

**BIO IMAGE PADA LAMBUNG KERANG HIJAU (*Perna viridis* L.) UNTUK
MENDETEKSI KANDUNGAN METALLOTHIONEIN**

SKRIPSI

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

Oleh :

**ANIS KURNIA FITRIYANI
NIM. 125080100111025**



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

**BIO IMAGE PADA LAMBUNG KERANG HIJAU (*Perna viridis* L.) UNTUK
MENDETEKSI KANDUNGAN METALLOTHIONEIN**

SKRIPSI

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

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

Oleh :

**ANIS KURNIA FITRIYANI
NIM. 125080100111025**



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

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**BIO IMAGE PADA LAMBUNG KERANG HIJAU (*Perna viridis* L.) UNTUK
MENDETEKSI KANDUNGAN METALLOTHIONEIN**

Oleh :

ANIS KURNIA FITRIYANI
NIM. 125080100111025

Telah dipertahankan didepan penguji
Pada tanggal 21 Juli 2016
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

Dosen Penguji I

Dr. Ir. Umi Zakiyah, M.Si
NIP. 19610303 198602 2 001
Tanggal:

05 AUG 2016

Dosen Pembimbing I,

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

05 AUG 2016

Dosen Penguji II

Andi Kurniawan, S.Pi., M.Eng., D.Sc
NIP. 19790331 200501 1 003
Tanggal:

05 AUG 2016

Dosen Pembimbing II,

Dr. Yuni Kilawati, S.Pi., M.Si
NIP. 19730702 200501 2 001
Tanggal:

05 AUG 2016



Ketua Jurusan

(Dr. Ir. Armin Wilujeng Ekawati, MS)

NIP. 19620805 198603 2 001

Tanggal : 05 AUG 2016



PERNYATAAN ORISINALITAS

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

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

Malang, 25 Mei 2016

Mahasiswa

Anis Kurnia Fitriyani
NIM. 12508010011025



UCAPAN TERIMAKASIH

Saya menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Allah SWT, yang tiada henti memberikan kemudahan dan kelancaran dalam pelaksanaan penelitian ini.
2. Orang tua (Sapto Hadi dan Sukartini) dan adik-adik saya (Dinda dan Arif) yang selalu memberikan semangat dan mendo'akan saya.
3. Prof. Ir. Yenny Risjani, DEA, Ph.D selaku dosen pembimbing 1 dan Dr. Yuni Kilawati, S.Pi., M.Si selaku dosen pembimbing 2 atas bimbingan, arahan, nasehat serta pengetahuan yang telah diberikan.
4. Dr. Ir. Umi Zakiyah, M.Si selaku dosen penguji 1 dan Andi Kurniawan, S.Pi., M.Eng., D.Sc selaku dosen penguji 2 atas masukan dan pengetahuan baru guna perbaikan laporan penelitian ini.
5. Tim *Perna viridis* L. (Adin, Al Miftah, Dewi, Maulinda, Candriko, Heru) yang selalu kompak dan saling membantu dalam kegiatan sampling dan pengamatan.
6. Teman-teman MSP angkatan 2012 yang selalu memberikan semangat dan sukses buat kita semua.
7. S.O.L (Putri R., Fajar, Putri F., Yemima, Cendy, Indah dan Bella) yang selalu mengingatkan skripsi, mendukung dan memberikan semangat walaupun kita berjauhan.
8. Teruntuk seseorang yang selalu mendoakan disana.

Malang, 25 Mei 2016

Anis Kurnia Fitriyani



RINGKASAN

Anis Kurnia Fitriyani. *Bio Image Pada Lambung Kerang Hijau (*Perna Viridis L.*) Untuk Mendeteksi Kandungan Metallothionein (dibawah bimbingan Prof. Ir. Yenny Risjani, DEA, Ph.D dan Dr. Yuni Kilawati, S.Pi, M.Si)*

Perairan laut sering tercemar oleh berbagai komponen anorganik maupun organik akibat aktivitas manusia di antaranya dari berbagai jenis logam berat berbahaya yang banyak dihasilkan di sekitar wilayah suatu perairan. Kerang hijau (*Perna viridis L.*) merupakan organisme yang mempunyai kemampuan mengakumulasi logam berat (Pb, Cd, Hg) pada lingkungan yang tercemar. Lambung merupakan bagian saluran pencernaan kerang dimana terjadi proses penyerapan sari-sari makanan dan akumulasi logam berat. Metallothionein merupakan protein yang dapat menggambarkan adanya logam berat, sehingga dapat digunakan sebagai *biomarker* pencemaran logam berat yang diamati dengan *Bio Image* pada lambung melalui metode imunofluoresen dengan *Confocal Laser Scanning Microscopy* (CLSM). Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kandungan logam berat Pb, Cd dan Hg pada air, sedimen dan lambung kerang hijau (*Perna viridis L.*) serta mengetahui ekspresi dan intensitas metallothionein pada lambung dan mengetahui hubungan intensitas rata-rata metallothionein dengan logam berat pada lambung kerang hijau (*Perna viridis L.*). Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai Maret 2016 di perairan Ngemboh, perairan Banyu Urip dan perairan Kenjeran.

Metode pengumpulan data yang digunakan pada penelitian ini adalah survei dengan mengambil sampel dari tiga lokasi berbeda yaitu perairan Ngemboh, Banyu Urip dan Kenjeran dengan melakukan tiga kali pengulangan. Kerang hijau (*Perna viridis L.*) dari tiga lokasi kemudian dibedah untuk diambil lambung untuk dilakukan analisis logam berat (Pb, Cd dan Hg) menggunakan AAS serta dilakukan analisis kandungan metallothionein menggunakan imunofluoresen dengan *Confocal Laser Scanning Microscopy*. Selain itu, dilakukan pengukuran kualitas air secara *insitu* yang meliputi suhu, salinitas, pH dan DO/*Dissolved Oxygen* (Oksigen terlarut).

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan kandungan logam berat air rata-rata di perairan Ngemboh untuk Pb sebesar 0,015 ppm, Cd sebesar 0,007 ppm dan Hg sebesar 0,011 ppm. Perairan Banyu Urip logam berat Pb sebesar 0,009 ppm, Cd sebesar 0,007 ppm dan Hg sebesar 0,009 ppm, sedangkan perairan Kenjeran logam berat Pb sebesar 0,020 ppm, Cd sebesar 0,010 ppm dan Hg sebesar 0,015 ppm. Kandungan pada sedimen di perairan Ngemboh untuk Pb sebesar 2,109 ppm, Cd sebesar 0,566 ppm dan Hg sebesar 0,973 ppm. Perairan Banyu Urip logam berat Pb sebesar 1,322 ppm, Cd sebesar 0,327 ppm dan Hg sebesar 0,704 ppm, sedangkan perairan Kenjeran logam berat Pb sebesar 2,537 ppm, Cd sebesar 0,668 ppm dan Hg sebesar 1,579 ppm. Kandungan rata-rata logam berat pada lambung kerang hijau (*Perna viridis L.*) di perairan Ngemboh untuk Pb sebesar 0,283 ppm, Cd sebesar 0,168 ppm dan Hg sebesar 0,197 ppm. Perairan Banyu Urip logam berat Pb sebesar 0,259 ppm, Cd sebesar 0,133 ppm dan Hg sebesar 0,146 ppm, sedangkan perairan Kenjeran logam berat Pb sebesar 0,358 ppm, Cd sebesar 0,266 ppm dan Hg sebesar 0,233 ppm. Hasil pengukuran kualitas air yaitu suhu perairan berkisar antara 31-32 °C, salinitas berkisar antara 25-26,7 %, pH berkisar antara 8,0-8,5 dan DO/*Dissolved Oxygen* (Oksigen terlarut) berkisar antara 5,1-7,2 mg/l.

Hasil rata-rata intensitas metallothionein yang tertinggi yakni pada perairan Kenjeran dengan nilai kuantitatif sebesar 342,304 intensity/ μm , kemudian perairan Ngemboh dengan nilai kuantitatif sebesar 227,783 intensity/ μm dan terendah perairan Banyu Urip dengan nilai kuantitatif sebesar 147,586 intensity/ μm . Intensitas pendaran warna metallothionein pada setiap lokasi pengamatan berbeda-beda tergantung pada tingkat penyerapan logam berat oleh tubuh kerang hijau (*Perna viridis* L.). Hubungan intensitas metallothionein dengan logam berat Pb, Cd dan Hg menunjukkan hubungan yang sangat kuat, dimana hasil persamaan regresi yang didapat yaitu $Y = 163,873 + 927,248X_1 + 282,672X_2 + 370,714X_3$. Nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,859 dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,912.

Adanya penelitian *Bio Image* ini dapat dijadikan sebagai monitoring dan alat deteksi dini terhadap pencemaran lingkungan perairan terutama disepanjang perairan Utara dan Timur Jawa, agar kerusakan lingkungan perairan dapat diantisipasi tentunya disertai dengan adanya pengawasan dan kesadaran dari masyarakat.



KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kehadirat Allah SWT karena berkat rahmat dan hidayah-Nya saya dapat menyelesaikan Usulan Skripsi dengan judul "*Bio Image Pada Lambung Kerang Hijau (Perna Viridis L.) Untuk Mendeteksi Kandungan Metallothionein*". Laporan skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk meraih gelar Sarjana Perikanan program Strata Satu (S-1) Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya.

Penulis menyadari bahwa masih banyak terdapat kekurangan baik dari ketelitian pada penulisan, kekurangtepatan ataupun kesalahan penyampaian kata, karena semua itu tidak lepas dari keterbatasan kemampuan yang dimiliki oleh penulis, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun agar laporan ini untuk selanjutnya lebih sempurna dan bermanfaat bagi para pembaca dan yang membutuhkan.

Malang, 25 Mei 2016

Penulis



DAFTAR ISI

Halaman

RINGKASAN	v
------------------------	---

KATA PENGANTAR	vii
-----------------------------	-----

DAFTAR ISI	viii
-------------------------	------

DAFTAR TABEL	x
---------------------------	---

DAFTAR GAMBAR	xi
----------------------------	----

DAFTAR LAMPIRAN	xii
------------------------------	-----

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.4 Kegunaan Penelitian.....	6
1.5 Waktu dan Tempat	6

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Logam Berat.....	7
2.1.1 Logam Berat Pb.....	8
2.1.2 Logam Berat Cd	9
2.1.3 Logam Berat Hg	10
2.2 Biologi dan Klasifikasi Kerang Hijau (<i>Perna viridis</i> L.).....	10
2.2.1 Anatomi Kerang Hijau (<i>Perna viridis</i> L.)	11
2.2.2 Habitat Kerang Hijau (<i>Perna viridis</i> L.)	14
2.2.3 Mekanisme Penyerapan Makanan pada Kerang Hijau (<i>Perna viridis</i> L.)	15
2.2.4 Mekanisme Penyerapan Logam Berat Kerang Hijau (<i>Perna viridis</i> L.)	17
2.3 Metallothionein (MT).....	18
2.3.1 Pengikatan Logam Berat oleh Metallothionein.....	20
2.4 Metode Imunofluoresen.....	22
2.5 Confocal Laser Scanning Microscopy (CLSM)	23
2.5.1 Kelebihan dan Kelemahan Mikroskop Confocal.....	24
2.6 Kondisi Fisika dan Kimia Air	24
2.6.1 Suhu.....	25
2.6.2 Salinitas.....	25
2.6.3 pH	26
2.6.4 DO/ <i>Dissolved Oxygen</i> (Oksigen Terlarut)	26
2.7 Penelitian Terdahulu	27

3. MATERI DAN METODE

3.1 Materi Penelitian	28
3.2 Alat dan Bahan.....	28
3.3 Metode Penelitian.....	28



3.3.1 Data Primer	29
3.3.2 Data Sekunder	29
3.4 Lokasi Sampling	30
3.5 Prosedur Penelitian	30
3.5.1 Pengambilan Sampel	31
3.5.2 Preparasi Sampel	31
3.5.3 Pengujian Kandungan Logam Berat Pb, Cd dan Hg	32
3.5.4 Pembuatan Irian Jaringan	33
3.5.5 Pewarnaan Imunofluresen	35
3.5.6 Pengamatan dengan Metode <i>Confocal Laser Scanning Microscopy</i>	36
3.6 Analisis Kualitas Air	36
3.7 Analisis Data	38
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Deskripsi Lokasi Penelitian	40
4.1.1 Deskripsi Perairan Ngemboh	40
4.1.2 Deskripsi Perairan Banyu Urip	41
4.1.3 Deskripsi Perairan Kenjeran	42
4.2 Hasil Pengukuran Logam Berat Pda Sampel	43
4.2.1 Kandungan Logam Berat Pb, Cd dan Hg Pada Air	43
4.2.2 Kandungan Logam Berat Pb, Cd dan Hg Pada Sedimen	47
4.2.3 Kandungan Logam Berat Pb, Cd dan Hg Pada Lambung Kerang Hijau (<i>Perna viridis L.</i>)	48
4.3 Pengamatan Kandungan Metallothionein Pada Lambung Kerang Hijau (<i>Perna viridis L.</i>) dengan menggunakan <i>Confocal Laser Scanning Microscopy</i> (CLSM)	52
4.4 Hasil Analisis Intensitas Metallothionein Pada Lambung Kerang Hijau (<i>Perna viridis L.</i>)	53
4.5 Hubungan Logam Berat pada Lambung Kerang Hijau (<i>Perna viridis L.</i>) dengan Rata-rata Intensitas Metallothionein	59
4.6 Hasil Pengukuran Kualitas Air	60
4.6.1 Suhu	61
4.6.2 Salinitas	61
4.6.3 pH	62
4.6.4 DO/ <i>Dissolved Oxygen</i> (Oksigen Terlarut)	63
5. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	64
5.2 Saran	64
DAFTAR PUSTAKA	66
LAMPIRAN	75



DAFTAR TABEL

Tabel

Halaman

1. Data Kuantitatif Rata-rata Intensitas Metallothionein	56
2. Hasil Pengukuran Kualitas Air.....	60

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bagan alur penelitian	5
2. Kerang Hijau (<i>Perna viridis</i> L.)	11
3. Anatomi Kerang Hijau (<i>Perna viridis</i> L.)	12
4. Model pasangan Metallothionein yang Menginduksi dan Memperbaiki Ligand Target dalam Pengikatan Logam	21
5. Prinsip Kerja Confocal Laser Scanning Microscopy	24
6. Kondisi Perairan Ngemboh	41
7. Kondisi Sekitar Perairan Banyu Urip	42
8. Kondisi Sekitar Perairan Kenjeran	43
9. Rata-rata Kandungan Logam Berat Pada Air	44
10. Rata-rata Kandungan Logam Berat Pada Sedimen	47
11. Rata-rata Kandungan Logam Berat Pada Lambung Kerang Hijau (<i>Perna viridis</i> L.)	49
12. Ekspresi Metallothionein pada skala 50 µm dengan <i>Confocal Laser Scanning Microscopy</i>	52
13. Hasil Pengamatan ekspresi metallothionein pada lambung kerang hijau (<i>Perna viridis</i> L.) dengan <i>Confocal Laser Scanning Microscopy</i> Pada Perbesaran 400x dengan skala 50 µm.....	54
14. Ekspresi Intensitas Metallothionein grafik 3 dimensi dengan <i>Confocal Laser Scanning Microscopy</i> a. Perairan Ngemboh; b. Perairan Banyu Urip; c. Perairan Kenjeran.....	55
15. Intensitas Rata-rata Ekspresi Metallothionein Pada Lambung Kerang Hijau (<i>Perna viridis</i> L.) Sebanyak tiga individu dari Tiap Lokasi dan Standart Deviasi. Notasi didapatkan dari analisis Statistik Kruskal-Wallis	57
16. Nilai Korelasi.....	59

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran

Halaman

1. Alat dan Bahan Penelitian	75
2. Peta Lokasi Sampling.....	77
3. Data Penelitian Terdahulu Mengenai Logam Berat di Perairan dan Metallothionein	79
4. Data Logam Berat Pb, Cd dan Hg di Air, Sedimen dan Lambung Kerang Hijau (<i>Perna viridis</i> L.).....	81
5. Ekspresi Metallothionein pada Lambung Kerang Hijau (<i>Perna viridis</i> L.) .	83
6. Kandungan Metallothionein pada Lambung Kerang Hijau (<i>Perna viridis</i> L.)	87
7. <i>Output</i> Analisis Uji Statistik Kruskal-Wallis Hubungan Kandungan Metallothionein pada Lambung Kerang Hijau (<i>Perna viridis</i> L.) dengan tiga perairan Berbeda	88
8. <i>Output</i> Analisis Regresi Korelasi Model Linier Berganda.....	89
9. Data Kualitas Perairan	90
10. Standart Baku Mutu	91
11. Data Kuantitatif Uji Metallothionein dengan <i>Confocal Laser Scanning Microscopy</i>	93
12. Dokumentasi Penelitian	102



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Laut merupakan tempat bermuaranya sungai, sehingga laut akan menjadi tempat berkumpulnya zat-zat pencemar yang dibawa oleh aliran sungai (Mifbakhuddin *et al.*, 2010). Perairan sering tercemar oleh berbagai komponen anorganik di antaranya dari berbagai jenis logam berat berbahaya yang banyak dihasilkan dari aktivitas antropogenik masyarakat di sekitar wilayah suatu perairan. Logam-logam tersebut dapat terakumulasi di dalam tubuh dalam jangka waktu yang lama sebagai zat toksin. Logam berat merupakan salah satu bahan pencemar yang berbahaya karena bersifat toksik jika dalam jumlah tertentu atau melebihi ambang batasnya dan dapat mempengaruhi berbagai aspek dalam perairan baik aspek ekologi maupun biologi (Putri *et al.*, 2012).

Manusia sebagai sumber masalah timbulnya pencemaran di perairan pantai sebagai akibat dari pengelolaan yang berlebihan terhadap sumber daya alam di daratan akan memberikan pengaruh panjang dan efek kerusakan yang besar di lautan (Hutabarat dan Evans, 1985). Permasalahan yang ada menyebabkan penurunan kualitas lingkungan pesisir dan laut akibat dari penumpukan logam yang berdampak pada organisme hidup di lingkungan air dan tanah akan terpapar oleh logam. Logam yang terakumulasi akan menyebabkan kematian apabila masuk dalam rantai makanan (Damaianto dan Masduqi, 2014).

Perairan Ngemboh, Banyu Urip dan Kenjeran merupakan daerah penting karena dijadikan sebagai area penangkapan ikan, pengelolaan hasil tangkapan, tempat bersandar kapal bermotor, permukiman dan kegiatan industri lain. Kegiatan manusia tersebut diduga sebagai penyebab masuknya limbah yang jika

dibuang ke perairan akan menyebabkan pencemaran dan perubahan kualitas lingkungan pesisir. Limbah yang terus masuk ke perairan juga akan mengancam kehidupan organisme yang ada di perairan tersebut.

Polutan yang ada di perairan berupa bahan organik maupun anorganik. Bahan pencemar organik berasal dari limbah pertanian, peternakan, permukiman dan lain-lain. Bahan pencemar anorganik berupa logam berat seperti Timbal (Pb), Merkuri (Hg), Kadmium (Cd), Kromium (Cr), Arsenik (Ar) dan Nikel (Ni), dimana yang mengkontaminasi perairan adalah merkuri dan timbal (Kristanto, 2002). Senada dengan pernyataan Trisnawaty *et al.* (2013), bahwa pencemaran logam berat yang dapat menurunkan kualitas perairan adalah penggunaan logam berat merkuri akibat aktivitas manusia yang dilakukan di suatu wilayah.

Kandungan logam berat dalam biota air biasanya akan bertambah dari waktu ke waktu, hal ini dikarenakan sifat logam berat yang bioakumulatif, sehingga biota air sangat baik untuk digunakan sebagai bioindikator pencemaran dalam perairan (Jakfar *et al.*, 2014). Salah satu organisme akuatik yang dapat digunakan sebagai bioindikator perairan adalah anggota kelas bivalvia (Molusca), salah satunya adalah kerang hijau (*Perna viridis* L.). Kerang hijau (*Perna viridis* L.) berkembang pesat pada daerah yang mendapatkan masukan bahan organik tinggi. Semakin meningkatnya kandungan logam berat dalam tubuh kerang hijau (*Perna viridis* L.) baik yang masuk melalui rantai makanan (*food chain*) atau secara langsung masuk dalam jaringan tubuh yang menyebabkan kerang hijau (*Perna viridis* L.) terganggu dalam melakukan filtrasi makanan (Liliandari dan Aunurohim, 2013).

Kerang hijau (*Perna viridis* L.) merupakan organisme yang hidupnya menetap sehingga kandungan bahan organik di perairan mempengaruhi pertumbuhan kerang terutama pada perairan yang banyak dilakukan kegiatan

perikanan. Kerang hijau (*Perna viridis* L.) sendiri merupakan organisme yang dapat hidup di daerah dengan dasar perairan terdiri dari pasir, karang dan campuran (Wisnawan, 2013). Menurut Darmono (2001), bahwa hewan air jenis kerang-kerangan dapat mengakumulasi logam lebih besar daripada hewan air lainnya karena sifatnya yang menetap, lambat untuk dapat menghindarkan diri dari pengaruh polusi dan mempunyai toleransi yang tinggi terhadap konsentrasi logam tertentu.

