pembuluh kapiler darah yang terdapat dalam insang, saat inilah bahan-bahan organik terlarut ini akan menghambat proses insang saat mengikat oksigen, sehingga proses respirasi ikan menjadi terganggu.

Terganggunya proses yang terjadi saat di organ insang, akan berpengaruh juga terhadap organ internal pada ikan yaitu organ jantung, hati dan ginjal.

Keadaan ini juga dapat dilihat dari hasil *immunoRatio* yang menunjukkan nilai rata-rata tingkat stres pada organ insang sebesar 37,07 %, organ jantung sebesar 30,97 %, organ hati sebesar 49,2 % dan organ ginjal sebesar 33,57 %. Dilihat dari rata-rata tersebut organ yang paling tinggi terekspresi HSP70 adalah organ hati. Hati merupakan organ yang berfungsi untuk menyaring darah dari seluruh tubuh kembali lagi ke hati dan dialirkan lagi ke seluruh tubuh. saat keadaan oksigen terlarut yang rendah, dan nilai TOM yang tinggi menyebabkan darah yang dialirkan melewati organ hati banyak mengandung bahan organik dan rendah kandungan oksigen. Sehingga akan mempengaruhi proses yang terjadi dalam organ hati. Organ hati terdapat sel-sel yang akan mengekspresikan adanya respon stres. Begitu juga dengan organ jantung dan ginjal juga akan ikut mengekspresikan HSP70 akibat keadaan DO yang rendah dan TOM yang tinggi. Ginjal merupakan organ tubuh yang rentan terhadap pengaruh zat-zat kimia, organ ini menerima 25-30% sirkulasi darah untuk dibersihkan, sehingga sebagai organ filtrasi kemungkinan terjadinya perubahan patologik sangat tinggi (Corwin, 2001 dalam Suhita et al., 2013).

Namun, hasil dari muara Sungai Wonokromo masih lebih rendah jika dibandingkan dengan hasil dari muara sebelumnya yaitu muara Sungai Mas. Dilihat dari lingkungan muara yang banyak terdapat pohon mangrove, dapat menjadikan keadaan ekspresi HSP70 lebih rendah. diduga, dengan adanya pohon mangrove, bahan-bahan beracun seperti logam berat akan terserap oleh akar-akan pohon mangrove, begitu juga dengan bahan organik yang tinggi akan dapat sedikit lebih terserap oleh akar-akar pohon mangrove.

Lokasi pengambilan sampel ketiga adalah muara Sungai Porong. Muara ini merupakan anak dari Sungai Brantas yang bermuara di Kabupaten Pasuruan. Aliran sungai yang mengalir ke muara mendapat pengaruh dari beberapa aktivitas manusia antara lain industri, rumah tangga (domestik), begitu juga pertanian dan aktivitas kota yang menghasilkan asap dari kendaraan bermotor. Selain itu, muara Sungai Porong merupakan tempat buangan limbah lumpur lapindo yang berada di Kabupaten Sidoarjo. Tentunya, dialirkannya lumpur lapindo melewati aliran Sungai Porong sampai di muara, akan mempengaruhi keadaan ekosistem sungai dan akan sangat berpengaruh terhadap organisme yang hidup di sungai. Seperti halnya ikan keting yang hidup di muara sungai.

Dilihat dari faktor kualitas air, hasil pengukuran di muara Sungai Porong mendapatkan hasil pH 7, suhu 28,5°C, DO (oksigen terlarut) 2,5 mg/l, salinitas 4,5 ppt, BOD sebesar 25,8 mg/l, COD sebesar 68,8 mg/l, TOM sebesar 87,22 mg/l dan TSS sebesar 0,316 mg/l. Data tersebut menunjukkan nilai suhu cukup normal, sedangkan nilai oksigen terlarut 2,5 mg/l sudah berada dibawah kisaran normal untuk ikan dan juga jauh lebih rendah jika dibandingkan dengan muara Sungai Wonokromo dan muara Sungai Mas, nilai COD juga sudah berada diatas aman untuk perairan dan lebih tinggi jika dibandingkan dengan muara Sungai Wonkromo namun lebih rendah jika dibandingkan dengan muara Sungai Mas, sedangkan nilai TOM juga sudah melebihi batas aman untuk ikan dan lebih tinggi jika dibandingkan dengan muara Sungai Wonkromo namun juga lebih rendah jika dibandingkan dengan muara Sungai Mas.

Afu (2005) dalam Sembiring *et al.*, (2012) menyatakan nilai konsentrasi TOM yang aman adalah ≤ 30 mg/l. Keberadaan TOM adalah total bahan organik yang ada di perairan yang dapat dipengaruhi oleh adanya arus, dapat pula terjadi akibat adanya pasang surut yang dapat membilas keberadaan dari TOM dengan

adanya proses keluarnya air dari muara menu laut (Sembiring, 2012). Selain itu, keberadaan bahan organik dapat juga dipengaruhi lokasi muara sungai yang alirannya membawa segala macam zat yang dapat berasal dari industri ataupun segala aktivitas manusia yang berada di sepanjang aliran sungai menuju muara. ditambah lagi dengan adanya buangan lumpur lapindo yang dialirkan ke Sungai Porong menuju delta di selat Madura. Meskipun demikian, di muara Sungai Porong masih terdapat tumbuhan mangrove dan semak-semak walau hanya sedikit jika dibandingkan banyaknya pohon mangrove di muara Sungai Wonokromo, sehingga dapat dimungkinkan keadaan inilah yang menyebabkan kadungan COD dan TOM di muara Sungai Porong lebih tinggi daripada muara Sungai Wonokromo dan lebih rendah daripada muara Sungai Mas dan untuk hasil kualitas air yang lain masih dalam kisaran normal.

Bedasarkan data kualitas air tersebut dengan kadar oksigen terlarut yang rendah, nilai COD dan TOM yang berada diatas kisaran aman untuk organisme, dapat memberikan dampak terhadap tingkat kesetresan pada Ikan keting. . Iwama *et al.*, (1999) menyatakan bahwa perubahan oksigen terlarut, pH, amoniak, kandungan gas, tekanan parsial dan suhu juga bisa membuat ikan menjadi stres. Keadaan oksigen terlarut yang sangat rendah, akan sangat mempengaruhi proses respirasi oleh insang. Keadaan tersebut akan menjadi respon stres pada pada insang ikan, sehingga dalam sel insang akan berhomeostatis dengan keadaan DO yang rendah untuk mestabilkan proses metabolisme tubuhnya, yang menyebabkan sel akan lebih banyak memproduksi protein HSP70 utuk melindungi sel dalam insang dari terjadinya kerusakan ataupun kematian sel. Terganggunya proses yang terjadi saat di organ insang, akan berpengaruh juga terhadap organ internal pada ikan yaitu organ jantung, hati dan ginjal.

Keadaan ini juga dapat dilihat dari hasil *iimmunoRatio* yang menunjukkan nilai rata-rata tingkat ekspresi HSP70 pada organ insang sebesar 28 %, organ jantung sebesar 54,7 %, organ hati sebesar 81,5 % dan organ ginjal sebesar 80,87 %. Dilihat dari rata-rata tersebut organ yang paling tinggi terekspresi HSP70 adalah organ hati. Hati merupakan organ yang berfungsi untuk menyaring darah dari seluruh tubuh kembali lagi ke hati dan dialirkan lagi ke seluruh tubuh. saat keadaan oksigen terlarut yang rendah, dan nilai TOM yang tinggi menyebabkan darah yang dialirkan melewati organ hati banyak mengandung bahan organik dan rendah kandungan oksigen. Sehingga akan mempengaruhi proses yang terjadi dalam organ hati. Organ hati terdapat sel-sel yang akan mengekspresikan adanya respon stres. Begitu juga dengan organ jantung dan ginjal juga akan ikut mengekspresikan HSP70 akibat keadaan DO yang rendah dan TOM yang tinggi. Ginjal merupakan organ tubuh yang rentan terhadap pengaruh zat-zat kimia, organ ini menerima 25-30% sirkulasi darah untuk dibersihkan, sehingga sebagai organ filtrasi kemungkinan terjadinya perubahan patologik sangat tinggi (Corwin, 2001 dalam Suhita et al., 2013). Dan organ jantung, hati dan ginjal Ikan keting di muara Sungai Porong merupakan rata-rata ekspresi HSP70 paling tinggi jika dibandingkan dengan muara Sungai Mas dan Muara Sungai Wonokromo.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