Logam yang ada di perairan suatu saat akan turun dan mengendap pada dasar perairan membentuk sedimentasi. Hal ini menyebabkan organisme yang mencari makan di dasar perairan akan memiliki peluang yang besar untuk terpapar, logam berat yang telah terikat di dasar perairan dan membentuk sedimen (Makmur *et al.*, 2013). Menurut Hutagalung (2001), kerang hijau (*Perna viridis* L.) mempunyai kemampuan mengakumulasi logam berat pada lingkungan perairan yang tercemar, sehingga peluang kerang hijau (*Perna viridis* L.) dapat terpapar logam berat sangat tinggi terutama pada daerah industri seperti pantai utara jawa. Selain itu, menurut Cappenberg (2008), kerang hijau (*Perna viridis* L.) mengeluarkan partikel yang bukan makanannya dalam bentuk *pseudofaces* yang terbungkus dengan lendir. Hal ini memungkinkan kerang dapat mengakumulasi logam berat dalam jumlah yang cukup tinggi.

Logam berat masuk ke dalam tubuh kerang melalui mulut (oral), insang dan kulit sehingga masuk ke sistem peredaran darah dan terjadi pengikatan. Setelah sekian lama terjadi akumulasi dalam tubuh kerang dan akan berpengaruh terhadap aktivitas fisiologi dan biokimia tubuh kerang (Jalius *et al.*, 2008). Lambung merupakan bagian dari saluran pencernaan tempat dimana terjadi penyerapan sari-sari makanan. Saluran pencernaan dari kerang merupakan organ utama untuk akumulasi. Saluran pencernaan dari moluska

merupakan pusat utama untuk regulasi dan metabolisme, serta berpartisipasi dalam mekanisme pertahanan kekebalan tubuh dan homeostatis dari media internal maupun proses detoksifikasi dan penghapusan *xenobiotic*. Saluran pencernaan mengalami perubahan fungsi sebagai refleksi dari adanya gangguan pada tingkat molekuler (Vasanthi *et al.*, 2012). Ditambahkan oleh Galtsoff (1964), adanya zat toksik yang bercampur dengan makanan akan masuk ke dalam tubuh kerang dan akan terakumulasi di lambung, sehingga dengan begitu akan akan mengganggu fungsi kerja lambung.

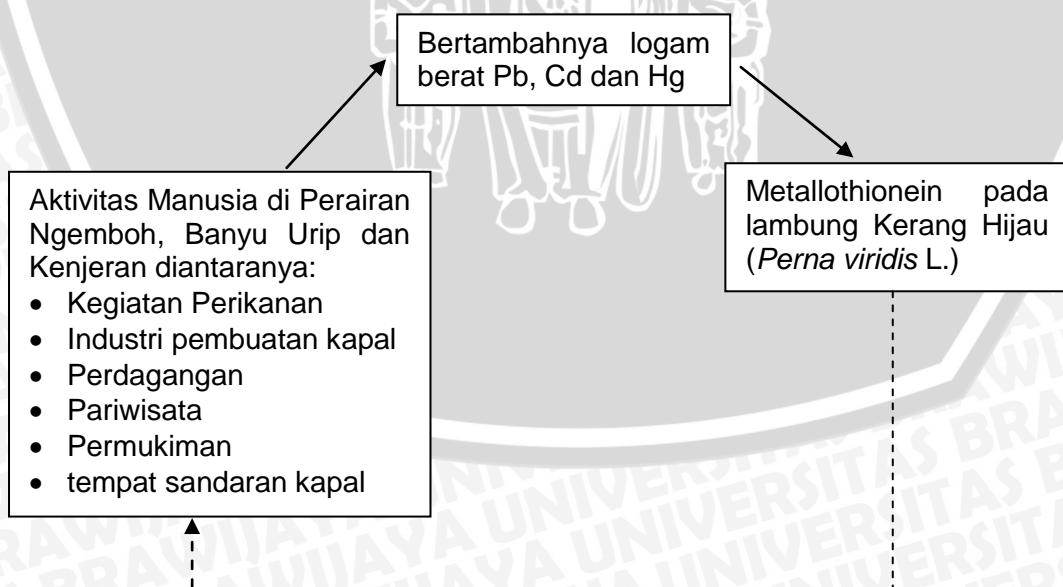
Metallothionein banyak digunakan sebagai *biomarker* karena Metallothionein mencerminkan keberadaan polusi logam berat dan induksi dari Metallothionein akan meningkat setelah organisme terpapar logam berat (Wu dan Chen, 2005). Menurut Carpene *et al.* (2007), metallothionein yang terdapat dalam kerang hijau (*Perna viridis* L.) digunakan sebagai *biomarker* yang baik terhadap paparan logam berat. Metallothionein berperan penting terhadap pertahanan detoksifikasi logam non esensial seperti timbal, kadmium dan merkuri. Seiring banyaknya logam berat yang masuk ke perairan menyebabkan peningkatan kandungan protein metallothionein sebagai pengikat logam yang terdapat pada tubuh kerang hijau (*Perna viridis* L.). Keberadaan metallothionein tersebut digunakan sebagai *biomarker* pencemaran logam berat yang dapat diamati dengan *Bio Image* melalui metode immunofloresen dengan *Confocal Laser Scanning Microscopy* untuk mendeteksi keberadaan sebuah antigen secara langsung.

Kandungan metallothionein pada kerang hijau (*Perna viridis* L.) digunakan sebagai *biomarker* yang baik terhadap paparan logam berat. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai kandungan metallothionein pada lambung kerang hijau (*Perna viridis* L.) yang terpapar logam berat Pb, Cd

dan Hg di perairan Ngemboh, Banyu Urip serta Kenjeran. Hasil analisis yang dilakukan nantinya dapat digunakan untuk mengetahui tingkat pencemaran di perairan Ngemboh, perairan Banyu Urip dan perairan Kenjeran.

1.2 Rumusan Masalah

Perairan Ngemboh, perairan Banyu Urip dan perairan Kenjeran merupakan perairan yang penting bagi kegiatan manusia terutama dalam kegiatan perikanan seperti penangkapan dan pengolahan ikan, industri pembuatan kapal, perdagangan, pariwisata, permukiman dan tempat sandaran kapal. Kegiatan manusia tersebut berdampak pada bertambahnya konsentrasi logam berat Pb, Hg dan Cd di perairan sehingga akan mempengaruhi kandungan metallothionein sebagai protein pengikat logam berat pada tubuh kerang hijau (*Perna viridis* L.) terutama pada organ lambung. Berdasarkan kandungan metallothionein tersebut dapat digunakan sebagai *biomarker* pencemaran logam berat Pb, Hg, Cd sehingga dapat digunakan acuan untuk mengendalikan aktivitas manusia di perairan Ngemboh, Banyu Urip dan Kenjeran. Lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Bagan Alur Penelitian

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan logam berat (Pb, Cd, Hg) pada air, sedimen dan lambung kerang hijau (*Perna viridis* L.) serta mengetahui ekspresi dan intensitas metallothionein pada Lambung menggunakan *Confocal Laser Scanning Microscopy* dan mengetahui hubungan logam berat pada lambung kerang hijau (*Perna viridis* L.) dengan intensitas rata-rata metallothionein di perairan Ngemboh, Banyu Urip dan Kenjeran.

1.4 Kegunaan Penelitian

Kegunaan penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan kerang hijau (*Perna viridis* L.) dalam mentolerir keberadaan logam berat di perairan dan kaitannya dengan peningkatan kandungan metallothionein sebagai protein yang dapat mengikat daya toksik logam berat yang dapat dilihat dari organ lambung. Selain itu, dapat digunakan sebagai bahan rujukan bagi ilmu pengetahuan dan pengelolaan perairan pantai terpadu.

1.5 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari 2016 sampai Maret 2016 di perairan Ngemboh, Banyu Urip dan Kenjeran Jawa Timur. Analisis kandungan logam berat Pb, Cd dan Hg dilakukan di Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Universitas Brawijaya, Malang. Pengamatan histopatologi dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang dan analisis kandungan metallothionein di Laboratorium Sentral dan Ilmu Hayati Universitas Brawijaya, Malang.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Logam Berat

Logam berat adalah polutan atau pencemar yang sangat toksik karena bersifat tidak dapat terurai. Bahan pencemar dari industry yang banyak digunakan seperti raksa (Hg), kromium heksavalen (Cr(VI)), arsen (As), kadmium (Cd), tembaga (Cu), Timbal (Pb), Seng (Zn) dan Nikel (Ni) (Damaianto dan Masduqi, 2014). Menurut Saeni (1989), bahwa yang dimaksud dengan logam berat adalah unsur yang mempunyai bobot jenis lebih dari 5 g/cm^3 . Logam berat masuk ke perairan laut melalui aliran sungai, angin, difusi dari sedimentasi dan kegiatan antropogenik. Logam berat dalam perairan dapat ditemukan dalam bentuk terlarut dan tidak terlarut. Logam berat terlarut adalah logam yang membentuk kompleks dengan senyawa organik dan anorganik, sedangkan logam berat yang tidak terlarut merupakan partikel berbentuk koloid dan kelompok senyawa logam yang terabsorbsi pada partikel-partikel tersuspensi (Razak, 1980).

Penyebab utama logam berat menjadi bahan pencemar berbahaya adalah karena sifatnya yang tidak dapat dihancurkan (*nondegradable*) oleh organisme hidup yang ada di lingkungan. Akibatnya, logam-logam tersebut terakumulasi ke lingkungan terutama mengendap di dasar perairan membentuk senyawa kompleks bersama bahan organik dan anorganik secara adsorbsi dan kombinasi (Agustina, 2010). Logam berat merupakan salah satu bahan pencemar berbahaya karena sifatnya yang tidak mudah diuraikan. Logam berat juga akan mengendap di dasar perairan yang memiliki waktu tinggal (*residence time*) sampai ribuan tahun. Logam berat akan terkonsentrasi ke dalam tubuh makhluk hidup dengan proses bioakumulasi dan biomagnifikasi melalui beberapa

jalan yaitu: melalui saluran pernapasan, saluran makanan dan melalui kulit (Darmono, 2001).

2.1.1 Logam Berat Pb

Timbal atau lebih dikenal dengan timah hitam, dalam bahasa ilmiahnya dinamakan *Plumbum* dan memiliki lambang Pb. Logam ini termasuk ke dalam kelompok logam-logam golongan IV-A pada Tabel Periodik unsur kimia. Penyebaran logam timbal di bumi sangat sedikit. Timbal merupakan logam yang lunak, tahan terhadap peristiwa korosi atau karat, mempunyai titik lebur yang rendah dan pengantar listrik yang baik (Palar, 2012). Sumber alamiah dari Pb di perairan yakni berasal dari pengikisan batuan mineral. Disamping itu, partikel logam yang di udara dapat menjadi sumber pencemar di perairan karena hujan. Adapun logam yang berasal dari aktivitas manusia dapat berupa buangan industri ataupun buangan dari rumah tangga (Fardiaz, 1992).

Senyawa Pb yang ada dalam badan perairan dapat ditemukan dalam bentuk ion. Pb masuk ke dalam tubuh melalui jalur pernapasan, pencernaan dan penetrasi melewati kulit. Jumlah kandungan Pb yang melebihi konsentrasi yang semestinya dapat menyebabkan kematian bagi biota yang terdapat dalam perairan (Palar, 2012). Penyebaran logam berat pada sedimen dasar perairan sangat dipengaruhi oleh ukuran partikel sedimen. Pada sedimen yang halus presentase logam berat lebih tinggi daripada dalam sedimen yang kasar. Hal tersebut disebabkan karena partikel sedimen yang halus memiliki luas permukaan yang besar dengan kerapatan ion yang lebih stabil untuk mengikat Pb daripada partikel sedimen yang lebih besar (Sahara, 2009).

2.1.2 Logam Berat Cd

Logam Cd atau kadmium mempunyai penyebaran yang sangat luas di alam. Kadmium termasuk pada golongan II-B dan merupakan logam yang lunak, berwarna putih seperti putih perak. Logam kadmium dapat dijumpai di daerah-daerah penimbunan sampah dan aliran air hujan selain dalam air buangan. Sifat kadmium yang beracun dapat merugikan organisme hidup bahkan sangat berbahaya bagi manusia. Logam kadmium masuk ke dalam tubuh organisme bersama makanan yang dikonsumsi, tetapi makanan tersebut telah terkontaminasi oleh logam Cd dan atau persenyawaannya (Palar, 2012). Mekanisme penyerapan logam kadmium ke dalam organisme perairan yaitu melalui penyerapan kulit, insang dan rantai makanan. Pengeluarannya biasanya melalui permukaan tubuh melalui tiga cara yaitu pernafasan, permukaan kulit dan yang paling banyak ditemukan melalui makanan yang telah terkontaminasi logam berat (Fardiaz, 1992).

Saluran pencernaan dari moluska merupakan pusat utama untuk regulasi metabolisme, berpartisipasi dalam mekanisme pertahanan kekebalan tubuh dan regulasi homeostatis dari media internal maupun proses detoksifikasi dan penghapusan *xenobiotic* (Moore dan Allen, 2002). Logam berat kadmium (Cd) dapat menyebabkan karsinogen (gangguan metabolisme), mutagenik (mutasi gen) dan teratogenik (kelainan gen) pada beberapa jenis hewan termasuk bivalvia. Salah satu efek langsung yang ditimbulkan oleh logam berat Cd adalah mengganggu proses homeostasis sel. Mekanisme homeostasis sel terlaksana dengan keberadaan protein metallothionein yang berperan sebagai protein pengikat logam dan mengurangi efek toksik (Rumahlatu *et al.*, 2012).

2.1.3 Logam Berat Hg

Logam merkuri atau air raksa mempunyai nama kimia hydragryrum yang berarti perak cair dan dilambangkan dengan Hg. Merkuri merupakan salah satu unsur logam transisi dengan golongan II-B dan memiliki nomer atom 80, memiliki bobot atom 200,59 adalah satu-satunya logam yang berbentuk cair. Merkuri merupakan elemen alami dan kebanyakan merkuri yang ditemukan di alam terdapat dalam gabungan dengan elemen lainnya dan jarang ditemukan dalam bentuk elemen terpisah (Palar, 2012).

Merkuri (Hg) adalah salah satu jenis logam berat yang sangat berbahaya. Merkuri di perairan berasal dari buangan limbah industri kelistrikan dan elektronik, baterai, pabrik bahan peledak, fotografi, pelapisan cermin, industri bahan pengawet, pestisida, industri kimia, petrokimia, limbah kegiatan laboratorium dan pembangkit tenaga listrik yang menggunakan tenaga fosil (Suryadiputra, 1995). Menurut Setiyono dan Djaidah (2012), Hg ditemukan dalam berbagai bentuk senyawa kimia dan termasuk logam yang sangat beracun terutama dalam senyawa organik yaitu metil dan etil merkuri. Merkuri dan turunannya sangat beracun, sehingga kehadirannya di lingkungan perairan dapat mengakibatkan kerugian pada manusia karena sifatnya yang mudah larut dan terikat dalam jaringan tubuh organisme air.

2.2 Biologi dan Klasifikasi Kerang Hijau (*Perna viridis* L.)

Kerang hijau (*Perna viridis* L.) pertama kali ditemukan oleh seorang ahli biologi Jerman yang bernama Linnaeus pada tahun 1958 (Pratikto, 2013). Kerang hijau (*Perna viridis* L.) merupakan hewan lunak yang hidup di laut. Kerang hijau (*Perna viridis* L.) mempunyai bentuk agak pipih, bercangkang padat dan memanjang. Cangkang bersinar berwarna kehijauan, kadang-kadang dengan tepi kebiruan. Kedua cangkang berukuran sama meskipun salah satu

cangkang sedikit lebih cembung daripada lainnya (Saadah, 2008). Kerang hijau (*Perna viridis* L.) merupakan salah satu jenis kerang yang digemari masyarakat, memiliki nilai ekonomis dan kandungan gizi yang sangat baik untuk dikonsumsi, yaitu terdiri dari 40,8 % air, 21,9 % protein, 14,5 % lemak, 18,5 % karbohidrat dan 4,3 % abu sehingga menjadikan kerang hijau (*Perna viridis* L.) sebanding dengan daging sapi, telur maupun daging ayam, dari 100 gram daging kerang hijau (*Perna viridis* L.) mengandung 100 kalori (Affandi dan Tang, 2002 dalam Mifbakhuddin *et al.*, 2010).

Klasifikasi kerang hijau (*Perna viridis* L.) menurut Cappenberg (2008) dan kerang hijau (*Perna viridis* L.) dapat dilihat pada Gambar 2 adalah sebagai berikut:

Kingdom	:	Animalia
Phylum	:	Mollusca
Class	:	Bivalvia
Ordo	:	Anisomyria
Family	:	Mytilinae
Genus	:	Perna
Species	:	<i>Perna viridis</i> L.



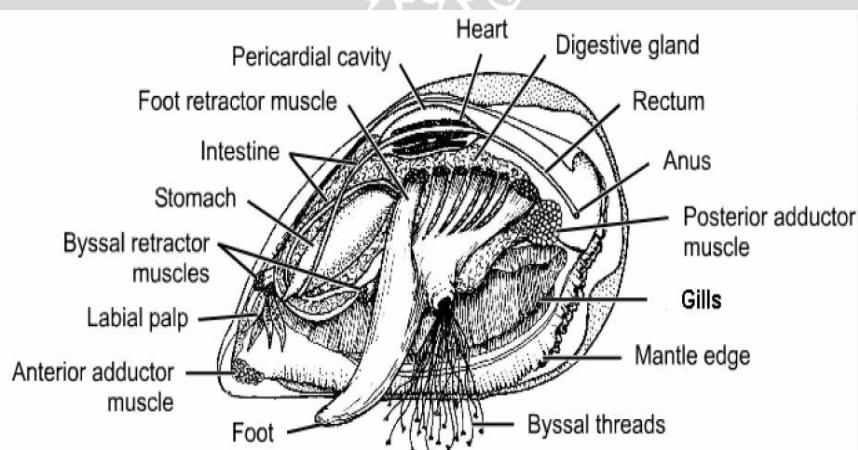
Gambar 2. Kerang Hijau (*Perna viridis* L.)
(Dokumentasi Pribadi, 2016)

2.2.1 Anatomi Kerang Hijau (*Perna viridis* L.)

Kerang hijau termasuk dalam binatang lunak *Mollusca* yang hidup dilaut, memiliki dua cangkang berwarna hijau, insang berlapis, berkaki kapak serta memiliki benang bisus (Augustine, 2008). Bisus berfungsi untuk melekatkan diri pada benda-benda keras. Insang kerang hijau berlapis-lapis (*Lamelii branchia*). Hidupnya di perairan sekitar 1-7 meter yang toleran terhadap perubahan salinitas 27-35 ppm (Clark, 1986).

Kedua keping cangkang hijau (*Perna viridis* L.) dihubungkan oleh ligamen, yaitu semacam pita elastik dari bahan organik seperti zat tanduk. Kedua bagian dalam cangkang tersebut ditautkan oleh sepasang otot aduktor yang serupa pada bagian anterior dan posterior. Otot aduktor berfungsi untuk membuka dan menutup cangkang. Bila otot aduktor berelaksasi, hinge ligamen berkerut dan kedua cangkang akan terbuka, sebaliknya cangkang akan menutup apabila otot aduktor berkontraksi (Niswari, 2004).

Kerang bernafas dengan dua buah insang dalam mantel. Insang ini berbentuk lembaran-lembaran (lamella) dan mantel menyelubungi organ-organ bagian dalam. Kaki pada kerang hijau (*Perna viridis* L.) tergolong panjang dan dilengkapi oleh kelenjar byssal yang menghasilkan benang-benang byssus untuk menempel pada substrat. Sementara itu antara tubuh dan mantel terdapat rongga mantel yang merupakan jalan masuk keluarnya air. Kerang tidak mempunyai kepala dan tentakel yang nyata tetapi mereka dapat memperoleh makanan dari cara menyaring pada insang dengan sistem sifon. Sistem pencernaan dimulai dari mulut, kerongkongan, lambung, usus dan akhirnya bermuara pada anus. Anus ini terdapat di saluran yang sama dengan saluran untuk keluarnya air (Huber, 2000). Adapun anatomi kerang hijau (*Perna viridis* L.) dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Anatomi Kerang Hijau (*Perna viridis* L.) (Region, 2003)

Tubuh bagian luar kerang terdapat dua pasang insang, sepasang di sebelah kanan dan sepasang di sebelah kiri, fungsi insang adalah untuk bernafas, mengambil makanan, dan inkubasi. Pada tubuh bagian dalam terdapat sistem pencernaan (terdiri dari mulut yang diapit oleh dua pasang bibir, kemudian oseophagus, lambung, usus, rektum dan diakhiri oleh anus yang terletak di belakang), gonad, jantung, hati, aorta, otot daging penutup, dan otot daging penarik. Otot daging penutup bekerja untuk mengatupkan cangkang, sehingga bekerja antagonis (berlawanan) dengan ikat engsel sebagai organ pembuka cangkang. Otot daging penarik berfungsi untuk menarik kaki ke dalam tubuh (Aslam, 2012).

Fertilisasi kerang hijau (*Perna viridis* L.) berlangsung secara eksternal, diawali dengan pemijahan jantan, dengan sperma agak kental dan berwarna putih. Telur akan dikeluarkan sebagai batang-batang atau benang-benang jingga yang terpisah dengan panjang 1-2 mm, dan rata-rata jumlah telur yang dipisahkan mencapai 3,8-12 juta telur. Telur yang dibuahi berbentuk bola dengan diameter sekitar 50 mikrometer, sedangkan telur yang tidak dibuahi berbentuk lonjong (Niswari, 2004). Kerang peredaran darahnya yaitu hemolymph mengalir dari insang ke jantung dengan mendorong cairan ke dalam satu saluran, aorta anterior, yang terbagi menjadi banyak arteri. Pallial arteri sangat penting karena yang memasok darah ke mantel, dan arteri visceral (gastro-intestinal, hati dan terminal) yang memasok ke perut, usus, otot dan kaki dengan hemolymph. Arteri memecah menjadi jaringan pembuluh pada semua jaringan dan kemudian bergabung untuk membentuk vena yang kosong ke dalam ruang yang luas yang disebut sinus (Gosling, 2003).

Tiga kelompok saluran muncul dari dinding menuju lambung ke diverticula pencernaan. Dua dari saluran tersebut berasal di ruang anterior dan dari ruang posterior. Lapisan internal dari ruang anterior membentuk sejumlah puncak yang tidak teratur dan alur-alur ditutupi dengan epitel bersilia. Sebuah lembah yang luas memisahkan anterior dari ruang posterior dan mengarahkan partikel makanan. Pada dinding ventral kiri ruang posterior ditutupi oleh membran tembus, dinding lambung yang terletak tepat di seberang pembukaan kantung panjang ditempati oleh crystalline. Hampir seluruh permukaan dalam perut ditutupi oleh epitel bersilia, hanya daerah di bawah dinding lambung dan dekat posterior akhir perut yang tidak bersilia. Epitel adalah tipe kolumnar dengan silia yang sangat panjang, yang sangat menonjol di dorsal (Galtsoff, 1964).

2.2.2 Habitat Kerang Hijau (*Perna viridis* L.)

Kerang hijau (*Perna viridis*) hidup pada perairan estuari, teluk dan daerah mangrove dengan substrat pasir lumpur serta salinitas yang tidak terlalu tinggi. Umumnya hidup menempel dan bergerombol pada dasar substrat yang keras, yaitu batu karang, kayu, bambu atau lumpur keras dengan bantuan byssus. Kerang hijau (*Perna viridis*) tergolong dalam organisme/hewan sesil yang hidup bergantung pada ketersediaan zooplankton, fitoplankton dan material yang kaya akan kandungan organik (Komara, 2014). Kerang hijau (*Perna viridis*), seperti kerang-kerangan lainnya adalah herbivora, memakan fitoplankton dan partikel detritus dengan cara menyaring air di tempat tinggal mereka (Korringa, 1976).

Kerang hijau (*Perna viridis* L.) dapat ditemukan di daerah pesisir berbatu, di mulut estuari atau sungai dengan salinitas yang hampir sama dengan laut. Kelimpahan kerang hijau (*Perna viridis* L.) banyak ditemui di daerah intertidal atau subtidal, menempel secara bergerombol pada batu-batu karang, tangkul-

tanggul pelabuhan dan tonggak-tonggak penangkapan (Cheong dan Chein, 1980).

2.2.3 Mekanisme Penyerapan Makanan pada Kerang Hijau (*Perna viridis* L.)

Bivalvia merupakan hewan *filter feeder* yang memperoleh makanan dari dengan menghisap partikel organik bersama-sama dengan air melalui siphon dan disaring melalui insang (Nurfakih *et al.*, 2013). Senada dengan pernyataan Barnes (1968), bahwa proses penyaringan pada bivalvia masuk melalui sifon *inkuren* dan tersaring di insang. Penyusun utama lapisan membran insang adalah epitel pipih selapis dan berhubungan langsung dengan sistem pembuluh, dan diduga logam berat yang masuk bersamaan dengan partikel makanan yang mengalami difusi melalui membran insang dan terbawa aliran darah.

Kerang hijau (*Perna viridis* L.) yang mencari makan dengan cara menyaring makanan yang larut di dalam air yang diberi istilah *vacuum cleaner*. Oleh karena itu, kerang hijau (*Perna viridis* L.) akan dapat memfiltrasi seluruh zat-zat yang dibawa oleh air terutama yang berasal dari limbah (Liliandari dan Aunurohim, 2013). Kebanyakan anggota dari bivalvia merupakan *filter feeder* dengan makanan berupa plankton, bakteri, jamur dan juga bahan organik. Makanan diserap dari lingkungan sekitanya masuk kedalam tubuhnya. Makanan yang dambil adalah makanan dengan kelimpahan yang cukup banyak di lingkungannya. Zat hara yang diterima diteruskan ke mulut dan ke kerongkongan berbulu getar yang berakhir ke perut. Partikel-partikel yang besar diteruskan ke usus, sedangkan zat hara lainnya dikirim ke kantung atau tabung pencernaan yang mengelilingi perut. Usus memanjang membentuk lingkaran di dalam kelenjar genital, melewati atas jantung, melilit sekeliling otot pengikat, dan berlanjut sebagai rektum. Anus berbentuk corong, yang membuang feses ke luar dari mantel (Ernawati, 2001).

Makanan yang dikonsumsi akan masuk ke dalam rongga mulut setelah melalui penyaringan dengan silia yang terdapat pada labilal palp sehingga pertikel air yang mengandung makanan terbawa masuk ke dalam rongga mantel. Kelangsungan hidup dan pertumbuhan kerang hijau (*Perna viridis* L.) sangat dipengaruhi oleh kelimpahan pakan yang tersedia. Pencemaran di wilayah pesisir akan berpengaruh terhadap mikroalga dan kerang hijau (*Perna viridis* L.), karena merupakan bioakumulan bagi bahan-bahan polutan seperti logam berat. Semakin meningkatnya kandungan logam berat dalam tubuh kerang hijau (*Perna viridis* L.) baik yang masuk melalui rantai makanan ataupun kontak langsung dengan jaringan akan menyebabkan terganggunya filtrasi makanan sehingga mengalami penurunan pertumbuhan bahkan kematian (Suryono, 2006). Lambung merupakan salah satu organ pada kerang yang terkena dampak dari paparan logam berat. Lambung adalah tempat poses pencenaan berlangsung. Bagian lambung terutama pada *Digestive diverticula* yakni tempat terjadi proses pencernaan intraseluler sehingga makanan yang sudah tecemar oleh logam berat akan dicerna oleh lambung (Barnes, 1968).

Sistem pencernaan pada kerang khususnya kerang air laut, dimulai dari mulut, kerongkongan, lambung, usus dan akhirnya bermuara pada anus. Anus pada kerang terdapat di saluran yang sama dengan saluran untuk keluarnya air. Kelenjar pencernaan, yang berwarna coklat atau hitam dan terdiri dari tubulus yang terhubung ke perut oleh beberapa saluran bersilia, adalah situs utama pencernaan intraseluler. Pada saluran ini ada dua arah aliran: bahan masukkan kelenjar untuk pencernaan intraseluler dan penyerapan dan limbah meninggalkan perjalanan dari lambung dan usus (Dillion, 2004).

Kerang sebagai *filter feeder* memperoleh makanan dari air laut yang berisi partikel-partikel tersuspensi di dalam air yang melewati rongga mantel, sehingga kerang hanya dapat memperoleh makanan pada waktu tubuhnya terendam. Aliran air banyak membawa oksigen dan makanan. Bagi kerang efisiensi makan merupakan hal penting, sehingga faktor-faktor seperti kelimpahan makanan, nilai nutrisi, volume air yang dipompakan, laju ekstraksi, kemampuan penyesuaian terhadap makanan yang dimakan dalam periode singkat sangat mempengaruhi survival dan daya adaptasi kerang (Setyobudiandi, 2004).

2.2.4 Mekanisme Penyerapan Logam Berat Kerang Hijau (*Perna viridis* L.)

Logam berat masuk kedalam tubuh kerang melalui mulut (oral), insang dan kulit, kemudian berada dalam sistem peredaran darah dengan adanya peningkatan hingga mencapai organ. Jangka waktu yang lama akan terjadi akumulasi dalam jaringan daging, sehingga akan berpengaruh terhadap aktivitas fisiologi dan biokimia tubuh kerang (Jalius *et al.*, 2008). Proses penyaringan pada bivalvia masuk melalui sifon inkuren dan tersaring di insang. Penyusun utama lapisan membran insang adalah epitel pipih selapis dan berhubungan langsung dengan sistem pembuluh, dan diduga logam berat yang masuk bersamaan dengan partikel makanan mengalami difusi melalui membran insang dan terbawa aliran darah (Barnes, 1968).

Sistem pencernaan dimulai dari mulut, kerongkongan, lambung, usus dan akhirnya bermuara pada anus. Anus ini terdapat di saluran yang sama dengan saluran untuk keluarnya air. Makanan golongan hewan kerang adalah hewan-hewan kecil yang terdapat dalam perairan berupa protozoa diatom dan lain sebagainya. Makanan ini dicerna di lambung dengan bantuan getah pencernaan dan hati. Sisa-sisa makanan dikeluarkan melalui anus (Mujahir, 2009). Absorpsi logam melalui saluran pernafasan biasanya cukup besar, baik pada hewan air

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

2.3 Metallothionein (MT)

Metallothionein (MT) adalah gen memiliki peran penting dalam proses detoksifikasi logam beracun terutama beberapa logam berat. Metallothionein merupakan golongan protein yang memiliki berat molekul rendah (berkisar 6-7 kDa), kandungan cystein yang tinggi (mulai dari 20% sampai 33%), protein pengikat logam (7 logam/MT) yang banyak dimiliki hewan, tumbuhan tingkat tinggi, mikroorganisme eukariotik dan beberapa prokariotik (Cheng-kui *et al.*, 2012). Senada dengan pernyataan Tarasava *et al.* (2013), bahwa metallothionein adalah protein sederhana yang memiliki massa molekul rendah dan banyak mengandung sistein yang memungkinkan untuk berhubungan dengan beberapa ion logam dengan konfigurasi elektron d^{10} yang berupa metalthiolate. Metallothionein terdapat pada semua organisme hidup. Metallothionein memiliki peranan spesifik yakni mampu menyimpan dan mentransport ion logam esensial Zn(II) dan Cu(II) serta dapat pula berperan dalam detoksifikasi ion logam berbahaya seperti Hg(II) dan Cd(II).

Metallothionein merupakan peptida yang mengandung sistein yang tinggi dan berat molekul rendah. Metallothionein pada invertebrata air berperan penting dalam proses detoksifikasi logam sehingga sering disebut sebagai *biomarker* untuk logam beracun. Proses pengikatan logam di dalam jaringan setiap makhluk hidup juga dapat dilakukan oleh metallothionein yang merupakan protein pengikat logam (*metal-binding protein*) (Desouky, 2012). Metallothionein (MTs) banyak digunakan sebagai *biomarker* karena metallothionein mencerminkan keberadaan polusi logam berat dan induksi dari metallothionein akan meningkat setelah organisme terpapar logam berat (Wu dan Chen, 2005). Metallothionein mengikat logam dengan sangat kuat namun pertukaran ikatan dengan protein lain juga dapat berlangsung dengan mudah. Kondisi ini disebabkan karena ikatan metallothionein terhadap logam memiliki kestabilan termodinamika yang tinggi tetapi dengan stabilitas kinetik yang rendah (Zanger et al., 2001).

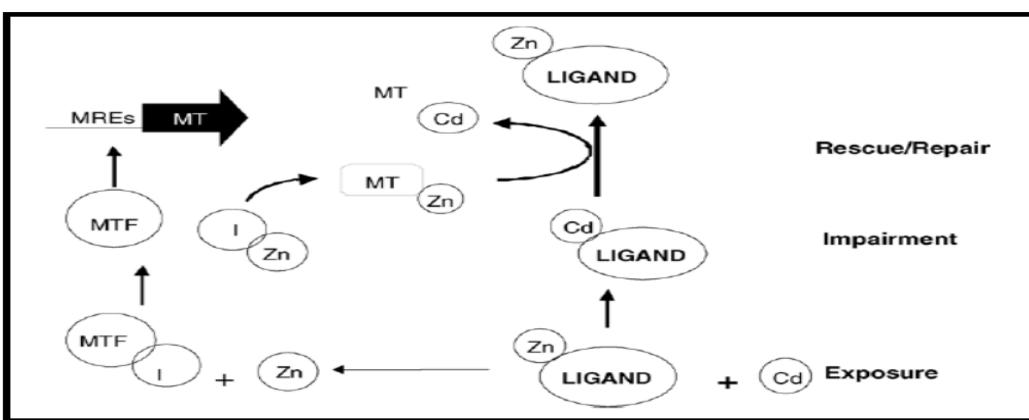
Metallothionein merupakan golongan protein yang sering dikaitkan dengan logam berat dan hingga saat ini masih satu-satunya *biomarker* spesifik terhadap logam. Metallothionein dapat ditemukan pada sel hewan, tumbuhan tinggi, mikroorganisme eukariotik dan prokariotik. Namun metallothionein lebih sering dijumpai pada organ yang banyak terpapar oleh aktivitas senyawa logam seperti pada hati, ginjal, pembuluh darah, saluran pencernaan, dan saluran pernapasan. Di dalam tubuh metallothionein berperan penting dalam mekanisme detoksifikasi, fasilitasi distribusi, dan ekspresi berbagai senyawa logam (Kagi dan Valle, 1960). Menurut Carpene et al. (2007), bahwa metallothionein memiliki dua fungsi utama yaitu sebagai pembersih radikal bebas yang terdapat pada tubuh organisme dan juga sebagai detoksifikasi logam untuk mencapai keadaan hemeostatis.

2.3.1 Pengikatan Logam Berat oleh Metallothionein

Metallothionein merupakan protein yang berfungsi untuk mendetoksifikasi logam metal. Keberadaan metallothionein di dalam tubuh organisme juga berfungsi untuk homeostatis (keseimbangan) metal esensial seperti Co dan Zn. Metallothionein juga sebagai antioksidan, melindungi DNA, mempertahankan fungsi sel, angiogenesis dan apoptosis. Metallothionein mengatur tiga tipe proses dasar. Proses pertama mengatur pelepasan mediator gas seperti hidroksil oksida radikal, kedua merupakan proses apoptosis, dan yang ketiga adalah proses pertukaran dan pengikatan logam berat. Adanya metallothionein dapat digunakan sebagai *biomarker* pencemaran logam. Adanya logam berat pada lingkungan akan menyebabkan jaringan menyerap logam dan bersifat sensitif terhadap *biomarker* (Thirumoorthy *et al.*, 2011). Kerang memiliki kapasitas konsentrasi penyerapan logam berat yang terdapat pada lingkungan perairan. Logam berat yang diproduksi berkaitan dengan keberadaan detoksifikasi yang efektif. Dalam hal ini metallothionein berperan dalam mekanisme pengikatan untuk logam berat yang masuk dengan ligan spesifik dalam sitosol. Metallothionein sendiri merupakan protein dalam molekul rendah dengan memiliki sistein logam yang tinggi serta berperan dalam mengikat ion logam (Couillard *et al.*, 1993).



Reaksi kimia pengikatan logam berat oleh metallothionein dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Model pasangan Metallothionein yang Menginduksi dan Memperbaiki Ligand Target dalam Pengikatan Logam. (MT: Metallothionein; MRE: *Metal Regulatory Element*; MTF: *Metal Transcription Factor*; MTI: *Metal Transcription Inhibitor*) (Roesijadi, 1996 dalam Amiard et al., 2006)

Metallothionein berperan dalam mengatur atau mengendalikan ketersediaan logam intraseluler Cu, Zn dan Cd. Metallothionein mampu mengendalikan pengambilan Cu dan Zn dengan bantuan molekul reseptor yang sesuai antara lain adanya metalloenzyme. Sehingga pengaturan pengambilan logam tersebut sangat spesifik. Protein ini mengikat logam beracun seperti Cd, dimana ZnMT berfungsi sebagai reseptor Cd sedangkan dalam kasus metalloprotein, Zn berfungsi sebagai mekanisme untuk memulihkan struktur fungsional (Roesijadi, 1994). Metallothionein menunjukkan peranan dalam detoksifikasi logam berat Hg^{2+} , Cd^{2+} , metabolism ion Zn^{+2} dan Cu^{+2} , detoksifikasi oksigen reaktif, dan *metabolism metallodrugs* dan *alkylating agents*. Pada manusia dan mamalia, metallothionein mengikat 7 ion Zn^{+2} atau Cd^{+2} melalui 20 residu sistein, yang terdistribusi dalam 2 klaster bebas dan sangat dinamik (Nugroho, 2004).

2.4 Metode Imunofluoresen

Fluorescence adalah peristiwa pemancaran cahaya oleh suatu benda dengan panjang gelombang yang lain pada saat benda tersebut mendapatkan radiasi atau energy (Pandango, 2010). Imunofluoresen adalah metode imunologi untuk mendeteksi antibodi dari berbagai kelas imunoglobulin dalam serum, cairan ludah, cairan otak dengan cara mereaksikan antibodi dan antigen spesifik dan anti-antibodi yang dilabel dengan *Fluorescence Isothiocyanat* (FITC), sehingga terpancar sinar warna hijau atau merah jika dilabel dengan *Rodhamin*. Seiring perkembangan teknologi, imunofluoresen banyak digunakan dalam penelitian untuk mendeteksi antigen atau antibodi dalam mukosa usus, mukosa mulut, dan dalam jaringan, urine, cairan mata (Hasdianah *et al.*, 2014). Zat warna yang dapat berfluoresensi disebut fluorokrom. Pada dasarnya teknik fluoresen antibodi ini merupakan kombinasi cara-cara imunologis dan pewarnaan. Adanya antigen akan diperlihatkan dengan perantaraan antibodi yang telah disenyawakan dengan fluorokrom (Analisis Kesehatan Kendari, 2010).

Pengikatan antara antibodi dengan protein spesifik tentunya terdapat marker yang bisa divisualisasi secara langsung. Marker dapat berupa senyawa berwarna, zat berfluoresensi, logam berat atau enzim. Antibodi primer bertugas mengenali antigen yang diidentifikasi pada jaringan (*first layer*), sedangkan antibodi sekunder akan berkaitan dengan antibodi primer (*second layer*). Antibodi kedua merupakan anti-antibodi primer. Pelabelan antibodi sekunder diikuti dengan penambahan substrat berupa kromogen. Kromogen merupakan suatu gugus fungsi senyawa kimia yang dapat membentuk senyawa berwarna bila bereaksi dengan senyawa tertentu. Pelabelan merupakan pemberian bahan-bahan untuk dapat mewarnai preparat, sedangkan antibodi adalah suatu immunoglobulin yang dihasilkan oleh sistem imun dan bertugas dalam merespon

kehadiran suatu antigen tertentu. Antibodi dibentuk berdasarkan antigen yang menginduksinya. Antigen itu sendiri adalah suatu zat atau substansi yang dapat merangsang sistem imun dan dapat bereaksi secara spesifik dengan antibodi membentuk kompleks terkonjugasi. Ikatan antibodi-antigen divisualisasi menggunakan senyawa label/marker (Larasati, 2010).

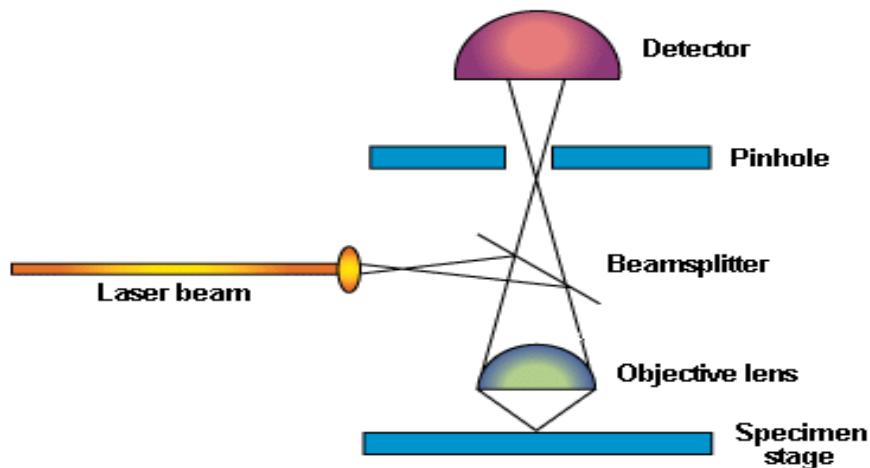
2.5 Confocal Laser Scanning Microscopy (CLSM)

Confocal Laser Scanning Microscopy (CLSM) adalah teknik untuk mendapatkan resolusi tinggi pada gambar optik dengan kedalaman yang selektif. Keistimewaan *Confocal Laser Scanning Microscopy* adalah kemampuannya untuk mendapatkan gambar yang focus dari kedalaman yang dipilih, proses tersebut dikenal sebagai *optic sectioning*. Gambar diperoleh secara bertahap (*point by point*) dan kemudian direkonstruksi dengan komputer (Diningrum, 2011).

Prinsip kerja dari alat ini dengan menggunakan sumber cahaya sinar laser untuk memindahi specimen yang telah diwarnai kemudian dipantulkan menuju satu celah *confocal* sehingga hasil pencitraan lebih focus. Cahaya tersebut diserap oleh partikel-partikel tertentu dalam specimen dan dipancarkan kembali membentuk suatu penampakan terang yang umum disebut dengan fluoresensi (Pawley, 2006). Senada pernyataan tersebut menurut Tortora (2001), prinsip kerja mikroskop ini mirip seperti pada mikroskop *fluoresensi*. Pertama, specimen diwarnai dengan *fluochrome* supaya memantulkan cahaya. Mikroskop ini menggunakan penerangan berupa sinar laser dan dapat dihubungkan dengan komputer sehingga mampu menghasilkan gambar tiga dimensi.

Prinsip kerja *Confocal Laser Scanning Microscopy* dapat dilihat pada

Gambar 5.



Principle of Confocal Scanning Light Microscope

Gambar 5. Prinsip Kerja *Confocal Laser Scanning Microscopy*
(http://en.wikipedia.org/wiki/Confocal_laser_scanning_microscopy)

2.5.1 Kelebihan dan Kelemahan Mikroskop Confocal

Kelebihan dari mikroskop confocal adalah kemampuannya dalam mendapatkan gambar yang focus dari kedalaman yang dipilih, proses tersebut dikenal sebagai *optic sectioning*. Gambar diperoleh secara bertahap (*point by point*) dalam dimensi x, y dan z sebagai fungsi waktu dan ditampilkan dalam banyak warna (menggunakan dua atau lebih *fluorophore*). Selain itu dalam pemindai mikroskop ini mampu mengatur perbesaran secara elektronik dengan memvariasi area yang dipindai oleh laser tanpa harus mengubah objektif. Kelemahan dari mikroskop confocal sendiri adalah bahaya intensitas radiasi laser yang tinggi untuk jaringan dan sel hidup (Olympus Corp, 2009).