- Hasil tabulasi kuantitatif ekspresi HSP70 pada organ ikan keting:
 - Muara Sungai Mas : organ insang sebesar 46,53%, organ jantung 43,53%, organ hati sebesar 62,7% dan organ ginjal sebesar 41,67%.
 - Muara Sungai Wonokromo : organ insang sebesar 37,07%, organ jantung sebesar 30,97%, oran hati 49,2% dan organ ginjal sebesar 33,57%.
 - Muara Sungai Porong : organ insang sebesar 28%, organ janutng sebesar 54,7%, organ hati sebesar 81,5% dan organ ginjal sebesar 80,87%.
- Secara keseluruhan hasil penelitian menyebutkan tingkat ekspresi hsp70 pada organ paling tinggi ada di organ hati selanjutnya organ insang kemudian organ ginjal, organ jantung dan dimulai dari muara Sungai Porong, muara Sungai Mas, muara Sungai Wonokromo.
- Organ insang yang paling tinggi terekspresi hsp70 ada di sungai Mas sebesar 46,54%, organ jantung yang paling tinggi terekspresi hsp70 ada di Sungai Porong sebesar 54,7%, organ hati yang paling tinggi terekspresi hsp70 ada di Sungai Porong sebesar 81,5% dan organ ginjal yang paling tinggi terekspresi hsp70 ada di muara Sungair Porong sebesar 80,87%.
- Nilai kualitas air yang paling berpengaruh yaitu suhu berpegaruh terhadap organ insang dengan nilai $r = 0,379$ (korelasi rendah), DO sangat berpengaruh terhadap organ hati dengan nilai $r = 0,856$ (korelasi sangat kuat), salinitas sangat berpengaruh terhadap organ insang dengan nilai $r = 0,855$ (korelasi kuat), BOD sangat berpengaruh terhadap organ insang dengan nilai $r = 0,472$ (korelasi cukup), COD sangat berpengaruh terhadap organ insang dengan

nilai $r = 0,825$ (korelasi sangat kuat), TOM sangat berpengaruh terhadap organ hati dengan nilai $r = 0,815$ (korelasi sangat kuat) dan TSS sangat berpengaruh terhadap organ insang dengan nilai $r = 0,589$ (korelasi cukup).

5.2 Saran

Saran yang dibutuhkan untuk masing-masing muara adalah diharapkan kesadaran dan tindakan nyata dari tiap pribadi agar lebih menjaga lingkungan misalkan contoh kecilnya dengan tidak membuang sampah ke sungai, ataupun tidak menebangi pohon mangrove serta untuk pabrik-pabrik yang dilewati oleh aliran sungai sampai menuju muara dibutuhkan tindakan nyata agar saling menjaga lingkungan misalkan dengan cara pengolahan limbah yang baik serta pembuangan limbah dengan baik sesuai PP RI No. 82 thn 2001 Tentang Pengelolaan kualitas air dan pengendalian pencemaran air, sehingga diharapkan dapat meminimalisir dampak pencemaran lingkungan yang diakibatkan oleh segala aktivitas manusia di daratan dan respon stres yang akan muncul pada organisme perairan ataupun manusia dapat juga diminimalisir. Dibutuhkan juga kesadaran dari semua stakeholder untuk lebih mencintai dan menjaga keberlangsungan air sungai.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, Y., Amin B., Thamrin. 2012. Analisis Beban dan Indeks Pencemar di Tinjau Dari Parameter Logam Berat Di Sungai Siak Kota Pekanbaru. *Jurnal Lingkungan* 2012 :6 (2)
- Afonso, L.O.B., S. hosoya, J. osborne, A. K. Gamperl, S. Johnson. 2008. Lack of glucose and hsp70 responses in haddock *Melanogrammus aeglefinus* (L.) subjected to handling and heat shock. *National Research Council Canada* **72**, 157–167
- Aisyah, S., Luki, S. 2012. Pengukuran dan Evaluasi Kualitas Air Dalam Rangka Mendukung Pengelolaan Perikanan di Danau Limboto. *Prosiding Seminar Nasional Limnologi VI*. Pusat Penelitian Limnologi. LIPI
- Andrian, C. 2011. Dampak Sosial Bencana Lumpur Lapindo dan Penanganannya Di Desa Renokenongo. *Sikripsi Program Studi Ilmu Adminitrasi Negara Fakultas Ilmu Sosial Dan Ilmu Politik Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Jawa Timur*
- Armita, D. 2011. Aalisis Perbandingan Kualitas Air di Daerah Budidaya Rumput Laut Dengan Daerah Tidak Ada Rumput Laut, di Dusun Malelaya, Desa Punaga, Kecamatan Mangarabombang, Kabupaten Takalar. *Sikripsi Universitas Hasanuddin. Makassar*.
- Asniatih, Idris, M., Sabilu, K. 2013. Studi Histopatologi pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias gareiepinus*) yang Terinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Mina Laut Indonesia*. Vol. 03 No. 12 2303-3959
- Aziz, Aznam. 1994. Pengaruh Salinitas Terhadap Sebaran Fauna Ekhinodermata. *Oseana* Vol.XIX No.2 : 23-32
- Bagusrn-fpik09. 2011. **Mengenal Jenis Ikan Baung**. http://bagusrn-fpk09.web.unair.ac.id/artikel_detail-35817-Perikanan-Mengenal%20Jenis%20Ikan%20Baung.html
- Barus, T.A. 2002. Pengantar Limnologi. Jurusan Biologi Fakultas MIPA. Universitas Sulawesi Utara. Medan
- Balai Konservasi Sumber Daya Alam Jawa Timur. 2006.
- Christiawan, Riyan. 2013. Respon Inflamasi Jaringan Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivetis*) Yang di Induksi VNN (Viral Nervous Necrosis) dan Crude Protein *Nannochloopsis oculata* Terhadap Ekspresi HSP70 (Heat Shock Protein 70). *Sikripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Malang*.

Cliquers, Zuna Miura. 2014. **Imunohistokimia Adalah Metode Untuk Mendeteksi Protein Di Dalam Sel Suatu Jaringan Dengan Menggunakan Prinsip Pengikatan Antara Antibodi Dan Antigen Pada Jaringan Hidup.**

<http://www.scribd.com/doc/71230915/Imunohistokimia-Adalah-Metode-Untuk-Mendeteksi-Protein-Di-Dalam-Sel-Suatu-Jaringan-Dengan-Menggunakan-Prinsip-Pengikatan-Antara-Antibodi-Dan-Antigen-P> diakses tanggal 16 september 2014 pukul 10:59

Csemely, P., Yaharu, I. 2002. Chapter 6 Heat Shock Proteins. Page 75

Deane, E.E., Woo, N.Y.S. 2005. Cloning and characterization of the hsp70 multigene family From silver sea bream: Modulated gene expression between warm and cold temperature acclimation. Biochemical and Biophysical Research Communications 330 (2005) 776–783

Effendie, M. Ichsan. 1972. Biologi Ikan. Dosen Ichtyologi dan Biologi Perikanan Pada Fakultas Perikanan IPB. Bogor

Effendi, H. 2003. Telaah Kualitas Air Bagi Pengelolaan Sumber Daya dan Lingkungan Perikanan. Kanisius. Yogyakarta

Fajri, N.E dan Karsy, A. 2013. Kualitas Perairan Muara Sungai Siak Ditinjau Dari Segi Fisik-Kimia dan Makrozoobentos. Berkala Perikanan Terubuk Vol. **41** No. 1 ISSN 0126—4265

Fauziah, A.R., Rahardja, B.S., Cahyoko, Y. 2012. Korelasi Ukuran Kerang Darah (Anadara granosa) dengan Konsentrasi Logam Berat Merkuri (Hg) di Muara Sungai Ketingan, Sidoarjo, Jawa Timur. Journal Of Marine and Coastal Science **1**(1), 34-44

Feldhals J.W; Scott A.H; Mathew G.M. 2008. Hepatic Heat Shock Protein 70 and Plasma Cortisol Levels in Rainbow Trout after Tagging with a Passive Integrated Transponder. Transactions of the American Fisheries Society 137:690-695.

Ferraris, C.J.R. 2007. Zootaxa-Checklist of Catfishes, Recent and Fossil (Osteichthyes: Siluriformes), and Catalogue of Siluriform Primary Types. Mognolia Press. Auckland, New Zealand.

Fishbase. 2014. <http://www.fishbase.org/summary/11990> diakses pada tanggal 19 September 2014 pukul 0:46

Fishypedia. 2015. <http://www.iftfishing.com/blog/mancing/fishypedia/ikan-keting/>

Googlemap. 2014. Peta Jawa Timur

Hariyadi, S., Suryadiputra dan B. Widigdo. 1992. Limnologi Metode Kualitas Air. Fakultas Perikanan Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Hartanto, B.D., Dermawan, V., Sisinggih, D. 2014. Analisa Pola Penyebaran Sedimen di Kali Porong Akibat Tambahan Sedimen Dari Pengaliran Lumpur Sidoarjo. Teknik Pengairan Universitas Brawijaya, Malang.

Harnanto, A. Peranan Kali Porong dalam Mengalirkan Lumpur Sidoarjo Ke Laut. Badan Pelaksana Badan Penanggulangan Lumpur Sidoarjo (BAPEL-BPLS). Sidoarjo

Hutabarat, S., Evans, S.M. 2006. Pengantar Oseanografi. UI Press. Jakarta

Ismayanti, R. 2015. [http://www.academia.edu/9001147/Permasalahan Kesehatan Lingkungan di Indonesia](http://www.academia.edu/9001147/Permasalahan_Kesehatan_Lingkungan_di_Indonesia) Diakses tanggal 4 Agustus 2015 pukul 3:06pm

Iwama, G.K., Vijayan, M.M., Frolyth, R.B. Ackerman, P.A. 1999. Heat Shock Protein And Fisiologis Stress In Fish1. Amer Zool, Faculty of Agricultural Sciences and the Canadian Bacterial Diseases Network, 208-2357 Main Mall Vancouver, British Columbia V6T 1Z4 Canada. 39:901—909 (1999).

Iwama, G.K., Afonso, L.O.B., Todgham, A., Ackerman, P., Nakano, K. 2003. Are hsp90 Sustainable for indicating stressed states in fish?. The Journal of Experimental Biology 207, 15-19

KepMenLH No.115. 2003. Keputusan Menteri Lingkungan Hidup Tentang Pedoman Penentuan Status Mutu Air. Jakarta

KepMenLH. No. 51. 2004. Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup Tentang Baku Mutu Air Laut. Jakarta

Kordi, G.M., Tancung, H.K.A.B. 2005. Pengelolaan Kualitas Air Dalam Budidaya.Rineka Cipta. Makassar

Kuncowati. 2010. Pengaruh Pencemaran Minyak di Laut Terhadap Ekosistem Laut. Jurusan Nutika, Program Diploma Pelayaran, Universitas Hang Tuah. Surabaya

Labellapansa, A., Izzati, M., Indrayanti. 2013. Klasifikasi Citra Immunohistokimia Sel Kanker Payudara HER2 Stroke1+ dan 3+. Teknik Informatika Universitas Islam Indonesia. Yogyakarta.

Laporan Bulanan Data Sosial Ekonomi. 2013. Laporan Bulanan Data Sosial Ekonomi Edisi 40. Katalog BPS: 9199017 . Badan Pusat Statistik

Lazuardi, W., Wicaksini, A.W., dan Utama, F.N. 2012. Konsentrasi Chemical Oxygen Demand (COD) Pada Air Tanah di Kawasan Lingkar Kampus Institut Pertanian Bogor. Departemen Teknik Sipil dan Lingkungan, IPB. Bogor.

Machrodania. 2014. **Ikan Keting**. <http://www.scribd.com/doc/141902451/IKAN-KETING>

- Meilawati, Y.Y., Hary, P. Yulianti, P. 2006. **Analisis Kualitas Air dan Sedimen di Daerah Muara Sungai Cipalabuhan.** Jurusan Teknik Lingkungan. Fakultas Teknik Universitas Pasundan
- Mokoagou, D. 2008. Indeks Keanekaragaman Biota Perairan Sebagai Indikator Biologis Pencemaran Logam Berat di Perairan Pantai Bitung, Sulawesi utara. Universitas Sam Ratulangi, Manado. *EKOTON* Vol. **8** (2:31-40)
- Mirabel, S.L. 2012. **Hsp70-Membranexpression auf Sarkomen-eine tumorspezifische Zielstruktur.** der Technischen Universität München ei Jerman.
- Munawara. 2015. http://www.academia.edu/9541406/HIDRO_DAS diakses tanggal 4 agustus 2015 pukul 2:33pm
- Nganro, Noorsalam R. 2009. **Metoda Ekotoksikologi Perairan Laut Terumbu Karang.** Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati ITB. Bandung
- Oladiran, A., Belosevic, M. 2009. Trypanosoma carassii hsp70 increases expression of inflammatory cytokines and chemokines in macrophages of the goldfish (*Carassius auratus L.*). *Developmental and Comparative Immunology* 33 (2009) 1128–1136
- Omar, S.B.A. 2011. Ikhtiologi. Fakultas Ilmu Kelutan dan Perikanan Universitas Hasanuddin. Makassar.
- PPRI No.82. 2001. Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Tentang Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air. Kementrian Lingkungan Hidup, Jakarta.
- Prihanto, A.A., Firdaus, M., Nurdiana, R. 2011. Penapisan Fitokimia Dan Antibakteri Ekstrak Metanol Mangrove (*Excoecaria agallocha*) Dari Muara Sungai Porong. *Berk Penel Hayati* : 17 (69-73).
- Pockley, A.G., Shepherd J., Corton J.M. 1998. Detection of heat shock protein 70 (HSP70) and anti-HSP70 antibodies in the serum of normal individuals. *Immunol invest* 26: 367-377.
- Putri, Rizka R. 2013. Perubahan Struktur Jaringan Mata dan Otak Pada Larva Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) Yang Terinfeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN) Dengan Pemeriksaan *Scanning Electron Microscope* (SEM). Sikripsi. Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Malang
- Ramadhani, D., Kurnia, I., Soetopo, S., Tetriana, D., Ramli, I., Budiningsih., Andrijomo, Kurjana, T., Tobing, M.D.L. 2012. Analisis Serta Stching Citra Imunohistokimia MIB-1 Dengan ImmunoRatio dan Perangkat Lunak Nish Element D 2.30. Lokakarya Komputasi dalam Sains dan Teknologi Nuklir, 2012 (187-196)

- Rahmatullah, J. 2010. Osmoregulasi. <http://iefry-bp09.blogspot.com/2010/12/osmoregulasi.html> diakses pada tanggal 4 Agustus 2015 pukul 3:44 pm
- Rompas, R.M. 2010. **Toksikologi Kelautan**. Walaw Bengkulen. Jakarta Timur.
- Said, D.S., Supyawati, w.d., Tissanigsih. 2005. Pengaruh Jenis Pakan dan Kondisi Cahaya Terhadap Penampilan Warna Ikan Pelangi Merah (*Glossolepis inciscus*) Jantan. Fakultas Biologi Universitas Nasional Jakarta. Jakarta
- Seputarikan. 2014. <http://www.seputarikan.com/2014/10/ikan-keting-atau-lundu-mystus-nigriceps.html>
- Salmin, 2005. Oksigen Terlarut (DO) dan Kebutuhan Oksigen Biologi (BOD) Sebagai Salah Satu Indikator Untuk Menentukan Kualitas Perairan. Jurnal Oseana, Vol. **30** no. 3 (2005 : 21—26)
- Samsundari, S., Perwira, I.Y. 2011. Kajian Dampak Pencemaran Logam Berat di Daerah Sekitar Luapan Lumpur Sidoarjo Terhadap Kualitas Air dan Budidaya Perikanan. GAMMA Vol. **6** No.2 (129-136).
- Saputra, H.M., Marusin, N., Santoso, P. 2013. Struktur Histologis Insang dan Kadar Hemoglobin Ikan Asang (*Osteochilus hasseltii* C.V) di Danau Singkarak dan Maninjau, Sumatera Barat. Jurnal Biologi Universitas Andalas (J.Bio.UA.) **2**(2) 2013 : 138-144
- Sari, A.E.M., Purnomo, T., Winarsih. 2013. Kajian Perairan Estuari Porong Sidoarjo Jawa Timur Berdasarkan Indeks Keanekaragaman Makrozoobentos. LenteraBio Vol. 2 No. 1 (2013) 81-85.
- Santoso, P. 2010. Studi Heat Shock Protein 70 (HSP70) dalam Ginjal Cranial Ikan Mas (*Cyprinus Carpio* L) Setelah 24 jam Paparan Linear AlkylBenzene Sulfonate (LAS). Staf Pengajar Jurusan Perikanan dan Kelautan Fakultas Pertanian, UNDANA. **10** (2) 2010
- Sembiring, S.M.R., Melki, Agustriani, F. 2012. Kualitas Perairan Muara Sangsang Ditinjau dari Konsentrasi Bahan Organik pada Kondisi Pasang Surut. Maspari Journal (2012), **4** (2), 238-247
- Sastrodipadji, A. 2000. Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian. Kanisius. Yogyakarta
- Setyowati, A., Dewi,H., Awik, P.D.N., Nurlita, A. 2010. Studi Histopatologi Hati Ikan Belanak (*Mungil cephalus*) Di Muara Sungai Aloo Sidorjo. Biologi, Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam, ITS Surabaya.
- SNI. 1990. Kumpulan SNI Kualitas Air. Departemen Pekerjaan Umum. Jakarta
- Sofian, A., Nugroho, K. 2006. Peran Pemeriksaan Imunohistokimia Vimentin sebagai Penanda Asal Jaringan Kanker Endometrium. Departemen Obstetri Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia Rumah

Sakit Dr. Cipto Mangunkusumo, Jakarta. Maj Kedokt Indon, Volum: 56, Nomor: 2.