2.6 Kondisi Fisika dan Kimia Air

Kualitas air merupakan hal penting yang harus diketahui karena menyangkut organisme yang akan diteliti utamanya pada organisme bivalvia. Kerang hijau (*Perna viridis* L.) merupakan organisme yang memiliki toleransi

tinggi terhadap adanya pencemaran di perairan, oleh karena itu kondisi habitat perlu diketahui. Penelitian ini dilakukan pengukuran kualitas air yang meliputi suhu, salinitas, pH, dan DO/*Dissolved Oxygen* (Oksigen terlarut).

2.6.1 Suhu

Suhu merupakan derajat panas dingin suatu perairan. Suhu memiliki pengaruh penting dalam spesiasi logam, karena kebanyakan tingkat reaksi kimia sangat sensitif terhadap perubahan suhu. Suhu juga dapat mempengaruhi kuantitas logam berat yang diserap ikan, karena rata-rata proses biologi akan meningkat dua kali lipat pada tiap kenaikan suhu 10 °C karena kenaikan suhu mempengaruhi tingkat *influx* (pemasukan) dan *efflux* (pengeluaran) logam berat (Jakfar et al., 2014).

Pengaruh suhu bagi kelangsungan hidup organisme sangat penting. Pernyataan Hutabarat dan Evans (1985), mengemukakan bahwa suhu merupakan *controlling factor* (faktor pengendali) bagi proses respirasi dan metabolisme biota akuatik yang berlanjut terhadap pertumbuhan dan proses fisiologi serta siklus reproduksinya. Menurut Wisnawan (2013), suhu yang baik untuk pertumbuhan kerang hijau adalah berkisar 24-30 °C.

2.6.2 Salinitas

Salinitas adalah konsentrasi total ion yang terdapat di perairan. Salinitas dinyatakan dalam satuan promil. Nilai salinitas perairan tawar kurang dari 0,5 ‰, perairan payau antara 0,5-30 ‰ dan perairan laut 30-40 ‰. Pada perairan pesisir, nilai salinitas sangat dipengaruhi oleh masukan air tawar dari sungai (Effendi, 2003). *Perna viridis* hidup pada salinitas 27-34‰ dan mampu mentolerir salinitas hingga mencapai 16‰.

Salinitas sangat berhubungan dengan tekanan osmotik air sehingga organisme berada pada kondisi yang seimbang dengan medium tempat hidupnya. Perubahan salinitas dapat terjadi karena adanya pasang surut, aliran air dari daratan, penguapan air bersalinitas maupun adanya air hujan. Salinitas dapat mempengaruhi keberadaan konsentrasi logam berat yang ada di perairan. Bila salinitas menurun maka akan menyebabkan peningkatan daya toksik logam berat dan tingkat akumulasi logam berat semakin besar. Perubahan salinitas juga mengakibatkan tekanan terhadap organisme seperti kerang bahkan dapat menimbulkan kematian (Nybakken, 1998).

2.6.3 pH

pH merupakan derajat keasaman yang diukur dari jumlah ion hidrogen menggunakan rumus umum $\text{pH} = -\log (\text{H}^+)$. Nilai pH mempengaruhi toksitas suatu senyawa kimia, toksitas logam memperlihatkan peningkatan pada nilai pH rendah dan berkurang pada meningkatnya pH (Effendi 2003). pH di perairan mempengaruhi konsentrasi logam berat. Pada pH rendah kelarutan logam berat akan lebih tinggi, sehingga menyebabkan toksitas logam berat semakin besar (Eshmat *et al.*, 2014). pH yang ideal bagi kehidupan organisme akuatik umumnya berkisar antara 7 – 8,5. Kondisi perairan yang sangat asam maupun sangat basa akan membahayakan kelangsungan hidup organisme karena akan menyebabkan mobilitas berbagai senyawa logam yang bersifat toksik (Barus, 2004).

2.6.4 DO/Dissolved Oxygen (Oksigen terlarut)

Oksigen terlarut dalam perairan memegang peranan penting utamanya dalam proses dekomposisi. Menurut Hariyadi *et al.* (1992), oksigen terlarut dalam air dapat berasal dari hasil proses fotosintesa oleh fitoplankton atau tanaman air lainnya dan difusi dari udara. Ditambahkan oleh Pujiastuti (2013), selain diperlukan untuk kelangsungan hidup organisme perairan, oksigen juga



diperlukan dalam proses dekomposisi senyawa-senyawa organik maupun senyawa anorganik.

Pengaruh oksigen terlarut terhadap logam berat yaitu berbanding terbalik dimana semakin rendah kadar oksigen terlarut, semakin tinggi toksitas logam berat, begitu juga sebaliknya. Namun pada perairan yang diperuntukkan untuk perikanan sebaiknya kadar oksigen tidak kurang dari 5 mg/liter (Wahyuni *et al.*, 2013). Adanya logam berat dalam tubuh organisme akan mengganggu sintesis Hb. Hb ini berfungsi untuk mengikat oksigen, jika sintesis Hb dihambat maka kemampuan untuk mengikat oksigen juga semakin kecil, oksigen yang dibutuhkan tubuh untuk metabolisme (Yulaipi dan Aunurohim, 2013).

2.7 Penelitian Terdahulu

Berdasarkan penelitian terdahulu menunjukkan wilayah perairan Ngemboh, Banyu Urip dan Kenjeran telah terjadi pencemaran logam berat khususnya Pb, Cd dan Hg. Masuknya logam berat ke perairan direspon oleh metallothionein sebagai salah satu protein pengikat logam berat yang terdapat pada tubuh organisme khususnya bivalvia. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kerang memiliki sifat akumulator yang berguna untuk mengetahui jumlah konsentrasi logam berat tentunya dari setiap perairan menunjukkan hasil yang berbeda karena perbedaan karakteristik perairan. Data penelitian terdahulu mengenai logam berat di perairan dan metallothionein dapat dilihat pada Lampiran 3.

3. MATERI DAN METODE

3.1 Materi Penelitian

Materi dalam penelitian ini adalah mengetahui *bio image* pada lambung kerang hijau (*Perna viridis* L.) untuk mendeteksi kandungan metallothionein dari perairan Ngemboh, Banyu Urip dan Kenjeran yang diduga tercemar logam berat Pb, Hg, Cd, serta dilakukan pengukuran kualitas air yang meliputi suhu, salinitas, pH dan DO/*Dissolved Oxygen* (Oksigen terlarut) secara *insitu*.

3.2 Alat dan Bahan

Adapun alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.3 Metode Penelitian

Metode pengumpulan data yang digunakan dalam penelitian ini adalah survei dengan statistika inferensial yakni menggambarkan keadaan lokasi penelitian secara nyata dan dibuktikan dengan hasil analisis data. Menurut Notoatmojo (2010), penelitian survei tidak dilakukan intervensi atau perlakuan terhadap variabel, tetapi sekedar mengamati terhadap fenomena alam atau sosial, atau mencari hubungan fenomena tersebut dengan variabel-variabel yang lain.

Penelitian ini dilakukan dengan mengambil sampel dari tiga lokasi berbeda yaitu perairan Ngemboh, Banyu Urip dan Kenjeran. Sampel yang diambil adalah kerang hijau (*Perna viridis* L.), air dan sedimen. Pengukuran kandungan logam berat Pb, Cd, Hg pada air, sedimen dan lambung untuk mengetahui hubungan dengan kandungan metallothionein. Analisis yang digunakan untuk mengamati ekspresi metallothionein pada lambung dengan

menggunakan *Confocal Laser Scanning Microscopy*. Selain itu, dilakukan pengukuran kualitas air sebagai parameter pendukung penelitian. Adapun sumber data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data primer dan data sekunder.

3.3.1 Data Primer

Data primer (*primary data*) yaitu data yang dikumpulkan sendiri oleh perorangan/suatu organisasi secara langsung dari objek yang diteliti dan untuk kepentingan studi yang bersangkutan yang dapat berupa wawancara, observasi, survei (Situmorang *et al.*, 2010). Pada penelitian ini data primer meliputi proses pewarnaan imunofluresen, pengamatan kandungan metallothionein pada lambung kerang hijau (*Perna viridis* L.) dengan *Confocal Laser Scanning Microscopy*, kandungan logam berat Pb, Hg, Cd pada perairan dan sedimen, serta pengukuran kualitas air yang meliputi suhu, salinitas, pH, dan DO/*Dissolved Oxygen* (Oksigen terlarut) pada perairan Ngemboh, Banyu Urip dan Kenjeran. Wawancara yang dilakukan adalah Tanya jawab dengan masyarakat sekitar mengenai daerah penangkapan kerang hijau (*Perna viridis* L.), sumber pencemar dan musim kerang hijau (*Perna viridis* L.) di perairan Ngemboh, Banyu Urip serta Kenjeran.

3.3.2 Data Sekunder

Data sekunder adalah data yang diperoleh secara tidak langsung atau dari sumber kedua (Marzuki, 1983). Data sekunder pada penelitian ini diperoleh dari jurnal penelitian, laporan penelitian, buku, internet serta kepustakaan lain yang menunjang penelitian ini dimana data sekunder diperlukan untuk mendukung data primer.

3.4 Lokasi Sampling

Pengambilan sampel pada penelitian ini dilakukan pada tiga lokasi berbeda, dimana pada lokasi pertama merupakan tempat sandaran kapal perdagangan di perairan Ngemboh, lokasi kedua merupakan wilayah perikanan di perairan Banyu Urip sedangkan pada lokasi ketiga merupakan wilayah sentral industri perikanan di perairan Kenjeran. Penentuan lokasi tersebut didasarkan pada dugaan jenis cemaran yang berasal dari sumber buangan limbah yang berbeda. Lokasi 1 didominasi oleh aktivitas penangkapan ikan karena digunakan tempat bersandar kapal dan berdekatan dengan pabrik pembuatan kapal. Lokasi 2 didominasi oleh kegiatan perikanan seperti mencari ikan dengan kapal-kapal kecil serta terdapat kemungkinan cemaran dari buangan tambak udang yang ada di sekitar Banyu Urip. Lokasi 3 didominasi oleh kegiatan industri perikanan skala besar serta kegiatan industri besar lain di kota Surabaya. Berdasarkan penentuan lokasi dari ketiga perairan ditentukan 3 titik tiap lokasi dan pengambilan sampel diulang sebanyak 3 kali dalam satu waktu. Peta Lokasi sampling dapat dilihat pada Lampiran 2.

3.5 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian digunakan sebagai acuan dalam memperoleh data penelitian. Prosedur penelitian yang dilakukan adalah dengan pengambilan sampel, preparasi sampel, analisis logam berat pada air, sedimen dan lambung kerang hijau (*Perna viridis* L.), serta pembuatan irisan jaringan, pewarnaan imunofloresen dan pengamatan dengan metode *Confocal Laser Scanning Microscopy*.

3.5.1 Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode random sampling berdasarkan letak lokasi bagan tempat pengambilan kerang hijau (*Perna viridis* L.). Pengambilan sampel dilakukan pada tiga perairan yang telah ditentukan, dimana sampel kerang yang diambil dari tiap titik sampling sebanyak 3 ekor agar data yang diperoleh lebih akurat dan dapat mewakili semua kerang hijau (*Perna viridis* L.) pada tiap-tiap perairan yang telah ditentukan.

Pengambilan sampel kerang dilakukan dengan cara mengambil secara langsung dari alat pengumpul kerang milik nelayan. Kerang hijau (*Perna viridis* L.) dari perairan Ngemboh, Banyu Urip dan Kenjeran didapatkan menempel pada batu dan menempel pada bagan yang sengaja dibuat oleh nelayan. Kerang yang diambil dalam penelitian ini dengan panjang berkisar 7 cm – 8 cm. Sampel air yang akan diuji kadar logam berat diambil langsung dari perairan dengan menggunakan botol air mineral dan diberi larutan HNO_3 pekat sebanyak 10 tetes dan diberi label, kemudian air sampel dimasukkan ke dalam coolbox dan dianalisis di laboratorium. Pengambilan sampel sedimen di dasar perairan dilakukan dengan penyelaman oleh nelayan setempat pada saat pengambilan sampel kerang di bagan tempat hidup kerang hijau (*Perna viridis* L.). Sampel sedimen yang diperoleh dimasukkan ke dalam plastik klip berukuran 15 cm x 12 cm. Sampel sedimen kemudian dimasukkan plastik dan disimpan di dalam coolbox.

3.5.2 Preparasi Sampel

Sampel kerang hijau (*Perna viridis* L.) yang telah diperoleh, dibersihkan dari lumpur dan dimasukkan ke dalam wadah rak plastik. Selanjutnya wadah rak plastik yang berisi kerang hijau (*Perna viridis* L.) diikat dengan karet gelang

kemudian diberi label untuk menandai biota agar tidak tertukar. Setelah itu, dimasukkan dalam *coolbox* yang telah berisi air laut serta dipasang aerator baterai upaya tersebut dilakukan untuk mendapatkan sampel kerang hijau (*Perna viridis* L.) yang masih segar. Selanjutnya kerang hijau (*Perna viridis* L.) diberi pelakuan di Laboratorium Reproduksi Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya.

3.5.3 Pengujian Kandungan Logam Berat Pb, Cd dan Hg

Prosedur pengukuran kandungan logam berat Pb, Cd dan Hg dengan menggunakan AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometry*) sebagai berikut:

1. Menimbang masing-masing sampel padat ± 15 gr dengan timbangan Sartorius untuk mendapatkan berat basah.
2. Mengoven sampel padat pada suhu $\pm 105^{\circ}\text{C}$ selama 3 - 5 jam sampai mendapat berat konstan.
3. Menimbang berat konstan dengan timbangan Sartorius sebagai berat kering.
4. Memasukkan sampel yang sudah kering ke dalam *beaker glass* 100 ml.
5. Menambahkan HNO_3 dengan perbandingan 1:1 ($\text{HNO}_3:\text{HCL}$) sebanyak ± 10 -15 ml.
6. Memanaskan diatas *hot plate* di dalam kamar asam sampai ± 3 ml.
7. Menyaring dengan kertas saring ke dalam labu ukur 50 ml.
8. Mengulang proses penyaringan sampai tanda batas labu ukur dengan terlebih dahulu menambahkan 15 ml aquades ke dalam *beaker glass* sebagai tempat sampel.
9. Menganalisis sampel dengan menggunakan mesin *Atomic Absorbstion Spectrophotometer* (AAS) pada panjang gelombang 283,3 nm.
10. Menyiapkan larutan standar.

11. Menganalisis larutan standar dengan mesin AAS dan mencatat nilai absorbannya kemudian membuat kurva kalibrasinya. Larutan standar ini berfungsi untuk membantu nilai konsentrasi logam Pb, Cd, dan Hg pada sampel, karena prinsip kerja mesin AAS hanya menentukan nilai absorbansi dengan sampel.

3.5.4 Pembuatan Iりsan Jaringan

A. Pembedahan dan Pengawetan Lambung Kerang Hijau (*Perna viridis* L.)

Langkah-langkah pembedahan dan pengawetan lambung kerang hijau (*Perna viridis* L.) adalah sebagai berikut:

1. Cangkang kerang hijau (*Perna viridis* L.) dibuka menggunakan sectio set.
2. Organ dalam dibedah menggunakan sectio set.
3. Kemudian lambung kerang hijau (*Perna viridis* L.) diambil.
4. Lambung kerang hijau (*Perna viridis* L.) dimasukkan ke dalam botol sampel yang telah diisi dengan larutan formalin 10%.

B. Pengamatan Histopatologi

Pengamatan Histopatologi dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang. Prosedur pembuatan preparat menurut Muntiha (2001) antara lain sebagai berikut:

1. Fiksasi

Sampel lambung dimasukkan ke dalam larutan formalin 10%.

Kemudian didiamkan selama 24 jam untuk selanjutnya dipotong membujur dan dimasukkan ke dalam *tissue cassette* sesuai dengan kode. Lalu *tissue cassette* dimasukkan ke dalam keranjang khusus.

2. Dehidrasi

Sampel lambung dalam keranjang dimasukkan ke dalam *tissue tex processor* untuk diproses secara otomatis. Jaringan mengalami proses dehidrasi

bertahap dengan putaran waktu: alkohol 70% (2 jam), alkohol 80% (2 jam), alkohol 90% (2 jam), alkohol absolut (2 jam), alkohol absolut (2 jam), xylol (2 jam), xylol (2 jam).

3. Proses Vakum

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

4. Pengeblokan

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

5. Sectioning (pengirisan)

Blok di jepit pada mikrotom. Blok paraffin dipotong dengan pisau mikrotom. Kemiringan: ±30°. Tebal ± 3-5 mikron. Hasil pemotongan (berupa pita/irisani tipis yang saling bersambung) dimasukkan ke dalam waterbath yang diisi air yang sudah dihangatkan 40°C - 50°C. Kemudian diambil dengan kaca objek (meletakkan potongan di waterbath tidak boleh terbalik). Disusun dalam *object glass box*. Lalu dimasukkan ke dalam inkubator bersuhu 60°C. Lakukan deparafinasi preparat (blok parafin) dengan xylol sebanyak 3 kali masing-masing 3 menit.



Rehidrasi preparat dengan menggunakan atanol 100%, 95% dan 70%. Masing-masing selama 2 menit, 2 menit, dan 1 menit.

3.5.5 Pewarnaan Imunofluresen

Pewarnaan imunofluoresen merupakan suatu proses mengidentifikasi protein spesifik pada jaringan atau sel dengan menggunakan antibodi. Penelitian ini menggunakan antibodi primer yaitu Mouse Monoclonal dan antibodi sekunder yang digunakan adalah Anti Mouse IgG-Rhodamine red X yang ditandai dengan adanya warna merah pada gambar yang terekspresi. Pada penelitian ini terdapat tiga lokasi pengambilan sampel kerang hijau (*Perna viridis* L.) yaitu perairan Ngemboh, perairan Banyu Urip dan Perairan Kenjeran. Pada masing-masing titik diambil tiga sampel kerang hijau (*Perna viridis* L.).

Prosedur pewarnaan imunofluoresen pada bagian lambung kerang hijau (*Perna viridis* L.) menggunakan metode yang dimodifikasi dari beberapa jurnal penelitian yang dijadikan sebagai acuan. Perlakuan ini meliputi penghilangan paraffin dan perwanaan dengan imunofluoresen. Adapun urutan kerja yang dilakukan menurut Jelks *et al.*, (2007); Giddabasappa *et al.*, (2010); Barouk *et al.*, (2011), adalah sebagai berikut:

1. Deparafinisasi

Preparat dimasukkan berturut-turut ke dalam larutan xylol 1, xylol 2, etanol absolute 1, etanol absolute 2, etanol 90%, etanol 70% masing-masing selama 5 menit untuk menghilangkan parafin.

2. *Staining* (Pewarnaan antibodi)

Preparat histologi yang sudah hilang parafinnya diproses untuk pewarnaan imunofluoresensi dengan dicuci 3x dalam PBS (*Phosphate Buffer Saline*). Kemudian direndam dalam buffer sitrat (pH 6) pada suhu tinggi selama 15 menit. Lalu dicuci 3x dalam PBS. Setelah itu preparat diblok dengan BSA 2%

dalam PBS (pH 7,4) selama 60 menit. Dicuci kembali 3x dalam PBS. Lalu diinkubasi dalam antibodi Mouse Monoclonal sebagai antibodi primer selama 60 menit pada suhu 4°C. Preparat dicuci 3x dalam PBS dan antibodi sekunder dalam BSA (*Bovine Serum Albumin*) 2% dinkubasi selama 60 menit pada suhu ruang dan dalam keadaan gelap. Setelah itu preparat dicuci 3x dengan PBS, dikeringkan dan diamati dengan *Confocal Laser Scanning Microscopy*.

3.5.6 Pengamatan dengan Metode Confocal Laser Scanning Microscopy

Prosedur pemindaian (*scan*) dengan *confocal microscopy* pada sampel jaringan lambung kerang hijau (*Perna viridis* L.) dilakukan di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Universitas Brawijaya, Malang. Preparat diamati dengan menggunakan perbesaran 400x. Untuk mengeksitasi antibodi sekunder yakni anti mouse IgG, gambar *fluorescent* dikumpulkan dalam bentuk *Fluoresensi* berupa pendaran berwarna merah kerena menggunakan rhodamine, 3 dimensi hitam putih atau *Differential Interference Contras* (DIC) dan *Super Impose* (SI) yang menampilkan gabungan kedua gambar *fluoresensi* dan DIC. Ekspresi metallothionein ditentukan estimasi kuantitatif berdasarkan intensitas pewarnaan relative pada area *fluoresensi* (Calaf dan Roy, 2007).

3.6 Analisis Kualitas Air

Pengukuran kualitas air yang digunakan untuk mengetahui kondisi perairan tempat hidup kerang hijau (*Perna viridis* L.). Selain itu pengukuran kualitas air bertujuan untuk mengetahui kelarutan logam berat di perairan yang berhubungan dengan kenaikan kandungan metallothionein. Adapun kualitas air yang diukur terdiri dari suhu, salinitas, pH dan DO/*Dissolved Oxygen* (Oksigen terlarut).

a. Suhu

Menurut Subarjanti (1990), suhu dapat diukur dengan menggunakan alat yaitu thermometer Hg. Prosedur pengukuran suhu antara lain:

- Menyiapkan thermometer Hg.
- Memasukkan thermometer ke dalam perairan dengan membelakangi matahari dan thermometer tidak menyentuh tangan.
- Menunggu selama \pm 2 menit dan membaca skala thermometer pada saat thermometer masih di perairan.

b. Salinitas

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

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

c. Derajat Keasaman (pH)

Menurut SNI (2004), pengukuran pH dengan menggunakan pH meter.

Prosedur pengukuran pH adalah sebagai berikut:

- Mengalirkan air suling ke elektroda kemudian mengeringkan dengan menggunakan kertas tisu.
- Memasukkan elektroda ke dalam air sampel hingga pH meter menunjukkan pembacaan yang tetap dan mencatat hasil pembacaan dari pH meter.



d. DO/Dissolved Oxygen (Oksigen terlarut)

Menurut Hariyadi *et al.* (1992), prosedur analisis oksigen terlarut (DO) pada perairan di lokasi penelitian adalah sebagai berikut:

- Menekan tombol “ON” pada DO meter dan distandarisasi alat ukur.
- Membilas elektroda (sensor) dengan aquades dan diusap dengan tisu.
- Memasukkan ujung elektroda ke dalam perairan.
- Melihat angka yang ditunjukkan pada layar dan catat menggunakan alat tulis.
- Mengkalibrasi ujung batang menggunakan aquades agar netral kembali.
- Menekan tombol “OFF” pada DO meter.

3.7 Analisis Data

Analisis data dalam penelitian ini menggunakan analisis statistik Kruskal-Wallis dan analisis regresi linier berganda. Kruskal-Wallis merupakan uji non parametrik yang bertujuan untuk menentukan perbedaan signifikan secara statistik antara dua atau lebih dari variable independen pada variabel dependen yang berskala data numerik (interval/rasio) atau skala ordinal. Pengolahan data dilakukan dengan menggunakan *software* analisis data yaitu SPSS 23.0. Analisis statistik Kruskal-Wallis pada penelitian ini digunakan untuk analisis perbandingan kandungan rata-rata intensitas metallothionein pada ketiga lokasi pengamatan terdapat perbedaan atau sama.

Analisis regresi linier berganda merupakan alat analisis yang mampu menjelaskan pola hubungan pengaruh variabel yang melibatkan lebih dari satu variabel bebas ($X_1, X_2, X_3, \dots, X_n$) dan disebut linier karena pada setiap estimasi atas nilai diharapkan mengalami peningkatan atau penurunan mengikuti garis lurus. Model regresi ini digunakan untuk mengetahui hubungan metallothionein yang merupakan variabel bebas (Y) pada lambung kerang hijau (*Perna viridis L.*)

terhadap kadar logam berat Pb, Cd dan Hg yang merupakan variabel terikat (X).

Persamaan model regresi linier berganda menurut Walpole (1995) yaitu:

$$Y = a + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + \dots +$$

Keterangan:

Y : Variabel terikat (kandungan metallothionein pada lambung kerang hijau (*Perna viridis* L.))

a : Nilai konstanta

b (1,2,3,...) : Nilai koefisiensi regresi

X (1,2,3,...) : Variabel bebas (kandungan logam berat Pb, Cd, Hg pada lambung kerang hijau (*Perna viridis* L.))



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Deskripsi Lokasi Penelitian

Deskripsi lokasi penelitian yakni perairan Ngemboh, Banyu Urip dan Kenjeran perlu diketahui sebagai habitat kerang hijau (*Perna viridis* L.).

4.1.1 Deskripsi Perairan Ngemboh

Pengambilan sampel pertama dilakukan di perairan Ngemboh, desa Ngemboh, Kabupaten Gresik yang terletak pada koordinat $6^{\circ}53'14.17$ - $6^{\circ} 53'47.18''$ S LS dan $112^{\circ}29'25.54$ - $112^{\circ} 30'11.04''$ T BT (Lampiran 2a). Adapun batas-batas Desa Ngemboh adalah sebagai berikut:

Sebelah Utara	: Laut Jawa
Sebelah Timur	: Desa Banyu Urip
Sebelah Selatan	: Desa Cangaan, Desa Gosari, Desa Kebonagung, Desa Karangrejo dan Desa Ketapanglor
Sebelah Barat	: Kecamatan Panceng

Perairan Ngemboh merupakan daerah penting karena dijadikan sebagai area perikanan tangkap dan budidaya kerang hijau (*Perna viridis* L.). Seiring pembangunan yang semakin pesat disekitar perairan Ngemboh menyebabkan adanya pencemaran lingkungan, hal tersebut dapat dilihat dari permukiman penduduk, adanya muara sungai dan tempat pelelangan ikan. Adapun selain kegiatan bongkar muat perahu nelayan juga kerang hasil tangkapan langsung diolah dan menghasilkan limbah kulit kerang yang menumpuk di tepian pantai.

Adapun untuk lebih jelasnya mengenai perairan Ngemboh dapat dilihat

Gambar 6.



Gambar 6. Kondisi Perairan Ngemboh

4.1.2 Deskripsi Perairan Banyu Urip

Pengambilan sampel kedua terletak di perairan Banyu Urip, Desa Banyu Urip, Kecamatan Ujung Pangkah, Gresik yang terletak pada koordinat $6^{\circ}53'48,74-6^{\circ}54'13,63''S$ LS dan $112^{\circ}30'37.48-112^{\circ}31'12.83''T$ BT (Lampiran 2a). Adapun batas-batas Desa Banyu Urip adalah sebagai berikut:

Sebelah Utara	:	Laut Jawa
Sebelah Timur	:	Desa Pangkah Kulon
Sebelah Selatan	:	Desa Gosari
Sebelah Barat	:	Desa Ngemboh

Masyarakat desa Banyu Urip mayoritas bekerja sebagai nelayan yang penghasilan utamanya dari budidaya kerang hijau (*Perna viridis* L.). Permasalahan yang dihadapi masyarakat desa Banyu Urip yaitu budidaya kerang hijau (*Perna viridis* L.) yang semakin lama hasil panennya semakin menurun, hal ini diakibatkan oleh limbah yang terdapat di perairan semakin meningkat. Pencemaran yang terjadi di perairan Banyu Urip diakibatkan oleh limbah kapal seperti minyak, bensin dan cat kapal, limbah rumah tangga dan juga limbah kegiatan perikanan di sekitar perairan Banyu Urip.

Adapun untuk lebih jelasnya mengenai perairan Banyu Urip dapat dilihat

Gambar 7.



Gambar 7. Kondisi sekitar perairan Banyu Urip

4.1.3 Deskripsi Perairan Kenjeran

Pengambilan sampel ketiga terletak di area perairan Kenjeran yang terletak di Kecamatan Bulak Kota Surabaya, terletak pada koordinat $7^{\circ}13'04.45\text{-}7^{\circ}13'25.43\text{"S LS}$ dan $112^{\circ}48'48.80\text{-}112^{\circ}49'17.02\text{"T BT}$ (Lampiran 2b). Perairan Kenjeran Surabaya terletak di bagian timur kota Surabaya dan berbatasan langsung dengan Selat Madura. Adapun batas-batas perairan Kenjeran adalah sebagai berikut:

Sebelah Utara : Laut Jawa

Sebelah Timur : Kecamatan Kedungcowek

Sebelah Selatan : Kelurahan Kapasan

Sebelah Barat : Kelurahan Kalisari

Perairan Kenjeran mendapat masukan limbah dari Sungai Wonokromo, Sungai Wonorejo dan sungai kecil lainnya. Perairan ini merupakan tempat bermuaranya sungai yang mengangkut berbagai bahan buangan diantaranya logam berat seperti merkuri yang berasal dari kegiatan perindustrian seperti pabrik cat, kertas, peralatan listrik maupun limbah rumah sakit dan obat-obatan pertanian. Aktivitas penduduk disekitar perairan kenjeran juga turut menyumbang

buangan limbah ke laut seperti membuang limbah rumah tangga langsung ke laut, membuang air bekas perebusan kerang, teripang maupun ikan serta limbah air cucian. Kegiatan tersebut berdampak pada penurunan kualitas air di perairan Kenjeran dan berpengaruh pada biota yang hidup di dalamnya. Adapun kondisi sekitar perairan Kenjeran dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Kondisi sekitar perairan Kenjeran

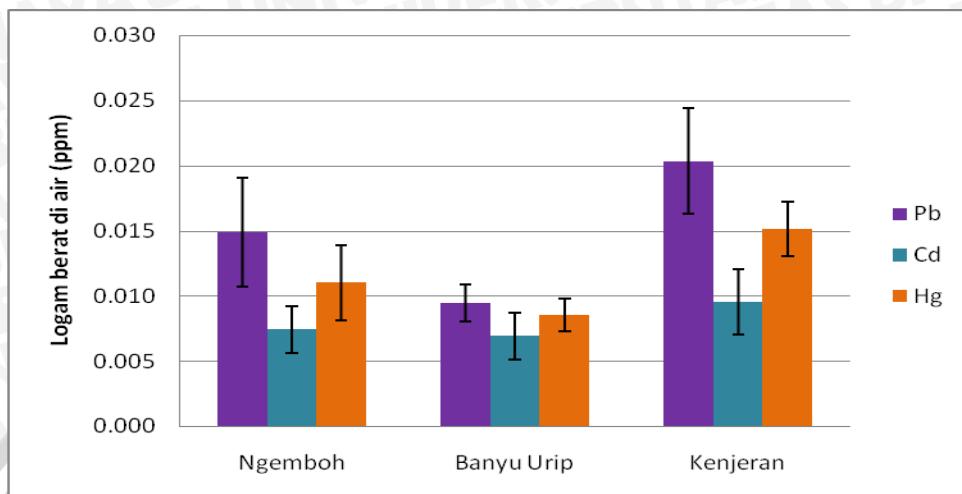
4.2 Hasil Pengukuran Logam Berat Pada Sampel

Pengukuran kandungan logam berat Pb, Cd dan Hg pada penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Analitik FMIPA Universitas Brawijaya, Malang dengan menggunakan alat AAS (*Atomic Absorbtion Spectrophotometer*). Data pengukuran logam berat Pb,Cd dan Hg pada air, sedimen dan organ lambung kerang hijau (*Perna viridis L.*) untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Lampiran 4.

4.2.1 Kandungan Logam Berat Pb, Cd dan Hg Pada Air

Penelitian ini dilakukan pengukuran kadar logam berat Pb, Cd dan Hg pada air dari masing-masing lokasi penelitian yakni perairan Ngemboh, Banyu Urip dan Kenjeran. Berdasarkan hasil yang didapatkan dari ketiga lokasi tersebut menunjukkan hasil yang berbeda, hal tersebut karena adanya perbedaan karakteristik perairan dan sumber pencemar. Hasil pengukuran menunjukkan bahwa rata-rata kadar logam berat dari ketiga lokasi dapat diketahui bahwa Pb memiliki kadar tertinggi kemudian Hg dan terendah yakni Cd. Hasil rata-rata

kandungan logam berat Pb, Cd dan Hg dari ketiga perairan dapat dilihat pada Gambar 9 dan Lampiran 4a.



Gambar 9. Rata-rata Kandungan Logam Berat Pada Air
(Pb (Pratisto, 2016); Cd (Sholihah, 2016); Hg (Nuhriyana, 2016))

Berdasarkan Gambar 9 diatas, kandungan logam Pb, Cd dan Hg pada perairan Ngemboh tidak begitu jauh. Hasil rata-rata Pb sebesar 0,015 ppm, Cd sebesar 0,007 ppm, dan Hg sebesar 0,011 ppm. Perbandingan rata-rata kandungan logam di perairan Banyu Urip untuk Pb dan Hg sama-sama tinggi yakni sebesar 0,009 ppm dan terendah adalah Cd sebesar 0,007 ppm. Perairan Kenjeran kandungan Pb sebesar 0,020 ppm dan Hg sebesar 0,015 ppm lebih tinggi daripada Cd yakni sebesar 0,010 ppm. Hasil pengukuran logam berat pada tiga perairan tersebut sudah melebihi ambang batas untuk kehidupan biota laut yang ditentukan oleh Keputusan Menteri Lingkungan Hidup Nomor 51 tahun 2004 (Lampiran 10a), yaitu untuk Hg 0,001 mg/l, Pb 0,008 mg/l dan Cd 0,001 mg/l.

Tingginya kandungan Pb pada perairan Kenjeran daripada di perairan Ngemboh dan Banyu Urip diduga karena lokasi tersebut ditemukan banyak aktivitas manusia seperti permukiman dan sentra pengolahan ikan serta terdapat kegiatan industri besar lain yang letaknya dekat dengan pantai. Selain itu

banyaknya kendaraan bermotor di kota Surabaya diduga sebagai sumber tingginya kandungan Pb di perairan. Seperti pernyataan Taftazani (2007) bahwa pantai timur Surabaya merupakan muara sungai Brantas. Pada umumnya, lingkungan perairan yang dipengaruhi aktivitas manusia cenderung terkontaminasi logam berat Pb. Menurut Sarjono (2009), tingginya Pb di laut sendiri berasal dari buangan sisa bahan bakar kapal motor, cat kapal dan wisata bahari serta merupakan sentral industri di kota Surabaya. Sumber utama Pb adalah dari bahan aditif bensin berasal dari komponen gugus akil timbal. Ditambahkan Murtini dan Peranginangin (2006), bahwa proses masuknya logam berat Pb ke dalam perairan yaitu melalui pengendapan dan jatuhnya debu yang mengandung Pb dari hasil pembakaran bensin, erosi dan limbah industri.

Berdasarkan hasil analisis diketahui pada semua perairan kandungan logam Pb yang tertinggi daripada logam Cd dan Hg. Seperti yang diketahui Pb di atmosfer berasal dari sisa hasil pembakaran bensin bertimbali, buangan sisa solar, pengecatan kapal, mengingat di semua lokasi penelitian banyak terdapat kapal nelayan yang bersandar. Menurut Palar (2012), Pb masuk ke dalam perairan secara alamiah (pengkristalan Pb di udara dengan bantuan air hujan) serta dampak aktivitas manusia (buangan limbah industri yang berkaitan dengan Pb). Menurut Fernanda (2012), timbal digunakan untuk bahan baterai, cat dan sebagai bahan tambahan untuk bensin sebagai bahan anti letusan (antiknock).

Logam berat Cd yang tertinggi yakni di perairan Kenjeran dari pada perairan Ngemboh dan Banyu Urip. Hal tersebut karena terdapat kegiatan perikanan, pembuangan limbah rumah tangga dan pengecatan kapal nelayan bertujuan untuk perawatan kapal nelayan yang dilakukan di tepian pantai. Perairan Ngemboh dan perairan Banyu Urip juga merupakan tempat pendaratan perikanan tetapi bukan dalam skala besar, adanya kegiatan peremajaan kapal

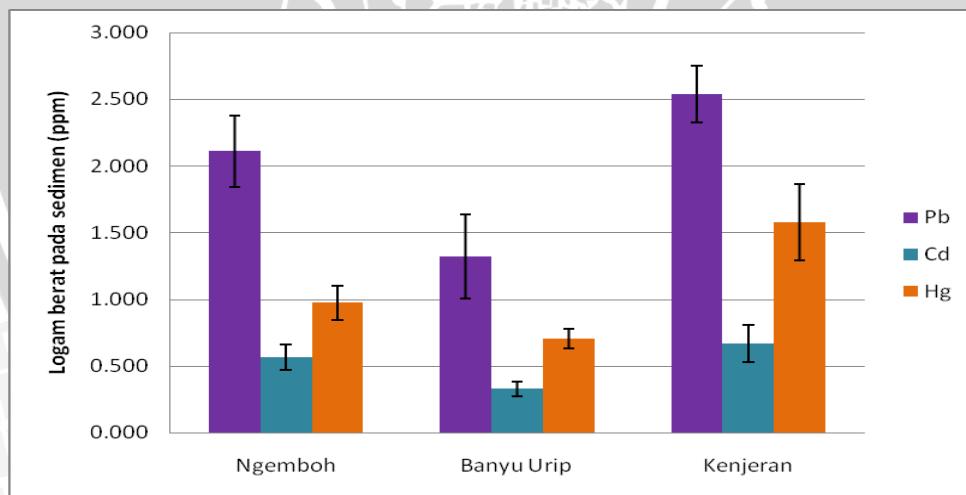
dengan dilakukan pengecatan tetapi tidak sebanyak di perairan Kenjeran. Menurut Rumhlatu *et al.* (2012), secara alami kadmium merupakan unsur utama fosfat bebatuan dan terdeposit dalam lapisan bumi. Selain merupakan komponen utama dari lapisan kulit bumi, sumber utama kadmium lainnya adalah industri panas bumi, industri bahan bangunan, areal pertambangan dan industri logam. Menurut Palar (2012), prinsip dasar atau prinsip utama dalam penggunaan cadmium adalah sebagai bahan “stabilisasi” sebagai bahan pewarna dalam industry plastic dan electroplating. Senada dengan pernyataan Hutagalung (1984), kadmium biasanya digunakan dalam elektroplating, pigment (bahan cat warna), penahan panas dalam alat-alat pabrik, baterai, campuran logam. Ditambahkan oleh Effendi (2003), bahwa cadmium digunakan dalam industri pelapisan logam, peralatan elektronik, pelumas, baterai, dan lain-lain.

Logam berat Hg pada ketiga perairan tertinggi di perairan Kenjeran, setelah itu Ngemboh dan Banyu Urip. Tingginya Hg di perairan Kenjeran diduga karena banyaknya aktivitas nelayan seperti kegiatan pengecatan kapal bermotor, bongkar muat ikan atau pergantian oli secara tidak langsung menyebabkan tingginya Hg di perairan. Selain itu, padatnya permukiman penduduk sehingga menyebabkan banyaknya buangan limbah ke perairan. Seperti pernyataan Widodo (2012), sumber polutan yang menyebabkan penimbunan merkuri di lingkungan laut, yang terpenting adalah industri penambangan logam, industri biji besi, termasuk metal plating, industri yang memproduksi bahan kimia, baik organik maupun anorganik, dan offshore dumping sampah domestik, lumpur dan lain-lain. Fardiaz (1992), menambahkan bahwa komponen merkuri sering ditambahkan ke dalam cat yang akan digunakan di daerah-daerah lembab sebagai pengawet lateks dan mencegah lapuk. Tingginya logam berat Hg terutama di perairan Ngemboh disebabkan pantai ini dekat dengan muara

sungai, sehingga banyak masukan limbah organik maupun anorganik dari aktivitas penduduk setempat. Menurut Eshmat *et al.* (2014), muara sungai merupakan salah satu yang rentan terkena dampak limbah rumah tangga di daerah pedesaan, khususnya kota Gresik.

4.2.2 Kandungan Logam Berat Pb, Cd dan Hg Pada Sedimen

Penelitian ini dilakukan pengukuran kadar logam berat Pb, Cd dan Hg pada sedimen dari masing-masing lokasi penelitian yakni perairan Ngemboh, Banyu Urip dan Kenjeran. Berdasarkan hasil yang didapatkan dari ketiga lokasi tersebut menunjukkan hasil yang berbeda, hal tersebut karena adanya perbedaan pemanfaatan perairan dan sumber bahan pencemar yang masuk. Hasil pengukuran menunjukkan bahwa rata-rata kadar logam berat dari ketiga lokasi dapat diketahui bahwa Pb memiliki kadar tertinggi kemudian Hg dan terendah yakni Cd. Hasil rata-rata kandungan logam berat Pb, Cd dan Hg pada sedimen dari ketiga lokasi dapat dilihat pada Gambar 10 dan Lampiran 4b.



Gambar 10. Rata-rata Kandungan Logam Berat Pada Sedimen
(Pb (Pratisto, 2016); Cd (Sholihah, 2016); Hg (Nuhriyana, 2016))

Berdasarkan Gambar 10 diketahui bahwa di perairan Ngemboh kandungan logam berat pada sedimen untuk Pb sebesar 2,109 ppm, Cd sebesar 0,566 ppm dan Hg sebesar 0,973 ppm. Perairan Banyu Urip diketahui kadar

logam Pb sebesar 1,322 ppm, Cd sebesar 0,327 ppm dan Hg sebesar 0,704 ppm. Perairan Kenjeran diketahui Pb sebesar 2,537 ppm, Cd sebesar 0,668 ppm dan Hg sebesar 1,579 ppm. Indonesia belum memiliki standar baku mutu yang resmi untuk kadar logam berat pada sedimen, sehingga sebagai acuan dapat menggunakan baku mutu yang dikeluarkan oleh ANZECC (Lampiran 10b) yakni untuk Lead 50-220 mg/kg, Kadmium 1,5-10 mg/kg dan Merkuri 0,15-1 mg/kg.

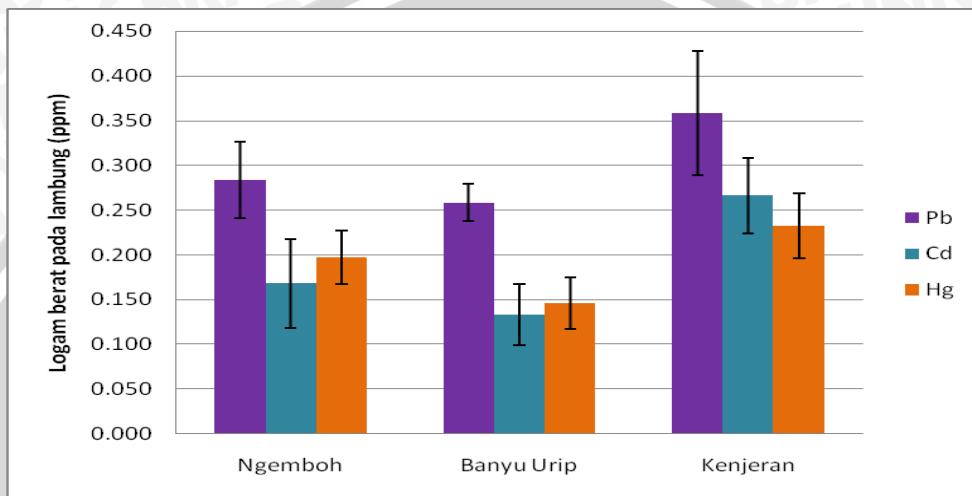
Logam berat masuk ke perairan dan selanjutnya akan mengendap di dasar perairan, oleh karena itu kandungan logam berat akan tinggi pada sedimen daripada di air karena sifatnya mengikat bahan organik. Senada dengan pernyataan Rumahlatu *et al.* (2012), bahwa 90 % logam berat yang mengontaminasi lingkungan perairan akan terendap di dalam sedimen. Logam berat juga memiliki sifat yang mudah mengikat bahan organik dan mengendap di dasar perairan, kemudian bersatu dengan sedimen sehingga kadar logam berat di sedimen lebih tinggi dibanding di air.