Sudaryanti, S.; Wijarni. 2006. Biomonitoring. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Malang.

Sudaryatma, P.E., Eriawati, N.N., Panjaitan, I.F., Sunarsih, N.L. 2013. Histopatologi Insang Ikan Lele (*Clarias bathracus*) yang Terinfeksi *Dactylogyrus* sp. *Acta Veterinaria Indonesiana*. Vol. 1 No. 2: 78-83

Suherman, H., Iskandar. Sri, A. 2002. Studi Kualitas Air Pada Petakan Pendederan Benih Udang Windu (*Peaeus monodon* Fab) di Kabupaten Indramayu. Fukultaas Pertanian Universitas Padjadjaran.

Suhita, N.L.P.S., Sudira, I.W., Ida, B.O.W. 2013. Histopatologi Ginjal Tikus Putih Akibat Pemberian Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica*) Peroral. Laboratorium Phatologi Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Udayana Denpasar Bali

Sukadi. 1999. Pencemaran Sungai Akibat Baungan Limbah dan Pengaruhnya Terhadap BOD dan DO. Jurusan Pendidikan Teknik Bangunan. Fakultas Pendidikan Teknologi dan Kejuruan. Institut Keguruan dan Ilmu Pendidikan Bandung. Vol. 5 No. 2. ISSN: 2085-2495

Sukarni., Maftuch., Nursyam, H. 2012. Kajian Penggunaan Ciprofloxacin terhadap Histologi Insang dan Hati Ikan Botia (*Botia macracanthus*, *Bleeker*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Vol. 2 No. 1 ISSN 2087-2952

Sulistyowati, S., Abadi, A., Wijati. 2010. Ekspresi Protein MHC Klas 1b (HLA-G/Qa-2) yang Rendah Terhadap Profil Hsp70 dan VCAM-1 pada Preeklampsia. *Indones J Obset Gynecol* Vol. 34 No.3

Susana, T. 2009. Tingkat Keasaman (Ph) Dan Oksigen Terlarut Sebagai Indikator Kualitas Perairan Sekitar Muara Sungai Cisadane. *Jurnla Teknologi Lingkungan*, Jakarta Vol. 2 No. 5 (2009)

Surya, R. 2013. Surya Mina Farm. Sleman Yogyakarta <http://www.bibitikan.net/mengenal-anatomi-organ-dalam-ikan-mas-koki/#more> di akases pada tanggal 23 September 2014 pukul 0:30

Tarwiyah. 2001. Pedoman Teknis Penanggulangan Penyakit Ikan Budidaya Laut. Ristek Direktorat Bina Pembenihan Direktorat Jenderal Perikanan Departemen Pertanian. Jakarta

Ulfatin, N. 2004. Penelitian Kualitatif. UM Press. Universitas Negeri Malang.

Upi. 2014. *Sistem Ekskresi*. file.upi.edu/.../SISTEM_EKSKRESI_ZV.pdf pada tanggal 19 September 2014 pukul 1:10

Usman, S., Nafie, N.L., Ramang, M. 2013. Distribusi Kualitatif Logam Berat Pb dalam Air, Sedimen dan Ikan Merah (*Lutjanus erythropterus*) di Sekitar

Perairan Pelabuhan Parepare. Universitas Hasnuddin, Makassar.
Marina Chimica Acta. Vol.14 No.2

Varghase, F., Bukhari, A.B., Malhotra, R., De, A. 2014. IHC Profiler: An Open Source Plugin For the Quantitative Evaluation and Automated Scoring of Immunohistochemistry Images of Human Tissue Sampels. Vol.9 Issue 5

Wahyudeewantoro, G. 2009. Komposisi Jenis Ikan Perairan Mangrove Pada Beberapa Muara Sungai DI Taman Nasional Ujung Kulon, Pandegelang-Banten. Zoo Indonesia Jurnal Fauna Tropika. Vol.18 (2), 45-103

Wahyudewantoro, G., Haryono. 2011. Ikan Kawasan Mangrove Pada Beberapa Sungai di Sekitar Taman Nasional Ujung Kulon, Pandegelang, Tinjauan Musim Hujan. Bionatura-Jurnal Ilmu-ilmu Hayati dan Fisik (2011). Vol. 13 No.2 , 217-225

Wibowo, B. 2012. Metodologi Penelitian. ROsindo. Malang.

Widayati, D.E., Aunurrohim, Abdulgani, N. 2010. Studi Histopatologi Insang Ikan Mujair (*Oreochromis mossambicus*) Pada Konsentrasi Sublethal Air Lumpur Sidoarjo. Biologi MIPA. ITS. Surabaya.

Yanuhar, U. 2009. Pengaruh Pemberian Bahan Aktif Ekstrak *Nannochloropsis oculata* Terhadap Kadar Radikal Bebas Pada Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) Yang Terinfeksi Bakteri *Vibrio alginolyticus*. Water Resources Management, Faculty of Fisheries and Marine Science, Brawijaya University. Malang

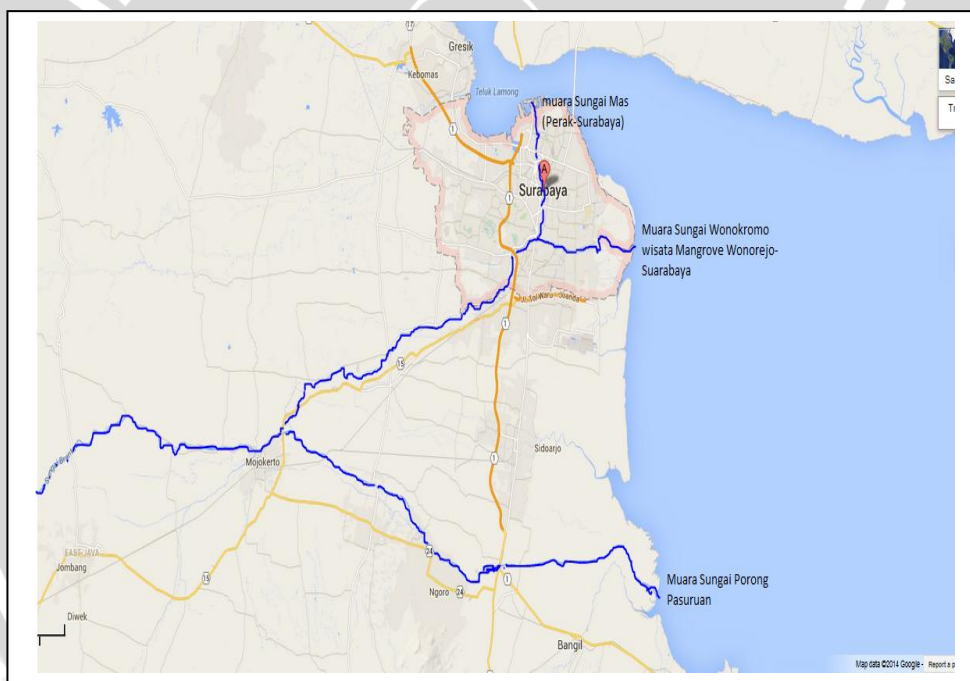
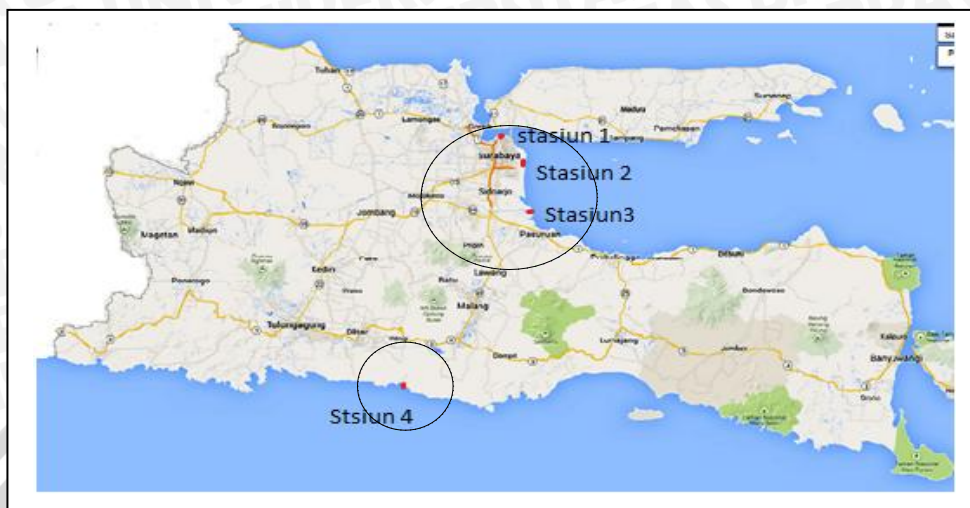
Zakhartsev, M. Wachter B.D., Johansen T., Portner, H.O., Blust, R. 2005. Hsp70 Is Not A Sensitive Indicator Of Thermal Limitation In *Gadus morhua*. Journal of fish Biology (2005) 67,767-778