Hasil pengukuran logam berat pada sedimen dari ketiga perairan diketahui kandungannya lebih besar daripada air hal tersebut karena logam berat memiliki masa jenis yang lebih besar dari pada air sehingga logam cenderung turun ke dasar dan mengendap. Menurut Amriani *et al.* (2011), tingginya logam berat Pb, Cd dan Hg pada sedimen dibanding di air karena karena terjadinya akumulasi logam berat pada sedimen sehingga menumpuk di dasar perairan, sedangkan di air laut logam berat masih bisa bergerak bebas akibat pengaruh arus, pasang surut dan gelombang sehingga masih ada pengenceran.

4.2.3 Kandungan Logam Berat Pb, Cd dan Hg pada Lambung Kerang Hijau (*Perna viridis* L.)

Logam berat masuk ke perairan dan dapat terakumulasi pada tubuh kerang karena memiliki sifat *filter feeder* dan *sedentary*, sehingga organisme jenis kerang-kerangan dapat digunakan sebagai bioindikator pencemaran

perairan. Berdasarkan hasil penelitian pada lambung kerang hijau (*Perna viridis* L.) mengakumulasi logam berat Pb, Cd dan Hg dari masing-masing lokasi penelitian menunjukkan hasil yang berbeda. Adapun hasil rata-rata kandungan logam berat pada lambung kerang hijau (*Perna viridis* L.) dari ketiga lokasi dapat dilihat pada Gambar 11 dan Lampiran 4c.



Gambar 11. Rata-rata Kandungan Logam Berat Pada Lambung kerang hijau (*Perna viridis* L.).

Berdasarkan Gambar 11 diketahui bahwa di perairan Ngembob kandungan logam berat pada lambung kerang hijau (*Perna viridis* L.) untuk Pb sebesar 0,283 ppm, Cd sebesar 0,168 ppm dan Hg sebesar 0,197 ppm. Pada perairan Banyu Urip diketahui kadar logam Pb sebesar 0,259 ppm, Cd sebesar 0,133 ppm dan Hg sebesar 0,146 ppm. Perairan Kenjeran diketahui Pb sebesar 0,358 ppm, Cd sebesar 0,266 ppm dan Hg sebesar 0,233 ppm. Dari hasil tersebut diketahui bahwa kadar Pb pada lambung kerang hijau (*Perna viridis* L.) mendominasi pada seluruh perairan dibandingkan dengan Cd dan Hg. Secara keseluruhan kadar Hg lebih besar dari Cd. Menurut Murtini *et al.* (2008), kisaran nilai Pb, Cd dan Hg di tersebut masih berada di bawah ambang batas yang ditentukan oleh Kep. Ditjen POM No.03725/B/SK/VII/1989 dan FAO/WHO, yaitu sebesar 0,5 ppm untuk logam berat Hg, Pb 2 ppm dan Cd 1 ppm.

Logam berat masuk ke tubuh organisme kerang melalui insang dan saluran pencernaan, akan tetapi proses akumulasi pada setiap organisme berbeda-beda. Logam yang masuk ke dalam tubuh kerang akan diikat oleh protein yang dinamakan metallothionein. Seperti pernyataan Suaniti (2007), logam berat diserap oleh tubuh hewan perairan kebanyakan dalam bentuk ion. Penyerapan tersebut dalam bentuk ion, melalui insang dan saluran pencernaan. Ion logam yang masuk ke dalam jaringan makhluk hidup bersenyawa dengan bahan kimia jaringan makhluk hidup membentuk senyawa kompleks organik protein disebut metallothionein. Menurut Saeni (1989), bahwa kerang adalah salah satu biota laut yang paling efisien mengakumulasi logam berat. Hal ini disebabkan, kerang hidup di lapisan sedimen dasar perairan, bergerak sangat lambat, dan makanannya berupa detritus di dasar perairan, sehingga peluang masuk logam berat ke dalam tubuh sangat besar.

Logam berat yang masuk ke badan perairan berasal dari berbagai macam kegiatan, ada yang langsung menggunakan logam berat tersebut dalam kegiatannya maupun menggunakan hasil sampingan dari aktivitas tersebut. Bahan pencemar seperti logam berat masuk ke dalam tubuh organisme air melalui insang, mulut dan kulit kemudian diserap melalui saluran pencernaan seperti lambung. Logam yang ada dalam tubuh biota akan tertimbun di dalam jaringannya terutama hati dan ginjal. Peningkatan kadar logam berat dalam air laut yang akan diikuti peningkatan logam berat dalam biota laut melalui rantai makanan akan menimbulkan keracunan akut dan kronik, bahkan bersifat karsiogenik terhadap manusia yang mengkonsumsinya (Eshmat *et al.*, 2014). Hutagalung dan Razak (1981) juga menginformasikan bahwa semakin tinggi konsentrasi logam berat maka semakin tinggi pula penyerapan dan peningkatan

logam berat tersebut oleh kerang dalam jaringan tubuh seperti insang, mantel, gonad, usus dan lambung.

Akumulasi logam berat Pb pada lambung kerang hijau (*Perna viridis* L.) dari ketiga perairan lebih tinggi daripada Cd dan Hg hal tersebut karena Pb termasuk logam non esensial yang mudah membentuk ikatan kompleks dalam tubuh serta absorpsi Pb dalam tubuh tergolong lambat sehingga menyebabkan Pb terus menumpuk di dalam tubuh. Selain itu, pada lambung terdapat asam lambung yang dapat menyerap logam Pb. Untuk lebih lanjutnya dijelaskan oleh Suaniti (2007), bahwa Pb merupakan salah satu logam beracun terhadap organisme. Hal ini disebabkan oleh sifat akumulatif logam non esensial seperti Pb dalam jaringan tubuh kerang karena sifat logam tersebut yang cenderung membentuk ikatan kompleks dengan bahan organik. Menurut Palar (2012), Pb masuk ke dalam tubuh melalui makanan atau minuman mungkin ditolerir oleh lambung karena adanya asam lambung (HCl) yang dapat menyerap logam Pb.

Kandungan logam berat di air dan sedimen secara berurutan tertinggi untuk perairan kenjeran yakni Pb, Hg dan Cd. Pada organ lambung tertinggi Pb, Cd dan Hg, hal tersebut diduga karena akumulasi logam yang berbeda yang disebabkan oleh faktor fisiologi kerang, ukuran, umur, dan kualitas perairan. Adapun menurut Hal tersebut dijelaskan oleh Wulandari *et al.* (2012), yaitu faktor akumulasi pada setiap jenis biota laut relatif berbeda, hal ini disebabkan oleh perbedaan sifat-sifat biologis (jenis, umur dan fisiologis) masing-masing jenis biota, juga disebabkan oleh perbedaan sifat fisik dan kimia serta aktivitas masing-masing lokasi. Eisler (1971) dalam Hutagalung (1984), juga menjelaskan faktor konsentrasi logam berat dalam organisme tergantung pada jenis logam berat, jenis organisme, lama pemaparan, serta kondisi lingkungan perairan seperti pH, temperatur dan salinitas. Moluska dapat mengakumulasi Cd²⁺ sampai

352 kali lebih tinggi dari kadar Cd²⁺ yang terdapat dalam airnya. Ditambahkan oleh Murtini *et al.* (2008), penurunan kandungan Hg diduga merupakan akibat terlepasnya ion logam dari struktur protein kerang hijau yang kemudian terlarut keluar (*leaching*) dari daging kerang hijau sebagai upaya penyeimbang konsentrasi dalam daging kerang. Menurut Suryono (2006), bivalvia mempunyai kemampuan untuk mendetoksifikasi logam berat dengan mensintesis metallothionein. Selama terjadi akumulasi logam berat tersebut bersesuaian dengan sintesis metallothionein maka kerang dapat terus bertahan hidup.

4.3 Pengamatan Kandungan Metallothionein Pada Lambung Kerang Hijau (*Perna viridis L.*) dengan menggunakan Confocal Laser Scanning Microscopy (CLSM)

Berdasarkan pengamatan kandungan metallothionein pada lambung kerang hijau (*Perna viridis L.*) dengan menggunakan *Confocal Laser Scanning Microscopy* didapatkan ekspresi yang berbeda-beda pada setiap lokasi penelitian. Adapun ekspresi metallothionein dengan menggunakan *Confocal Laser Scanning Microscopy* pada lambung kerang hijau (*Perna viridis L.*) dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Ekspresi Metallothionein pada Skala 50μm dengan *Confocal Laser Scanning Microscopy*

Pengamatan dengan menggunakan *Confocal Laser Scanning Microscopy* akan didapatkan tiga gambar seperti pada Gambar 12. Rhodamine merupakan pewarnaan flouresen yang dimunculkan dengan adanya antibodi primer yakni

Mouse Monoclonal dan antibodi sekunder yakni Anti Mouse IgG-Rhodamine red X. Pendaran warna merah tersebut menunjukkan ekspresi dari metallothionein, sedangkan bagian yang gelap atau tidak menunjukkan pendaran merah berarti tidak ada metallothionein yang terekspresi. Setelah itu dimunculkan gambar 3 dimensi hitam putih DIC untuk mempermudah dalam pengamatan organ, akan tetapi untuk lebih mudah dalam pengamatan penyebaran metallothionein dimunculkan *Super Impose* (SI) yakni gabungan dari *Fluoresensi Rhodamine* dan 3 dimensi dari DIC sehingga tampak lokalisasi metallothionein yang tersebar pada specimen lambung kerang hijau (*Perna viridis* L.). Untuk mengetahui intensitas metallothionein dengan menggunakan Software *Olympus Fluoview* versi 1.7 A dimunculkan gambar grafik 3 dimensi intensitas dengan panjang gelombang tertentu.

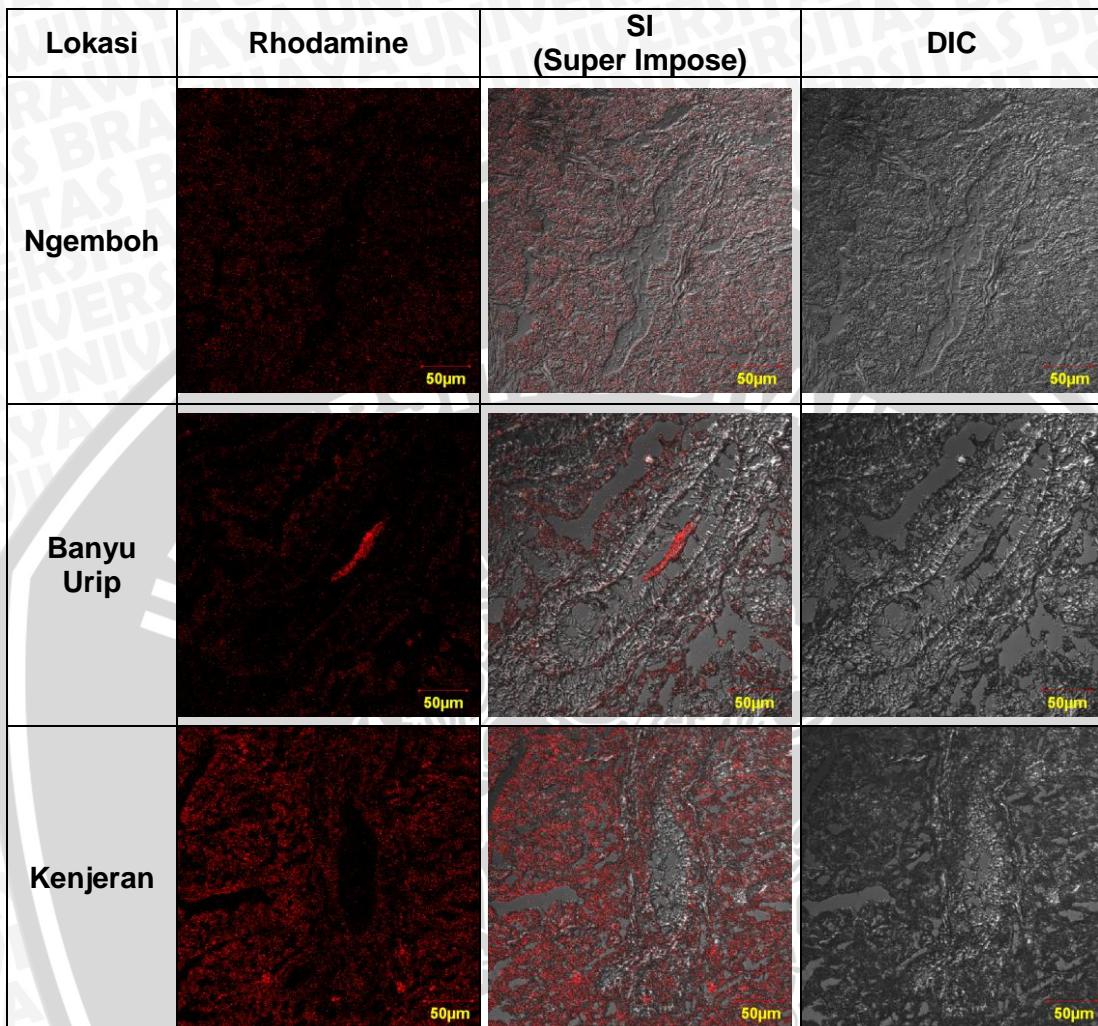
4.4 Hasil Analisis Intensitas Metallothionein pada Lambung Kerang Hijau (*Perna viridis* L.)

Pengamatan dilakukan dengan mengambil tiga gambar yaitu berupa gambar Fluorosensi dari pewarna rhodamine, DIC yang menampilkan gambar lebih detail berupa 3 dimensi hitam putih dan *Super Impose* (SI) yang menampilkan bentuk gabungan dari Fluorosensi Rhodamine dan 3 dimensi dari *Differential Interference Contras* (DIC) sehingga tampak lokalisasi metallothionein yang tersebar pada specimen lambung kerang hijau (*Perna viridis* L.). Hasil pengamatan ekspresi metallothionein pada lambung kerang hijau (*Perna viridis* L.) pada ketiga perairan lebih jelasnya dapat dilihat pada Lampiran 5.



Hasil pengamatan ekspresi metallothionein tertinggi dari ketiga perairan

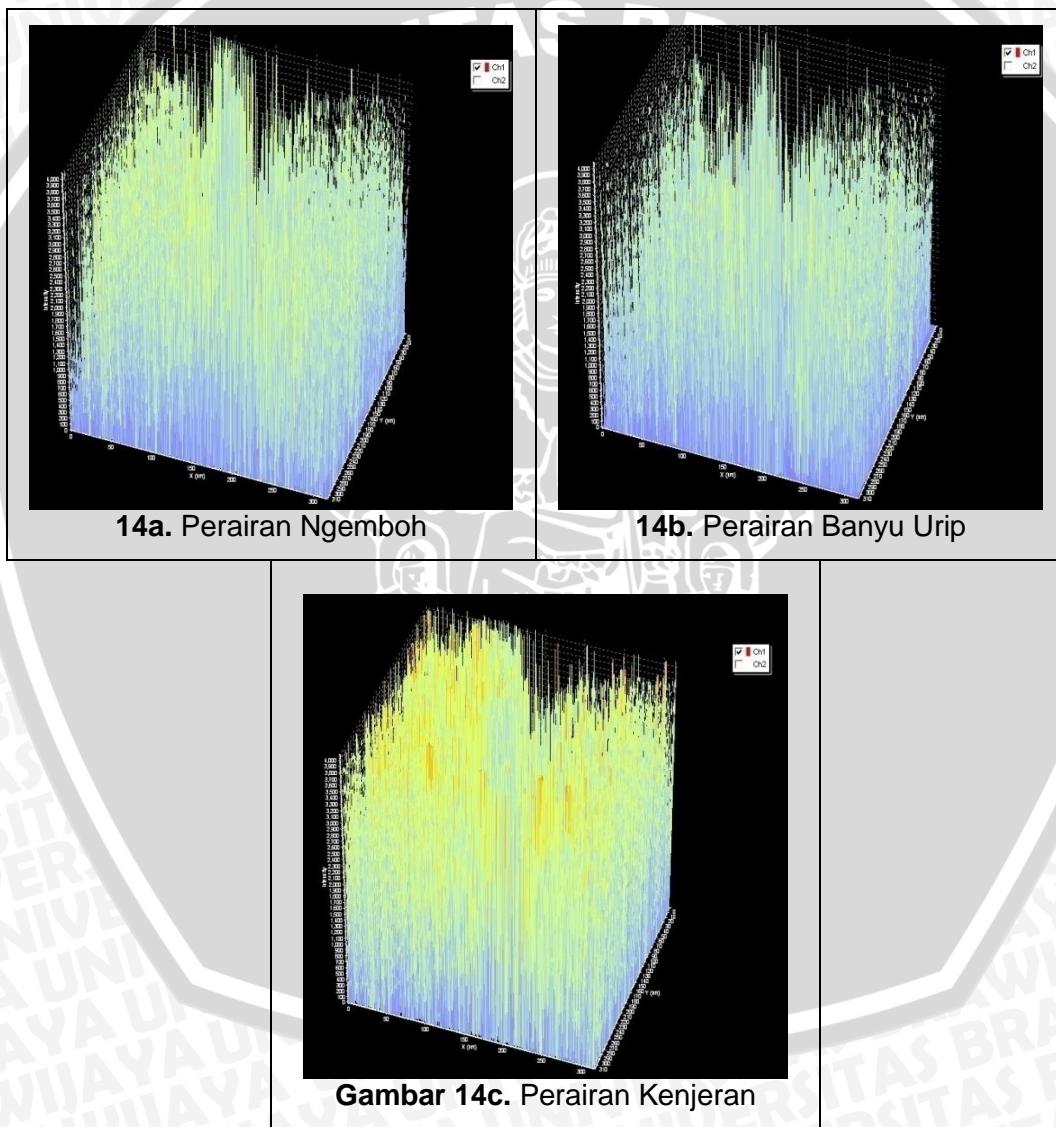
dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 13. Hasil Pengamatan Ekspresi Metallothionein pada Lambung Kerang Hijau (*Perna viridis* L.) dengan Confocal Laser Scanning Microscopy pada Perbesaran 400x dengan Skala 50 µm

Berdasarkan Gambar 13 tampak adanya pendaran warna merah pada specimen lambung kerang hijau (*Perna viridis* L.) yang didapatkan dari perairan Ngemboh (lokasi 1), perairan Banyu Urip (lokasi 2) dan perairan Kenjeran (lokasi 3) dengan sebelumnya diberi antibodi primer dan antibodi sekunder (berlabel). Antibodi primer yang digunakan adalah Mouse Monoclonal, sedangkan antibodi sekunder yang digunakan adalah Anti Mouse IgG-Rhodamine red X. Pendaran warna merah menunjukkan bahwa protein metallothionein terekspresi. Bagian

yang gelap atau tidak menunjukkan pendaran warna berarti pada bagian tersebut tidak ada metallothionein yang terekspresi. Apabila diperhatikan pendaran merah lebih banyak pada perairan Kenjeran daripada perairan Ngemboh dan perairan Banyu Urip hal tersebut menandakan intensitas metallothionein pada perairan tersebut tinggi. Untuk mengetahui intensitas dari metallothionein pada setiap perairan dimunculkan gambar berupa grafik 3 dimensi dengan menggunakan panjang gelombang tertentu dan lebih jelas dapat dilihat pada Gambar 14.