Lampiran 1

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
Pipet tetes	Mengambil larutan dalam skala kecil
Beaker glass	Sebagai tempat larutan
Erlenmeyer	Sebagai tempat menghomogenkan larutan
Section set	Untuk membedah ikan Keting
Microplate	Untuk mengambil larutan dalam skala yang sudah ditentukan
Spatula	Untuk mengaduk bahan
Timbangan analitik	Untuk menimbang sampel dengan ketelitian 10^{-2}
Hot plate	Untuk memanaskan PBS
Objek glass	Sebagai tempat pembuatan preparat
Mikroskop <i>Olympus</i>	Untuk mengamati jaringan organ
Spatula	Untuk membantu menghomogenkan larutan
Nampan	Sebagai wadah alat dan bahan
Kamera DSLR	Untuk mengambil gambar pengamatan
Micropipet	Untuk meneteskan antibodi

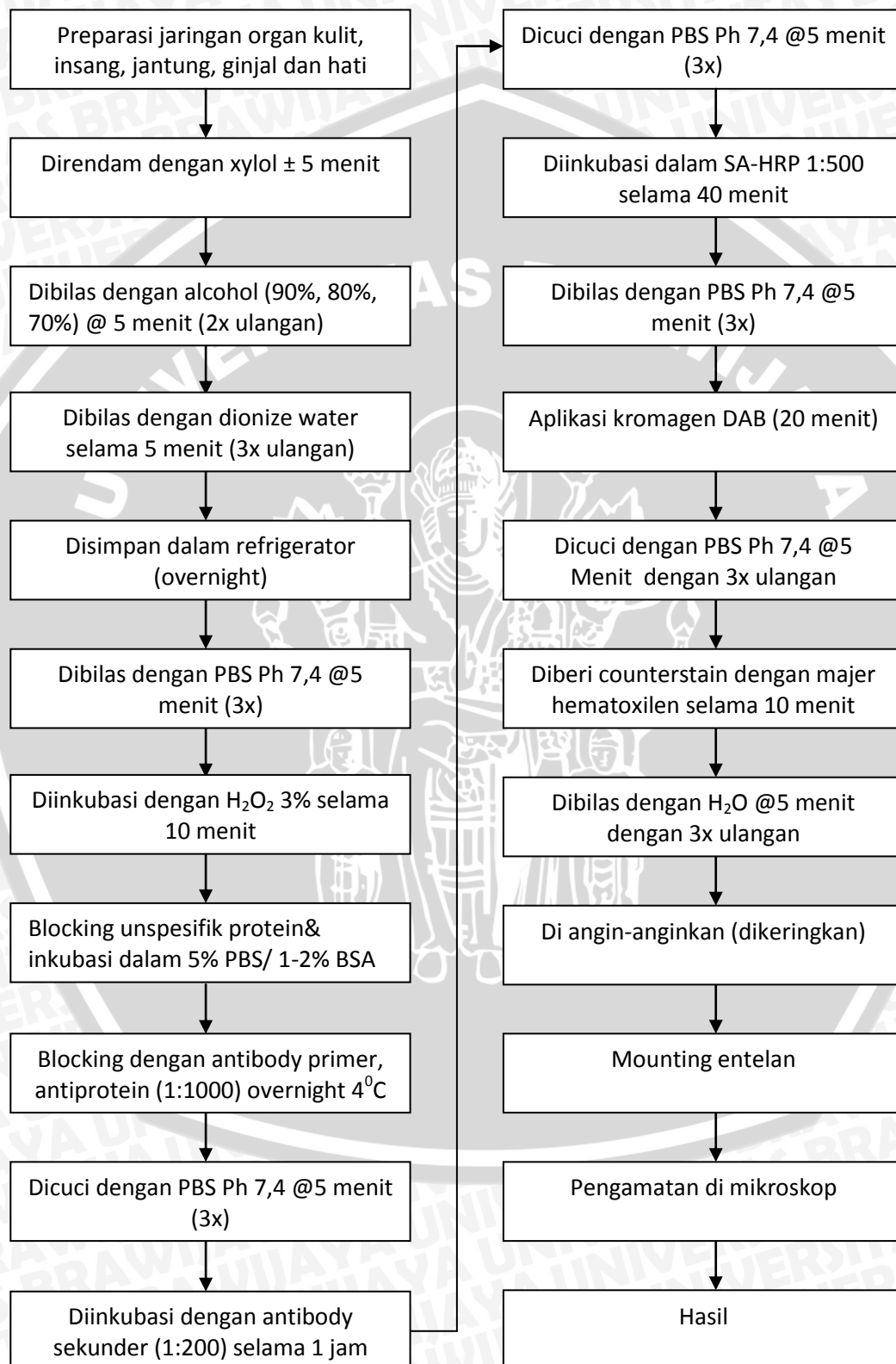
Nama Bahan	Fungsi Bahan
Keting	Sebagai ikan uji
<i>Phospat Buffer Saline</i> (PBS)	Untuk menjaga integritas sel atau tidak merusak sel
Masker	Untuk melindungi bahan dari kontaminasi
Sarung tangan	Untuk melindungi bahan dari kontaminasi
Aquadest	Untuk mengkalibrasi alat dan bahan
<i>Xylo</i>	Sebagai pelarut dalam proses IHK
Glicyn	Sebagai pelarut pada saat isolasi protein
<i>Aluminium foil</i>	Untuk menyimpan bahan pada suhu ekstrim
Kertas saring	Untuk menyaring air sampel
Alkohol 70%	Untuk sterilisasi alat yang akan digunakan
anti Mouse HSP70	Sebagai antibodi pada saat melakukan IHK
Formalin 10%	Untuk menyimpan organ sebelum di dapraffin

Lampiran 2. Peta Pengambilan Sampel

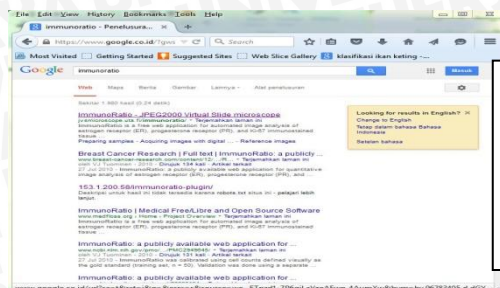


Lampiran 3

- Prosedur IHC mnegacu pada metode Yanuhar (2009), sebagai berikut:



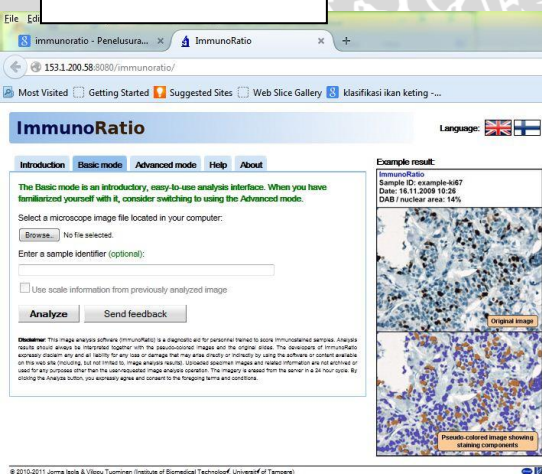
Lampiran 4. Alur penggunaan software ImmunoRatio



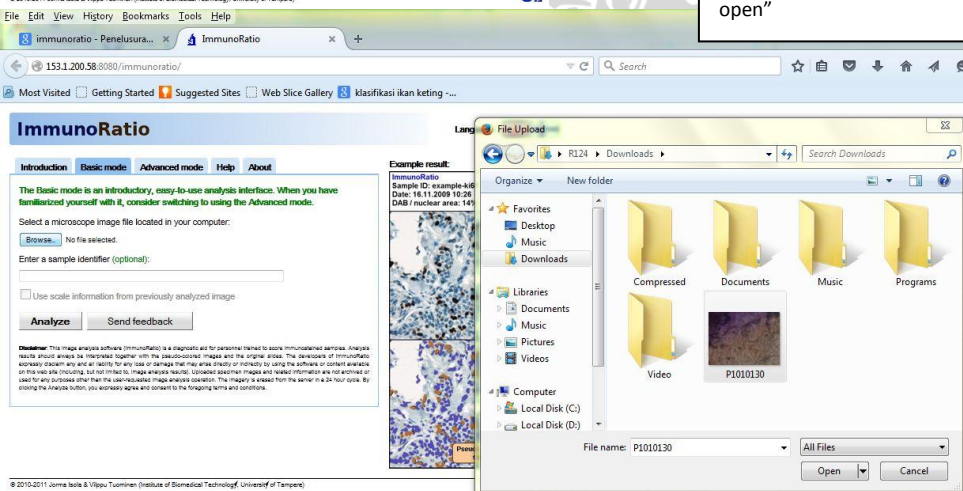
Search kata **ImmunoRatio** pada kolom search google. Selanjutnya klik hasil search dengan judul “immunoRATIO – JPEG2000 Virtual_Slide_microscope.”

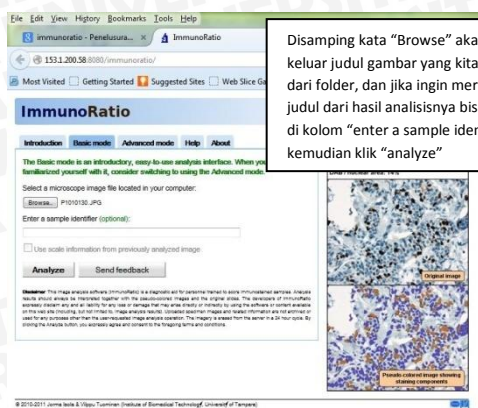
Klik kotak yang berwarna hijau dengan tulisan “click here to start analyzing your images!”

Setelah muncul menu seperti digambar, klik kata “browse”

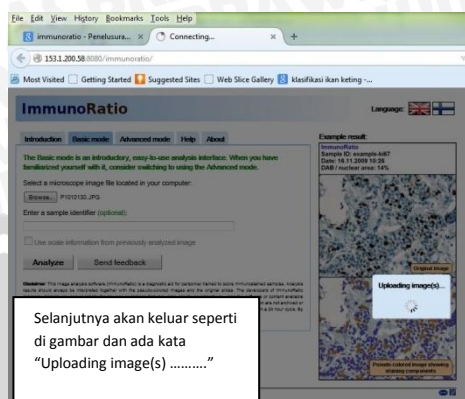


Selanjutnya, klik atau buka folder image yang akan di analisis dengan immunoRatio : “buka folder – klik gambar yang dituju – open”

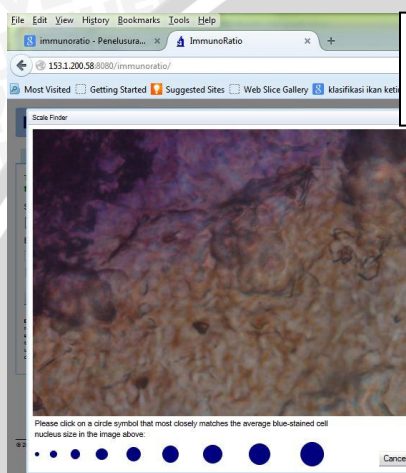




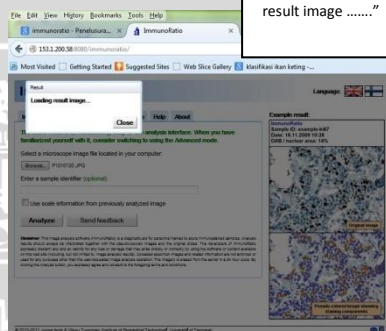
Disamping kata "Browse" akan keluar judul gambar yang kita pilih dari folder, dan jika ingin merubah judul dari hasil analisisnya bisa klik di kolom "enter a sample identifier" kemudian klik "analyze"



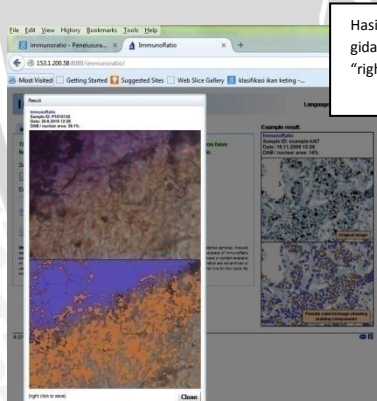
Selanjutnya akan keluar seperti di gambar dan ada kata "Uploading image(s)"



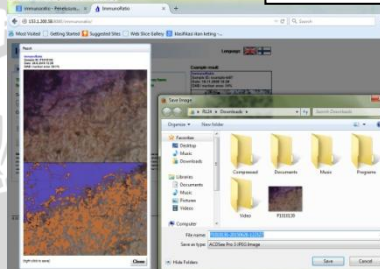
Akan muncul seperti gambar, klik salah satu bulatan biru dibawah gambar, besarnya bulatan biru menunjukkan tingkat kedetailan analisis yang dihasilkan



Selanjutnya akan keluar seperti digambar dengan kata "loading result image"



Hasilnya akan keluar seperti digambar, selanjutnya klik "right click to save"

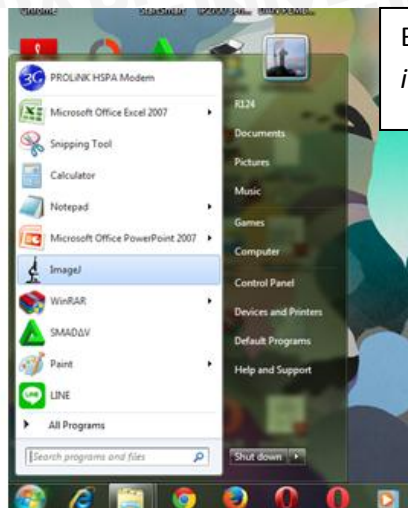


Kemudian pilih folder untuk menyimpan data gambar

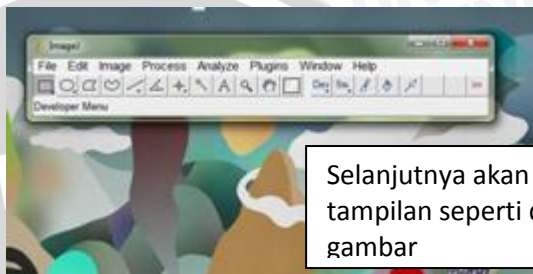


Hasil

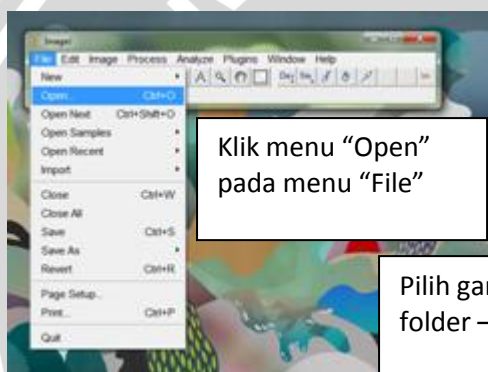
Lampiran 5. Alur penggunaan software ImageJ