Gambar 14. Ekspresi Intensitas Metallothionein grafik 3 dimensi dengan *Confocal Laser Scanning Microscopy*; **a.** Perairan Ngemboh; **b.** Perairan Banyu Urip; **c.** Perairan Kenjeran

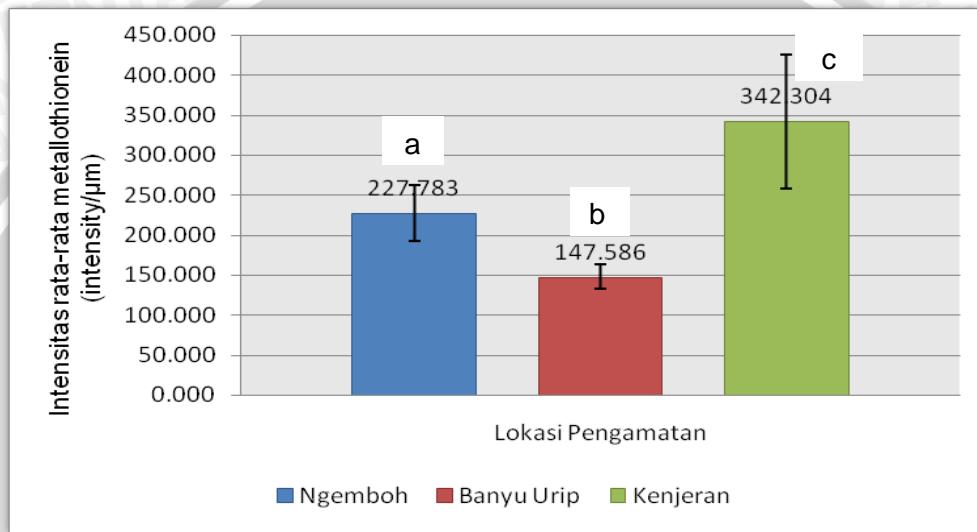
Berdasarkan Gambar 14 menunjukkan intensitas metallothionein pada setiap perairan dalam bentuk grafik 3 dimensi. Adapun dalam grafik tersebut warna biru menunjukkan intensitas yang rendah, warna hijau menunjukkan intensitas sedang dan warna kuning menunjukkan intensitas yang tinggi. Terlihat pada ketiga perairan bahwa perairan Banyu Urip yang memiliki intensitas rendah karena masih didominasi warna biru. Perairan Ngemboh sudah menunjukkan adanya warna hijau, sehingga intensitas metallothionein dapat dikatakan lebih tinggi daripada perairan Banyu Urip. Perairan Kenjeran sudah menunjukkan warna kuning yang banyak dan menyebar sehingga menunjukkan intensitas metallothionein yang tinggi. Lebih jelasnya mengenai intensitas metallothionein pada lambung kerang hijau (*Perna viridis* L.) dari ketiga lokasi tersebut didapatkan hasil pengukuran berupa data kuantitatif yang dapat dilihat pada Lampiran 11. Berdasarkan data yang telah didapatkan kemudian dirata-rata untuk mendapatkan nilai intensitas dari setiap perairan dan dapat dilihat pada Tabel 1 dan Lampiran 6.

Tabel 1. Data Kuantitatif Rata-rata Intensitas Metallothionein

Lokasi	Rata-rata Ulangan	Intensitas (μm)	Standart Deviasi
Ngemboh	238.084	227.783	34.668
	256.132		
	189.132		
Banyu Urip	151.035	147.586	15.183
	160.748		
	130.975		
Kenjeran	311.815	342.304	83.783
	437.062		
	278.035		

Berdasarkan Tabel 1 terlihat jelas intensitas metallothionein tertinggi pada perairan Kenjeran sedangkan terendah perairan Banyu Urip. Perairan Kenjeran sendiri seperti yang telah diketahui merupakan perairan yang berada di kota besar dengan banyaknya aktivitas masyarakat serta kegiatan industri yang

tumbuh pesat sehingga menyebabkan kondisi perairan mengalami perubahan fungsi. Pada perairan Banyu Urip intensitas rata-rata terendah karena perairan tersebut tidak terletak di kota besar dan aktivitas masyarakat sebagai nelayan untuk memenuhi kebutuhan sehari-hari dan budidaya udang vanamei. Hasil rata-rata intensitas metallothionein pada tiga perairan kemudian dibuat grafik dan lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 15.



Gambar 15. Intensitas Rata-rata Ekspresi Metallothionein dari lambung tiga individu kerang hijau (*Perna viridis* L.) dari tiap lokasi dan Standart Deviasi. Notasi didapatkan dari Analisis Statistik Kruskal-Wallis.

Berdasarkan Gambar 15 data tersebut diambil dari nilai rata-rata grafik yang telah dirubah menjadi data excel. Analisis intensitas rata-rata yang diambil adalah data pada chanel rhodamin, masing-masing preparat sampel lambung diambil 2 titik yang dapat mewakili pendaran warna fluoresensi (pendaran yang paling terang). Data yang didapatkan pada intensitas ekspresi metallothionein rata-rata di perairan Ngemboh sebesar 227.783 ± 34.668 intensity/µm. Intensitas rata-rata di perairan Banyu Urip sebesar 147.586 ± 15.183 intensity/µm, sedangkan pada perairan Kenjeran sebesar 342.304 ± 83.783 intensity/µm. Adapun selanjutnya dilakukan analisis statistik dengan menggunakan Uji

Kruskal-Wallis (Lampiran 7) dan didapatkan kesimpulan bahwa intensitas rata-rata metallothionein di perairan Ngemboh, Banyu Urip dan Kenjeran mengalami perbedaan karena nilai Chi-Square sebesar 7,200 dengan Asymp Sig. sebesar 0,027 atau lebih kecil dari 0,05.

Metallothionein merupakan protein yang dapat mendeteksi adanya logam berat didalam tubuh organisme. Menurut Santosa (2003), metallothionein merupakan sistem utama yang dimiliki oleh tubuh organisme dalam mendetoksifikasi logam berat seperti Hg, Pb dan logam berat lainnya. Ditambahkan oleh Suaniti (2007), sedikit banyaknya ion logam yang masuk ke dalam jaringan tubuh akan bersenjawa dengan bahan kimia di dalam jaringan makhluk hidup yang membentuk senyawa kompleks organik protein yang disebut metallothionein. Seperti yang telah diketahui bahwa kehadiran metallothionein dipengaruhi oleh keberadaan logam berat baik yang berasal dari alam maupun dari limbah hasil aktivitas manusia yang masuk kedalam perairan dan selanjutnya kedalam tubuh biota perairan. Selain itu, kondisi biologis dari kerang juga mempengaruhi kandungan metallothionein tersebut.

Kerang hijau (*Perna viridis* L.) merupakan organisme yang dapat hidup pada kondisi lingkungan yang kurang baik karena adanya respon protein dari dalam tubuhnya untuk mengikat logam berat yang masuk. Menurut Hutagalung dan Razak (1981), bahwa penyebab tetap bertahan hidupnya kerang pada media yang tercemar logam berat adalah karena adanya pengikatan logam berat oleh metallothionein. Bahkan kandungan logam berat dalam tubuh kerang dapat lebih tinggi dibandingkan dengan kandungan di lingkungannya. Ditambahkan oleh Ringwood *et al.* (2004), bahwa ada hubungan positif antara metallothionein dan polutan logam berat. Kontaminan logam berat dapat mengakibatkan kerusakan sistem suatu organisme dan mengakibatkan kelebihan produksi metallothionein.

4.5 Hubungan Logam Berat pada Lambung Kerang Hijau (*Perna viridis L.*) dengan Rata-rata Intensitas Metallothionein

Berdasarkan hasil analisis regresi linear berganda yang digunakan dalam penelitian ini diketahui bahwa keberadaan logam berat (Pb,Cd dan Hg) mempengaruhi rata-rata intensitas metallothionein dalam lambung kerang hijau (*Perna viridis L.*). Hal tersebut diketahui dari persamaan Y mengartikan bahwa Y fungsi X yang berarti bahwa apabila Y adalah intensitas metallothionein dan X_1 adalah kadar logam berat Pb, X_2 adalah kandungan logam berat Cd dan X_3 adalah kadar logam berat Hg, maka nilai intensitas metallothionein akan bergantung pada nilai logam berat. Persamaan regresi yang didapat yaitu $Y = 163,873 + 927,248X_1 + 282,672X_2 + 370,714X_3$. Nilai $927,248X_1$, $282,672X_2$ dan $370,714X_3$ disebut juga *slope* yang menentukan arah regresi linear. Nilai *slope* pada persamaan tersebut menunjukkan nilai positif, maka menunjukkan hubungan yang positif, artinya semakin tinggi nilai X maka semakin besar pula nilai Y atau semakin tinggi kandungan logam berat Pb, Cd dan Hg, maka intensitas metallothionein juga akan semakin meningkat. Nilai 163,873 disebut *intercept*. *Intercept* mengartikan bahwa pada nilai X_1 , X_2 dan $X_3 = 0$, maka intensitas metallothionein tersebut sebesar 163,873 intensity/ μm . Nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,859 dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,912 artinya keeratan korelasi antara intensitas metallothionein dengan kandungan logam berat Pb, Cd dan Hg sebesar 0,912 dan untuk lebih jelas dapat dilihat pada Lampiran 8. Arti nilai korelasi tersebut dapat dilihat pada Gambar 16.

Nilai Koefisien Korelasi	Keterangan
0,00-0,199	Sangat rendah
0,20-0,399	Rendah
0,40-0,599	Cukup
0,60-0,799	Kuat
0,80-1,000	Sangat Kuat

Gambar 16. Nilai Korelasi (Sudjana, 1982 dalam Anggraeni, 2008)



Berdasarkan Gambar 16, nilai koefisien korelasi yang didapatkan sebesar 0,912 maka termasuk dalam kategori sangat kuat. Nilai koefisien korelasi antara intensitas metallothionein dengan kandungan logam berat Pb, Cd dan Hg tersebut dapat dikatakan bahwa peningkatan intensitas metallothionein yang dipengaruhi oleh kandungan logam berat Pb, Cd dan Hg sangat kuat. Nilai koefisien determinasi sebesar 0,859 berarti sebanyak 85,9% perubahan intensitas metallothionein dipengaruhi oleh kandungan logam berat Pb, Cd dan Hg.

Hasil analisis hubungan tersebut diketahui bahwa kandungan logam berat Pb, Cd dan Hg pada lambung kerang hijau (*Perna viridis* L.) mempengaruhi intensitas metallothionein pada lambung kerang hijau (*Perna viridis* L.) yang ditunjukkan dengan hasil korelasi sangat kuat. Selain itu, antara logam berat Pb, Cd dan Hg terhadap intensitas metallothionein memiliki hubungan yang positif yaitu semakin tinggi kandungan logam berat, maka intensitas metallothionein juga semakin tinggi.

4.6 Hasil Pengukuran Kualitas Air

Pengukuran parameter kualitas air pada penelitian ini dianggap sebagai faktor pendukung kehidupan kerang hijau (*Perna viridis* L.) pada lingkungan hidupnya yang meliputi suhu, salinitas, pH, dan DO/*Dissolved Oxygen* (Oksigen terlarut). Hasil pengukuran kualitas air setiap lokasi dapat dilihat pada Tabel 2 dan Lampiran 9.

Tabel 2. Hasil Pengukuran Kualitas Air

Lokasi	Suhu (°C)	Salinitas (ppt)	pH	DO (mg/l)
Ngemboh	31	26	8,1	7,2
Banyu Urip	31,7	26,7	8,5	5,1
Kenjeran	32	25	8,0	5,9
Baku Mutu	28-32	33-34	7-8,5	≥5

*Keterangan: Baku mutu menurut Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup No. 51 Tahun 2004

4.6.1 Suhu

Berdasarkan hasil pengukuran suhu pada 3 lokasi (Tabel 2) diperoleh hasil rata-rata di perairan Ngemboh yakni 31°C , perairan Banyu Urip yakni $31,7^{\circ}\text{C}$ dan perairan Kenjeran yakni 32°C . Nilai suhu pada tiap lokasi tidak jauh berbeda, hal tersebut karena perairan terkena sinar matahari secara langsung. Suhu air laut akan seirama dengan perubahan intensitas penyinaran matahari (Makmur *et al.*, 2013). Menurut Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup No 51 Tahun 2004 (Lampiran 10a), baku mutu suhu air laut untuk biota laut yaitu $28\text{--}32^{\circ}\text{C}$, sehingga nilai suhu ketiga wilayah masih bisa dikategorikan layak bagi kehidupan kerang hijau (*Perna viridis L.*).

Peningkatan suhu pada perairan mempengaruhi tingkat akumulasi logam berat pada organisme perairan utamanya pada kerang hijau (*Perna viridis L.*) karena dapat meningkatkan laju metabolisme didalam tubuh. Hal tersebut sesuai pernyataan Amriani *et al.* (2011), bahwa peningkatan suhu perairan dapat meningkatkan akumulasi dan toksitas logam berat. Hal tersebut terjadi karena meningkatnya metabolisme dari organisme air. Spesies yang bersifat *filter feeder* akan lebih mudah mengakumulasi logam berat. Hal tersebut dikarenakan organisme yang bersifat *filter feeder* memiliki mobilitas rendah sehingga dengan mudah mengakumulasi logam berat di dalam tubuhnya (Eshmat *et al.*, 2014).

4.6.2 Salinitas

Berdasarkan hasil pengukuran salinitas pada 3 lokasi (Tabel 2) diperoleh hasil rata-rata di perairan Ngemboh yakni 26 ppt, perairan Banyu Urip yakni 26,7 ppt dan perairan Kenjeran yakni 25 ppt. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa dari ketiga lokasi penelitian, salinitas di perairan Ngemboh dan Banyu Urip tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Hal tersebut karena perairan Ngemboh dan Banyu Urip berada pada satu garis pantai dan masih dipengaruhi oleh

pasokan air tawar dari sungai Bengawan Solo. Menurut Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup No 51 Tahun 2004 (Lampiran 10a), baku mutu salinitas air laut untuk biota laut yaitu 33-34 ‰, sedangkan Cappenberg (2008), menjelaskan salinitas paling optimal untuk pertumbuhan kerang yaitu 21,00% - 33,00‰, sehingga dengan demikian salinitas di lokasi pengamatan tergolong baik untuk kehidupan kerang.

Salinitas berpengaruh terhadap konsentrasi logam berat disuatu perairan. Semakin tinggi salinitas kelarutan logam berat akan turun dan begitu pula sebaliknya. Lebih lanjut Wardani *et al.* (2014), salinitas di perairan dapat mempengaruhi kelarutan logam berat dalam perairan. Besar kecilnya nilai kelarutan disebabkan oleh salinitas, semakin besar salinitas di perairan kelarutan logam berat di perairan akan semakin kecil. Bila terjadi penurunan salinitas maka akan menyebabkan peningkatan daya toksik logam berat dan tingkat bioakumulasi logam berat semakin besar. Yudiaty *et al.* (2009), menambahkan bahwa pada salinitas yang rendah akan terjadi peningkatan konsentrasi kation bebas logam berat, karena yang membentuk molekul/ion kompleks relatif kecil, sehingga menyebabkan kenaikan toksitas akut logam berat Pb pada kondisi salinitas rendah.

4.6.3 pH

Berdasarkan hasil pengukuran pH pada 3 lokasi (Tabel 2) diperoleh hasil di perairan Ngemboh yakni berkisar 8,1, perairan Banyu Urip yakni berkisar 8,5 dan perairan Kenjeran yakni berkisar 8,0. Nilai pH tersebut masih bisa dikatakan normal. Hal tersebut menurut Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup No 51 Tahun 2004 (Lampiran 10a), baku mutu pH air laut untuk biota laut yaitu 7-8,5. Senada dengan pernyataan Palar (2012), bahwa kondisi perairan relatif normal ditinjau dari pH yang berkisar antara 6-9. Nilai pH yang rendah akan

menyebabkan logam lebih mudah terlarut. Menurut Eshmat *et al.* (2014), pH diperairan mempengaruhi konsentrasi logam berat. Kelarutan logam berat akan lebih tinggi terjadi pada kondisi pH rendah. Ginting *et al.* (2014), juga menyatakan peningkatan logam berat dalam air laut, selain disebabkan oleh peningkatan aktivitas di sekitar perairan, dapat pula disebabkan oleh rendahnya pH dan salinitas, tingginya suhu dan masuknya nutrien dari muara ke dalam laut.

4.6.4 DO/Dissolved Oxygen (Oksigen terlarut)

Berdasarkan hasil pengukuran oksigen terlarut pada 3 lokasi (Tabel 2) diperoleh hasil rata-rata di perairan Ngemboh yakni 7,2 mg/l, perairan Banyu Urip yakni 5,1 mg/l dan perairan Kenjeran yakni 5,9 mg/l. Menurut Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup No 51 Tahun 2004 (Lampiran 10a) baku mutu DO di perairan yaitu >5 . Nilai oksigen terlarut tertinggi terdapat pada perairan Ngemboh, sedangkan nilai oksigen terlarut terendah pada perairan Banyu Urip hal tersebut dipengaruhi oleh kondisi perairan pada saat pengukuran. Menurut Effendi (2003), faktor lain yang mempengaruhi konsentrasi oksigen di perairan adalah suhu, salinitas, arus, fotosintesis, dan limbah yang masuk ke perairan.

Berdasarkan data diketahui oksigen terlarut terendah yakni pada perairan Banyu Urip hal tersebut diduga karena kondisi perairan yang belum tercemar parah sehingga jumlah organisme yang mendiami perairan tersebut banyak dan jumlah oksigen terlarutnya menurun. Menurut Salmin (2005), oksigen terlarut berperan dalam proses pernapasan, proses metabolisme atau pertukaran zat yang kemudian menghasilkan energi untuk pertumbuhan dan pembelahan, serta proses oksidasi dan reduksi bahan organik dan anorganik. Menurut Wahyuni *et al.* (2013), menambahkan bahwa pengaruh oksigen terlarut terhadap logam berat yaitu berbanding terbalik dimana semakin rendah kadar oksigen terlarut, semakin tinggi toksitas logam berat, begitu juga sebaliknya.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

- Kandungan logam berat di air dan sedimen dari ketiga perairan menunjukkan kandungan logam berat Pb yang tertinggi dibandingkan dengan Hg dan Cd. Pada lokasi pengamatan perairan Kenjeran merupakan perairan yang yang paling tinggi kandungan logam berat dibandingkan perairan Ngemboh dan Banyu Urip. Akumulasi logam berat Pb, Cd dan Hg pada lambung kerang hijau (*Perna viridis* L.) tertinggi yakni Pb. Tingkat akumulasi logam berat pada lambung tertinggi pada perairan Kenjeran dibandingkan perairan Ngemboh dan Banyu Urip.
- Hasil analisis rata-rata intensitas metallothionein pada ketiga perairan yang tertinggi yakni perairan Kenjeran sebesar 342.304 intensity/ μ m, Ngemboh sebesar 227.783 intensity/ μ m, perairan Banyu Urip sebesar 147.586 intensity/ μ m. Adapun setelah dilakukan uji statistik Kruskal-Wallis bahwa intensitas rata-rata metallothionein di perairan Ngemboh, Banyu Urip dan Kenjeran mengalami perbedaan.
- Hasil analisis regresi linier berganda hubungan logam berat dengan rata-rata intensitas metallothionein menunjukkan bahwa semakin tinggi kandungan logam berat maka semakin tinggi pula intensitas kandungan metallothionein pada lambung kerang hijau (*Perna viridis* L.).

5.2 Saran

Adanya penelitian *Bio Image* ini dapat dijadikan sebagai monitoring dan alat deteksi dini terhadap pencemaran lingkungan perairan terutama disepanjang perairan Utara dan Timur Jawa, agar kerusakan lingkungan perairan dapat

diantisipasi tentunya disertai dengan adanya pengawasan dan kesadaran dari masyarakat. Selain itu untuk penelitian lebih lanjut dengan teknik *Bio Image* ini lebih dikembangkan lagi misalnya dengan menggunakan organisme lain atau pada organ lain misalnya otot, hati, ginjal agar dapat menjadi terobosan baru dalam dunia perikanan.



DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, T. 2010. Kontaminasi Logam Berat pada Makanan dan Dampaknya pada Kesehatan. *Teknubuga*. 2(2) : 53-65.
- Amiard, C.J., C. Amiard-Triquet, S. Barka, J. Pellerin and P.S. Rainbow. 2006. Metallothioneins in aquatic invertebrates: Their role in metal detoxificationand their use as biomarkers. *Journal Aquatic Toxicology*. 76: 160–202.
- Amriani. 2011. Bioakumulasi Logam Berat Timbal (Pb) dan Seng (Zn) Dada Kerang Darah (*Anadara granosa* L.) di Perairan Teluk Kendari. *Tesis*. Universitas Diponegoro: Semarang.
- Analis Kesehatan Kendari. 2010. Imunologi FAT (IFA). Kendari.
- Anggraeni, M. 2008. Kajian Penggunaan Poly Alumunium Chride (PAC) Dalam Proses Pemurnian Nira Aren Dan Lama Pemurnian Terhadap Karakteristik Nila Aren (*Arenga pinnata Merr*). *Skripsi*. Fakultas Teknologi Industri Pertanian UNPAD:Bandung.
- Aslam, M. 2012. Produksi Bisus Kerang Hijau *Perna viridis* sebagai Biomarker untuk Mendeteksi pencemaran Logam Berat Pb dan Cd. *Skripsi*. Universitas Hasanuddin: Makassar.
- Augustine, D. 2008. Akumulasi Hidrokarbon Aromatik Polisiklik (PAH) Dalam kerang Hijau (*Perna Viridis* L.) Di Perairan Kamal Muara, Teluk Jakarta. *Skripsi*. Program Studi Ilmu Dan Teknologi Kelautan FPIK ITB:Bogor.
- Barnes, R. 1968. *Invertebrate Zoology*. W.B Saunders Company. London.
- Barouk, S., T. Hintz, P. Li, A.M Duffy, N.J Maclusky dan H.E. Scharfman. 2011. 17 β -Estradiol Increases Astrocytic Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) in Adult Female Rat Hippocampus. *Endocrinology*.
- Barus, T. A. 2004. Pengantar Limnologi, Studi tentang Ekosistem Danau dan Sungai. Jurusan Biologi FMIPA. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Calaf, G.M dan D. Roy. 2010. Gene and Protein Expressions Induced by 17 β -estradiol and Parathion in Cultured Breast Epithelial Cells. *Mol Med*, 13(5-6): 0378-4738.
- Cappenberg, H.A.W. 2008. Beberapa Aspek Biologi Kerang Hijau *Perna viridis* L Linnaeus 1758. *Oseana*, Volume XXXIII, Nomor I.
- Carpene E., G. Andreani and G. Isani. 2007. Metallothionein function and structural characteristics. *Jurnal of trace elements in medicine and biology* 21 S1: 35-39.