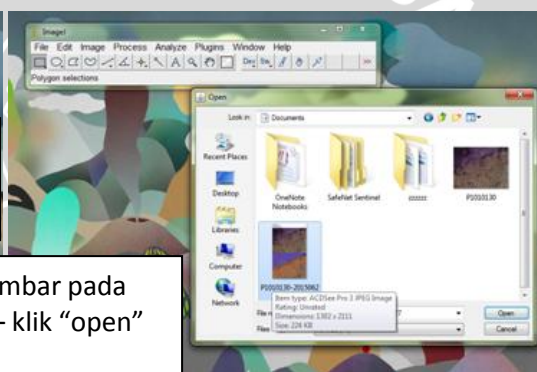
Buka software
imageJ



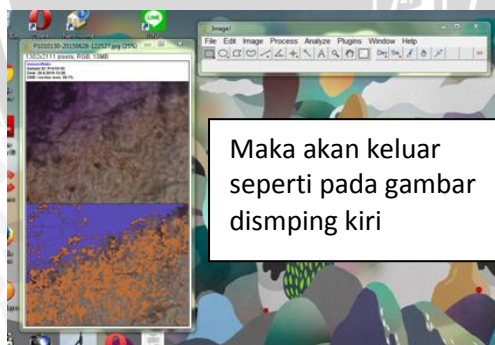
Selanjutnya akan keluar
tampilan seperti di
gambar



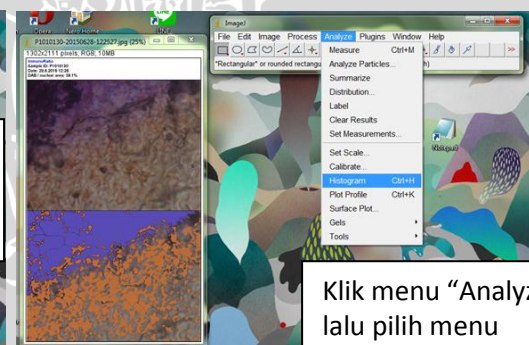
Klik menu "Open"
pada menu "File"



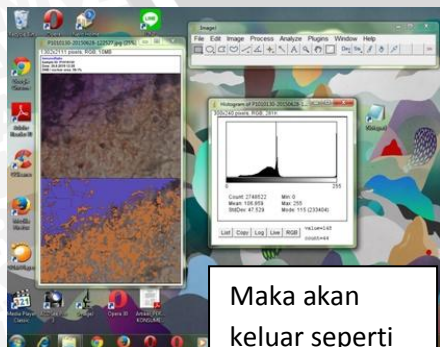
Pilih gambar pada
folder – klik "open"



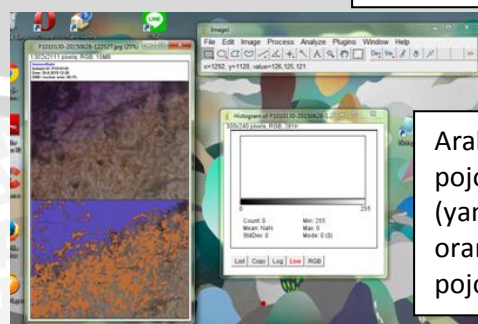
Maka akan keluar
seperti pada gambar
disamping kiri



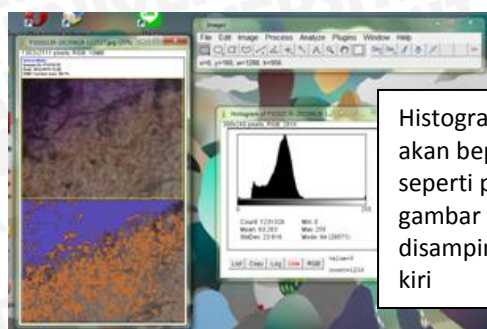
Klik menu "Analyze"
lalu pilih menu
"Histogram"



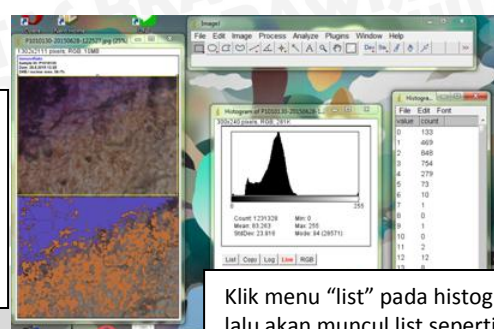
Maka akan
keluar seperti
pada gambar



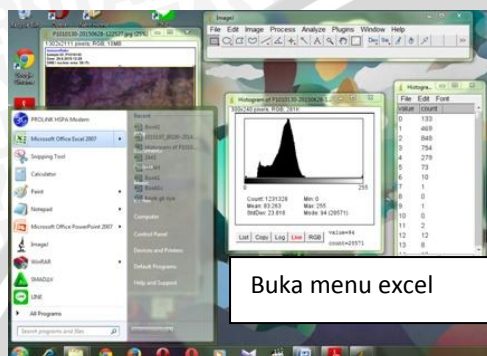
Arahkan kursor pada
pojok kiri bawah gambar
(yang tidak ada warna
orange), tarik sampai
pojok kanan atas gambar



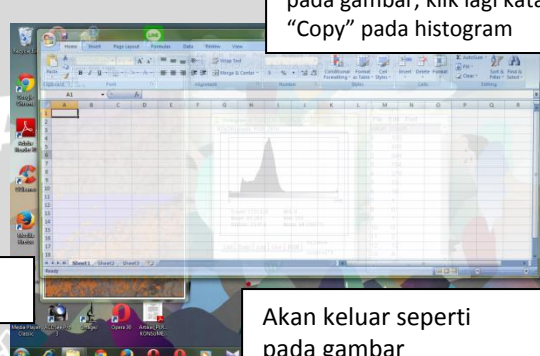
Histogram akan bepola seperti pada gambar disamping kiri



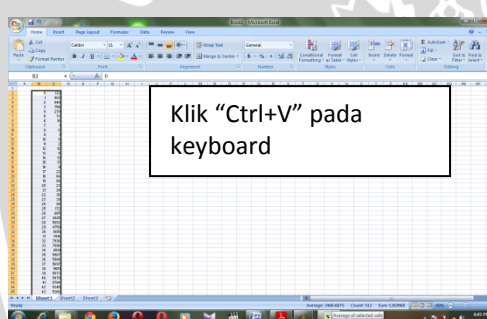
Klik menu "list" pada histogram lalu akan muncul list seperti pada gambar, klik lagi kata "Copy" pada histogram



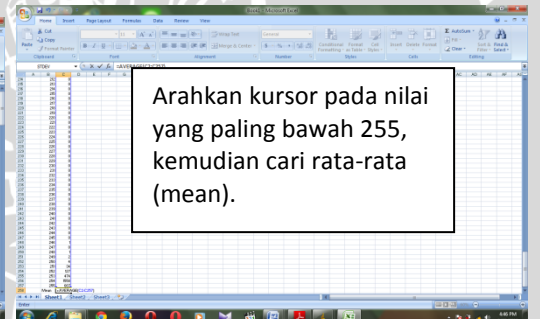
Buka menu excel



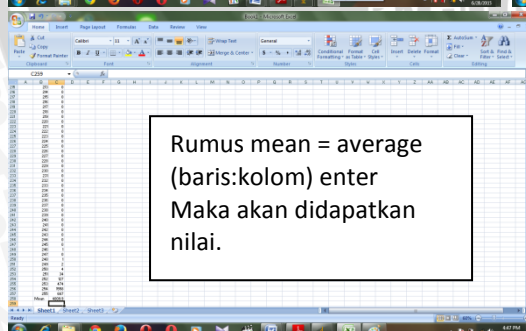
Akan keluar seperti pada gambar



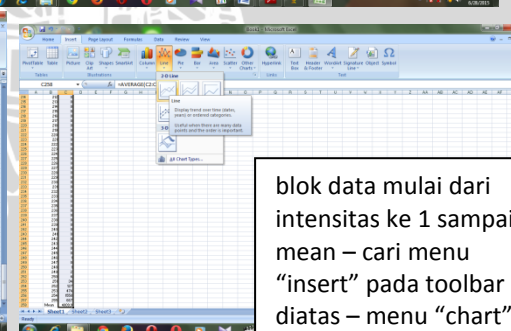
Klik "Ctrl+V" pada keyboard



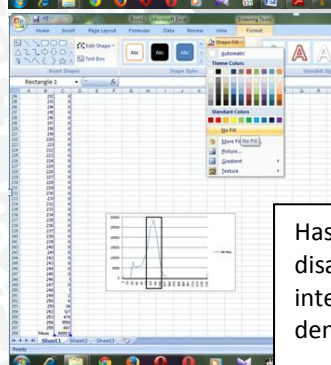
Arahkan kursor pada nilai yang paling bawah 255, kemudian cari rata-rata (mean).



Rumus mean = average (baris:kolom) enter Maka akan didapatkan nilai.



blok data mulai dari intensitas ke 1 sampai mean – cari menu "insert" pada toolbar diatas – menu "chart" – pilih menu "line" – pilih bentuk yang diinginkan/yang sesuai



Hasil nya seperti pada gambar disamping. Kemudian tandai intensitas yang paling tinggi dengan kotak.

Lampiran 6. Hasil tabulasi kuantitatif ekspresi HSP70 pada organ ikan keting dari empat muara di Jawa Timur dengan software *immunoRatio*.

ORGAN		St. 2 Muara Sungai Mas	St. 3 Muara Sungai Wonokromo	St. 4 Muara Sungai Porong
Insang	Gambar 1	49.7	23.5	20.5
	Gambar 2	60.6	54.2	26.7
	Gambar 3	29.3	33.5	36.8
Rata-rata		46.5333	37.06667	28
Jantung	Gambar 1	67.8	29	44.2
	Gambar 2	31.3	17.1	65
	Gambar 3	31.5	46.8	54.9
Rata-rata		43.5333	30.96667	54.7
Hati	Gambar 1	62.8	51.7	71.6
	Gambar 2	80.8	56	72.9
	Gambar 3	44.5	39.9	100
Rata-rata		62.7	49.2	81.5
Ginjal	Gambar 1	32.7	33.1	62.2
	Gambar 2	41.2	14.1	87.3
	Gambar 3	51.1	53.5	93.1
Rata-rata		41.6667	33.56667	80.8667

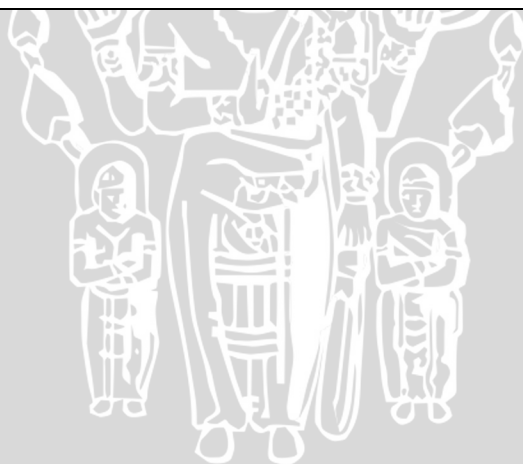
- Ekspresi hsp70 pada organ ikan keting dari software *imageJ* :

M.S Mas			M.S Wonokromo			M.S Porong		
Organ	Point	Value	Organ	Point	Value	Organ	Point	Value
Insang	54	3194	Insang	69	28876	Insang	116	21916
	7	3526		121	1901		101	26451
	67	4161		67	2026		94	13825
Jantung	122	24108	Jantung	94	21172	Jantung	28	20319
	82	22364		32	2985		73	17677
	97	27338		48	31055		59	20769
Hati	102	42013	Hati	75	5909	Hati	93	9717
	112	45243		87	4944		66	2959
	122	21325		81	8017		65	2259
ginjal	67	19450	ginjal	54	12779	Ginjal	48	12033
	74	17560		51	13109		43	22079
	67	19104		54	16925		43	20573

Keterangan : a. M.S (Muara Sungai)

b. Zona 0-60 positif kuat, zona positif 61-120, zona 121-180 positif lemah, zona 181-235 negative dan zona 235-255 tidak terlabel

Parameter Kualitas Air	Nilai KF (r)				Keterangan
	Organ Insang	Organ Jantung	Organ Hati	Organ Ginjal	
pH	r=0,141	r=0,327	r=0,485	r=0,601*	
Suhu	r=0.379*	r=0,041	r=0,274	r=0,118	
DO	r=0,560	r=0,729	r=0,856*	r=0,789	
Salinitas	r=0,855*	r=0,279	r=0,253	r=0,032	
BOD	r=0,472*	r=0,105	r=0,212	r=0,202	
COD	r=0,825*	r=0,319	r=0,283	r=0,063	
TOM	r=0,716	r=0,708	r=0,815*	r=0,700	
TSS	r=0,589*	r=0,032	r=0,071	r=0,266	
Keterangan :	0,00-0,199 sangat rendah; 0,20-0,399 rendah; 0,40-0,599 cukup; 0,60-0,799 kuat dan 0,80-1,000 sangat kuat (Sudjana, 1982).				



Lanjutan Lampiran 6

• Hasil Analisis korelasi regresi parameter kualitas air dan organ

Organ	Parameter	Slope	KD	KF	Ket.
Insang	pH	$Y=2,545x+14,72$	$R^2= 0,020$	$r=0,141$	
	Suhu	$Y=4,73x-101$	$R^2=0,144$	$r=0,379$	
	DO	$Y=-1,827x+42,58$	$R^2=0,314$	$r=0,560$	
	Salinitas	$Y=0,742x+26,74$	$R^2=0,731$	$r=0,855$	
	BOD	$Y=3,353x-55,15$	$R^2=0,223$	$r=0,472$	
	COD	$Y=0,033x+28,46$	$R^2=0,681$	$r=0,825$	
	TOM	$Y=0,204x+19,83$	$R^2=0,512$	$r=0,716$	
	TSS	$Y=4,046x+28,49$	$R^2=0,348$	$r=0,589$	

Organ	Parameter	Slope	KD	KF	Ket.
Jantung	pH	$Y=-6,9x+9113$	$R^2= 0,107$	$r=0,327$	
	Suhu	$Y=6,285x-139,7$	$R^2=0,177$	$r=0,041$	
	DO	$Y=-2,850x+53,06$	$R^2=0,532$	$r=0,729$	
	Salinitas	$Y=0,291+36,61$	$R^2=0,078$	$r=0,279$	
	BOD	$Y=0,917+15,05$	$R^2=0,011$	$r=0,105$	
	COD	$Y=0,015x+36,9$	$R^2=0,102$	$r=0,319$	
	TOM	$Y=0,242x+22,80$	$R^2=0,502$	$r=0,708$	
	TSS	$Y=0,268x+39,03$	$R^2=0,001$	$r=0,032$	

Organ	Parameter	Slope	KD	KF	Ket.
Hati	pH	$Y=-16,91x+183,7$	$R^2= -0,235$	$r=0,485$	
	Suhu	$Y=6,75x-135,4$	$R^2=0,075$	$r=0,274$	
	DO	$Y=-5,524x+83,4$	$R^2=0,732$	$r=0,856$	
	Salinitas	$Y=0,438x+52,72$	$R^2=0,064$	$r=0,253$	
	BOD	$Y=3,129x^2-168,0x+2308$	$R^2=0,045$	$r=0,212$	
	COD	$Y=0,022x+53,25$	$R^2=0,080$	$r=0,283$	
	TOM	$Y=0,416x+25,38$	$R^2=0,665$	$r=0,815$	
	TSS	$Y=-0,977x+58,17$	$R^2=0,005$	$r=0,071$	

Organ	Parameter	Slope	KD	KF	Ket.
Ginjal	pH	$Y=-28,87x+259,3$	$R^2= 0,361$	$r=0,601$	
	Suhu	$Y=4,05x-72,64$	$R^2=0,014$	$r=0,118$	
	DO	$Y=-7,021x+76,48$	$R^2=0,622$	$r=0,789$	
	Salinitas	$Y=0,085x+41,97$	$R^2=0,001$	$r=0,032$	
	BOD	$Y=-3,937x+147,2$	$R^2=0,041$	$r=0,202$	
	COD	$Y=0,007x+41,57$	$R^2=0,004$	$r=0,063$	
	TOM	$Y=0,546x+5,455$	$R^2=0,491$	$r=0,700$	
	TSS	$Y=-4987x+49,32$	$R^2=0,071$	$r=0,266$	

Keterangan : 0,00-0,199 sangat rendah; 0,20-0,399 rendah; 0,40-0,599 cukup; 0,60-0,799 kuat dan 0,80-1,000 sangat kuat (Sudjana, 1982).