- Cheng-Kui Q., Bao-Ya Z., Xiao-Zheng Y., Feng W., Zheng-Li Lu., Song-song W., Yue-Hua Q. dan Sheng-Yong W. 2012. Bioinformatics analysis of metallothionein gene from *Agaricus bisporus*, *Ganoderma lucidum*, *Taiwanofungus camphoratus* and *Paxillus involutus*. *Agricultural Sciences*. 3(7):900-904.
- Cheong, L dan F. Y. Chein. 1980. Preliminary studies on raft method of green mussels *Perna viridis* (L) in Singapore. *S.J.Pr.Ind.* 8(2):119-133.
- Clark, R.B. 1986. *Marine Pollution*. Claredon Press. Oxford.
- Couillard, Y., P. G. C. Campbell dan A. Tessier. 1993. Response of metallothionein concentrations in a freshwater bivalve (*Anodonta grandis*) along an environmental cadmium gradient. *Limnol, Oceanogr.* 38 (2): 299–313.
- Connel, D.W. dan Miller. 2006. *Kimia dan Ekotoksikologi Pencemaran*. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Damaianto, B. dan A. Masduqi. 2014. Indeks Pencemaran Air Laut Pantai Utara Kabupaten Tuban dengan Parameter Logam. *JURNAL TEKNIK POMITS*. 3(1):1-4. ISSN: 2337-3539
- Darmono. 2001. *Lingkungan Hidup dan Pencemaran*. Jakarta : UI Press.
- Desouky, M.M.A. 2012. Metallothionein is Up-Regulated in Molluscan Responses to Cadmium, but not Aluminum, Exposure. *The Journal of Basic & Applied Zoology*. 65: 139-143.
- Dillion, R. T. JR. 2004. *The Ecology of Freshwater Molluscs*. Department of Biology, College of Charleston. United Kingdom.
- Diningrum, D.R. 2011. Ekspresi Gen Gre3n Fluorescent Protein (GFP) Pada Sperma Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) dengan Metode Elektroporasi dan Menggunakan Confocal Laser Scanning Microscopy (CLSM). *Skripsi*. Universitas Brawijaya. Malang.
- Effendi, H. 2003. *Telaah Kualitas Air*. Kanisius:Yogyakarta.
- Ernawati. 2001. Kebiasaan Makanan Kerang Hijau (*Perna viridis* L.) Di Perairan Bojonegara, Teluk Banten. *Skripsi*. IPB. Bogor.
- Eshmat, M. E., G. Mahasri dan B. S. Rahardja. 2014. Analisis Kandungan Logam Berat Timbal (Pb) Dan Cadmium (Cd) Pada Kerang Hijau (*Perna Viridis* L.) Di Perairan Ngemboh Kabupaten Gresik Jawa Timur. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 6(1):101-108.
- Fardiaz, S. 1992. Polusi Air dan Udara. Kanisius:Yogyakarta.
- Fernanda, L. 2012. Studi Kandungan Logam Berat Timbal (Pb), Nikel (Ni), Kromium (Cr) dan Kadmium (Cd) Pada Kerang Hijau (*Perna viridis*) dan

Sifat Fraksionasinya Pada Sedimen Laut. *Skripsi*. Universitas Indonesia. Depok.

Galtsoff, P. S. 1964. The American Oyster. *Casostrea virginica* Gmelin. *Fishery Bulletin*. United States Departement of Interior. Fish and Wildlife Service. Vol. 64.

Giddabasappa, A., M. Bauler, M. Yepuru, E. Chaum, J.T. Daalton dan J. Eswaraka. 2010. 17 β -Estradiol Protects ARPE-19 Cells from Oxidative Stress through Estrogen Receptor- β . *Inverst. Ophthalmol. Vis. Sci.* 51 (10): 5278-5287.

Ginting, A., P. Patana dan Nurmatias. 2014. Kandungan Logam Berat Timbal (Pb) pada Air, Sedimen, dan Kerang Darah (*Anadara granosa*) di Pantai Belawan, Provinsi Sumatera Utara. Universitas Sumatera Utara.

Gosling, E. 2003. *Bivalve Molluscs - Biology, Ecology and Culture*. Blackwell, United Kingdom. MPG Books Ltd, Bodmin, Cornwall.

Hariyadi, S., I. N. N. Supriadiputra dan b. Widigodo. 1992. *Limnologi Metode Kualitas Air*. Fakultas Perikanan Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Hasdianah, P. Dewi, Y. Peristiowati dan S. Imam. 2014. *Imunologi*. Penerbit: Nuh Medika. Yogyakarta.

Huber, C. 2000. *Marine Biology*. Mc-Graw Hill Higher Education inc.

Hutabarat, S. dan S. M. Evans. 1985. *Pengantar Oseanografi*. Cetakan 2. UI-Press: Jakarta.

Hutagalung, H. P dan Razak, H. 1981. Kandungan Logam Berat dalam Beberapa Perairan Laut Indonesia, dalam Kondisi Lingkungan Pesisir dan Laut Indonesia. Puslitbang Oceanologi LIPI: Jakarta.

Hutagalung, H.P. 1984. Logam Berat Dalam Lingkungan Laut. *Pewarta Oseana IX No. 1 Tahun 1984* LON-LIPI: Jakarta.

Jakfar., Agustono dan A. Manan. 2014. Deteksi Logam Timbal (Pb) Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Di Sepanjang Sungai Kalimas Surabaya. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 6(1):43-48.

Jalius., D. D. Setiyanto., K. Sumantadinata., E. Riani dan Y. Ernawati. 2008. Bioakumulasi Logam Berat dan Pengaruhnya Terhadap Oogenesis Kerang Hijau (*Perna viridis*). *J. Ris. Akuakultur*. 3(1):43-52.

Jelks, K.B., R. Wylie, C.L. Floyd, A.K. McAllister dan P. Wise. 2007. Estradiol Target Synaptic Proteins to Induce Glutamatergic Synapse Formation in Cultured Hippocampal Neurons: Critical Role of Estrogen Receptor- β . *The Journal of Neuroscience*. 27 (26): 6903-6913.

Kagi JHR and Vallee BL. 1960. Metallothionein: a Cadmium and Zinc-containing Protein from Equine Renal Cortex. *J Biol Chem*. 236(9): 2435-2442.



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

Komara, H.J. 2014. Analisis Kandungan Logam Berat Timbal (Pb) Pada Organisme Kerang Hijau (*Perna viridis*) Sebagai Bioindikator Lingkungan Di Muara Sungai Ujung Pangkah Desa Banyu Urip Kabupaten Gresik. Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang.

Korringa, P. 1976. Farming the green mussel (*Mytilus smaragdinus*) in Bacoor Bay, the Philippines. In : P. Korringa (editor). Farming marine organisms low in the food chain. Elsevier Publisher. Amsterdam, Netherland. 231-242 p.

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

Larasati. 2010. Produser Tetap Pengecatan Imunohistokimia p53. Cancer chemoprevention research center. Fakultas Farmasi UGM. Yogyakarta.

Liliandari, P. dan Aunurohim. 2013. Kecepatan Filtrasi Kerang Hijau *Perna viridis* terhadap *chaetoceros* sp dalam Media Logam Tercemar cadmium. *JURNAL SAINS DAN SENI POMITS*. 2(1):1-6.

Makmur, R., Emiyanti dan La Ode A. Afu. 2013. Kadar Logam Berat Timbal (Pb) pada Sedimen di Kawasan Mangrove Perairan Teluk Kendari. *Jurnal Mina Laut Indonesia*. 2(6):47-58. ISSN : 2303-3959

Maley, B.E. 2012. Procedure for laser confocal microscopy. https://www.research.uky.edu/core/imaging/inverted_confocal_manual.pdf

Marzuki. 1983. *Metodologi Riset*. Fakultas Ekonomi Universitas Islam Indonesia: Yogyakarta.

Menzel, W. 1990. *Estuarine an marine bivalve mollusca culture*. CRC Press Inc. Boston.

Mifbakhuiddin, R. Astuti dan A. Awaludin. 2010. Pengaruh Perendaman Larutan Asam Cuka Terhadap Kadar Logam Berat Cadmium Pada Kerang Hijau. *Jurnal Kesehatan*. 3(1):14-20.

Moore, M. N., Allen, J. I. 2002. A Computational Model of The Digestions Gland Epithelial Cell of The Marine Mussel and Its Simulted Responses to Aromatic Hydrocarbons. *Marine Environmental Resources*. 54 : 579-584.

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

Muhajir, A. 2009. Studi Kandungan Logam Berat Kadmium (Cd) Pada Kerang Darah (*Anadara Granosa*) Dari Beberapa Pasar Kota Malang. Skripsi. UIN Maulana Malik Ibrahim. Malang.



- Muntiha, M. 2001. Teknik Pembuatan Preparat Histopatologi dari Jaringan Hewan dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (HE). Balai Penelitian Veteriner. Temu Teknis Fungsional Non Peneliti.
- Murtini, J. T. dan R. Peranginangin. 2006. Kandungan Logam Berat pada Kerang Kepah (*Meritrix meritrix*) dan Air Laut di Perairan Banjarmasin. *Jurnal Perikanan*. Vol. VIII(2): 177- 184.
- Murtini, J. T., A. D. Kurniawan dan E. N. Dewi. 2008. Pengaruh Waktu Perendaman dan Konsentrasi Karboksimetil Kitosan untuk Menurunkan Kandungan Logam Berat Hg, Cd, dan Pb Pada Kerang Hijau (*Perna viridis* Linn.). *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 3(1):37-44.
- Niswari, A.P. 2004. Studi Morfometrik Kerang Hijau (*Perna viridis* L.) di Perairan Cilincing, Jakarta Utara. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor: Bogor.
- Notoatmojo. 2010. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Rineka Cipta: Jakarta.
- Nugroho, A.P. 2004. Ekotoksikologi. *Buku Ajar*. Fakultas Biologi Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.
- Nuhriyana, H. 2016. Analisis Konsentrasi Logam Berat Merkuri (Hg) pada Insang, Lambung dan Otot Kerang Hijau (*Perna viridis* L.) di Ngemboh, Banyu Urip dan Kenjeran. *Skripsi*. Universitas Brawijaya. Malang.
- Nurfakih, A., C. A. Suryono dan Sunaryo. 2013. Studi Kandungan Bahan Organik Sedimen Terhadap Kelimpahana Bivalvia Di Perairan Semarang Bagian Timur. *Journal Of Marine Research*. II(3):173-180.
- Nybakken, J.W. 1998. Biologi Laut, Suatu Pendekatan Ekologis. Gramedia: Jakarta.
- Olympus Corporation. 2009. <http://www.olympusconfocal.com>. Diakses pada tanggal 30 April 2016
- Palar, H. 2012. *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat*. Cetakan Kelima. Rineka Cipta: Jakarta.
- Pandango, M. E. 2010. Studi Keberadaan Nano Partikel pada Limbah Padat Hasil Terapi Balur dengan CLSM. Jurusan Fisika. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Brawijaya. Malang.
- Pawley, J. B., Ed. 2006. *Handbook of Biological Confocal Microscopy* (3th ed) Springer Berlin.
- Pratikto, I. 2013. Filtrasi Kerang Hijau *Perna viridis* Terhadap Mikro Alga pada Jenis dan Konsentrasi Berbeda. *Buletin Oseanografi Marina*. 2:35-40.
- Pratisto, C. N. 2016. Analisis Konsentrasi Logam Berat Pb pada Insang, Otot dan Lambung Kerang Hijau (*Perna viridis* Linnaeus 1788) di Perairan

Ngemboh dan Banyu urip Kabupaten Gresik dan di Perairan Kenjeran Kota Surabaya. *Skripsi*. Universitas Brawijaya. Malang.

Pujiastuti, P., B. Ismail dan Pranoto.2013. Kualitas dan Bahan pencemar perairan waduk gajah mungkur. *Jurnal ekosains*. 5(1) : 59-75.

Putri, R. A., T. Haryono., S. Kuntjoro. 2012. Keanekaragaman bivalvia dan peranannya sebagai bioindikator logam berat kromium (Cr) di Perairan Kenjeran, Kecamatan Bulak, Kota Surabaya. *Jurnal Lantera Bio*. 2(1):87-89.

Razak, H. 1980. *Pengaruh Logam Berat Terhadap Lingkungan*. Pewarta Oseana II LON-LIPI: Jakarta.

Region, G. 2003. Profile of the Blue Mussel (*Mytilus edulis*). Fisheries and Oceana: Canada.

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

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

Rumahlatu, D., A. D. Corebima., M. Amin dan F. Rachman. 2012. Kadmium dan Efeknya terhadap Ekspresi Protein Metallothionein pada *Deadema setosum* (Echinoidea; Echinodermata). *Jurnal Penelitian Perikanan*. 1(1):26-35.

Saadah, M. 2008. Studi Bioakumulasi Logam Berat Untuk Pengembangan Zona Tangkap Kekerangan Di Pesisir Sidoarjo. Institut teknologi sepuluh November. Surabaya.

Saeni, M S. 1989. Kimia Lingkungan. Bogor. Pusat Antar Universitas Ilmu Hayati. IPB.

Sahara, E. 2009. Distribusi Pb dan Cu pada berbagai ukuran partikel sedimen di pelabuhan Benoa. *Jurnal Kimia*. 3 (2): 75-80.

Sakulsak, N. 2012. Metallothionein: An Overview on its Metal Homeostatic Regulation in Mammals. *Int. J. Morphol.* 30(3):1007-1012.

Salmin. 2005. Oksigen Terlarut (DO) dan Kebutuhan Oksigen Biologi (BOD) sebagai Salah Satu Indikator untuk Menentukan Kualitas Perairan. *Jurnal Oseana*. 30 (3): 21 – 26.

Santosa, Slamet. 2003. Peran Metallothionein pada Autisme. *JKM*. 2 (2): 23-30.

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

- Setiyono, A. dan A. Djaidah. 2012. Konsumsi Ikan Dan Hasil Pertanian Terhadap Kadar Hg Darah. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 7(2):110-116.
- Setyobudiandi, I. 2004. Beberapa Aspek Biologi Reproduksi Kerang Hijau *Perna viridis* L, 1758 pada Kondisi Perairan yang Berbeda. *Disertasi*. Sekolah Pasca Sarjana. IPB. Bogor.
- Sholihah, M. I. 2016. Analisis Kandungan Logam Berat Kadmium (Cd) pada Insang, Lambung dan Otot Kerang Hijau (*Perna viridis* L.) dengan AAS (*Atomic Absorbstion Spectrophotometer*). *Skripsi*. Universitas Brawijaya. Malang.
- Situmorang, S. H., I. Muda, Dalimunthe, D. M. J., Fadli dan Syarief, F. 2010. *Analisis data : untuk riset manajemen dan bisnis*. USU Press : Medan.
- SNI. 1990. *Metode Pengukuran Kualitas Air*. Dinas Pekerjaan Umum. Jakarta.
- _____. 2004. *Air dan Air Limbah – Bagian 11: Cara Uji Derajad Keasaman (pH) dengan Menggunakan Alat pH Meter*. Badan Standardisasi Nasional.
- Suaniti, Ni Made. 2007. Pengaruh EDTA dalam penentuan kandungan timbal dan tembaga pada kerang hijau (*Mytilus viridis*). *Ecotropic*. 2 (1): 1-7.
- Subarijanti, H. U. 1990. *Limnology*. Diktat Kuliah. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Sudarso, Y., G.P, Yoga dan T. Suryono. 2005. Kontaminasi Logam Berat di Sedimen: Studi Kasus pada Waduk Saguling, Jawa Barat. *Manusia dan Lingkungan*. 12 (1): 28-42.
- Suryadiputra, I. N. N. 1995. Pengolahan Air Limbah dengan Metode Biologi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Suryono, C. A. 2006. Kecepatan Filtrasi Kerang Hijau *Perna viridis* terhadap *Skeletonema* sp pada Media Tercemar Logam Berat Timbal (Pb) dan Tembaga (Cu). *Jurnal Ilmu Kelautan*. 11 (3) : 153-157.
- Taftazani, A. 2007. Distribusi Konsentrasi Logam Berat Hg dan Cr Pada Sampel Lingkungan Perairan Surabaya. *Prosiding PPI – PDIPTN*. Postek Akselerator dan Proses Bahan – BATAN. Yogyakarta.
- Tarasava, K., S. Johannsen and E. Freisinger. 2013. Solution Structure of the Circular γ -Domain Analog from the Wheat Metallothionein Ec-1. *Molecules*.18(14414-14429 ISSN 1420-3049.
- Thirumoorthy, N., A.S, Sunder., K.T.M, Kumar., M.S, Kumar., G.N.K, Ganesh and M, Chatterjee. 2011. A review of Metallothionein Isoform and their Role in Pathophysiology. *World Journal of Surgical Oncology*. 9(1):1-7.
- Tortora, G.J. 2001. *Microbiology: An Introduction*. USA : Addison Wesley Longman Inc.



- Trilaksana, W., R. R. Nitibaskara dan A. Khudari. 1998. Kandungan Logam Berat Merkuri (Hg) dan Kadmium (Cd) pada Kupang Merah (*Muscullata senhausia*). *Jurnal Teknologi Hasil Perikanan*. 5
- Trisnawaty, F. N., Emiyarti dan La Ode A. Afu. 2013. Hubungan Kadar Logam Berat Merkuri (Hg) pada Sedimen dengan Struktur Komunitas Makrozoobenthos di Perairan Sungai Tahi Ite Kecamatan Rarowatu Kabupaten Bombana. *Jurnal Mina Laut Indonesia*. 3(12) :68-80. ISSN : 2303-3959
- Vasantha, Lourduraj Arockia; Parenadam Revathi, Chinnasamy Arulvasu; Natesan Munuswamy. 2012. Biomarkers of metal toxicity and histology of *Perna viridis* from Ennore estuary, Chennai, South east coast of India. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. (84): 92-98.
- Wahyuni, H., S. B. Sasongko dan D. P. Sasongko. 2013. Kandungan Logam Berat pada Air, Sedimen dan Plankton Di Daerah Penambangan Masyarakat Desa Batu Belubang Kabupaten Bangka Tengah. *Prosiding Seminar Nasional Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan*.
- Walpole, R.E. 1995. *Pengantar Statistika*. Edisi Ke-3. PT. Gramedia Pustaka Utama: Jakarta.
- Wardani, D. A. Kusuma., N. K. Dewi dan N. R. Utami. 2014. Akumulasi Logam Berat Timbal (Pb) pada Daging Kerang Hijau (*Perna viridis*) di Muara Sungai Banjir Kanal Barat Semarang. *Unnes J Life Sci*. 3 (1): 1-8.
- Widodo, F.I. 2012. Dampak Pencemaran Merkuri terhadap Biota Air dan Kesehatan Manusia. *Jurnal Lingkungan Hidup*. 3 (1): 30-40.
- Wisnawa, I Gede Yudi. 2013. Studi Pemetaan Kesesuaian Budidaya Kerang Hijau (*Perna Viridis*) Menggunakan Data Citra Satelit Dan Sig Di Perairan Laut Tejakula. *Jurnal Sains dan Teknologi*. 2(2) : 239-243. ISSN: 2303-3142
- Wu, J.P. and H-C. Chen. 2005. Metallothionein induction and heavy metal accumulation in white shrimp *Litopenaeus vannamei* exposed to cadmium and zinc. *Journal Comparative Biochemistry and Physiology*, Part C 140: 383-394.
- Wulandari E., E. Y. Herawati dan D. Arifiati. 2012. Kandungan Logam Berat Pb pada Air Laut dan Tiram *Saccostrea glomerata* sebagai Bioindikator Kualitas Perairan Prigi, Trenggalek, Jawa Timur. *Jurnal Penelitian Perikanan*. 1(1):10-14.
- Yudiatni, E., S. Sedjati, I. Enggar dan I. Hasibuan. 2009. Dampak Pemaparan Logam Berat Kadmium pada Salinitas yang Berbeda terhadap Mortalitas dan Kerusakan Jaringan Insang Juvenile Udang Vaname (*Litopeneus vannamei*). *Jurnal Ilmu Kelautan*. 14 (4) : 29-35.



Yulaipi, S. dan Aunurohim. 2013. Bioakumulasi Logam Berat Timbal (Pb) dan Hubungannya Dengan Laju Pertumbuhan Ikan Mujair (*Oreochromis mossambicus*). *Jurnal Sains dan Seni Pomits.* 2 (2): 2337-3520.

Zakiyah, D. M. 2014. Pengembangan Perikanan Budidaya: Efektivitas Program Minapolitan dalam Pengelolaan Perikanan Budidaya Berkelanjutan di Kabupaten Gresik. *Jurnal Pembangunan Wilayah dan Kota.* 10(4) :453-465.

Zanger K., Gong Shen, Gulin OZ., J.D. Otvos and I.M Armitage. 2001. Oxidative dimerization in metallothionein is a result of intermolecular disulphide bonds between cysteins in the a-domain. *Journal Biochem.* 359 : 353 – 360.

(http://en.wikipedia.org/wiki/Confocal_laser_scanning_microscopy) Diakses pada tanggal 30 April 2016.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat dan Bahan Penelitian

PROSEDUR	ALAT	BAHAN
Pengukuran Kualitas Air - Suhu - Oksigen Terlarut - pH - Salinitas - Logam Berat	<ul style="list-style-type: none"> • Thermometer Hg • DO meter • pH meter • Refraktometer • Pipet tetes • Botol ukuran 600 ml • Lampu elektroda Pb • Timbangan sartorius • Oven • Hot plate • Beaker glass • Labu ukur • AAS 	<ul style="list-style-type: none"> • Air sampel • Sampel sedimen • Kerang hijau (<i>Perna viridis</i> L.) • Tissue • (HNO₃:HCl) 1:1 sebanyak ± 10-15 ml • Kertas saring • Aquades • Larutan standart
Pengambilan Organ	<ul style="list-style-type: none"> • Sectio set • Cool box • Botol sampel 	<ul style="list-style-type: none"> • Formalin 10% • Lambung kerang hijau (<i>Perna viridis</i> L.)
Prosedur Histopatologi	<ul style="list-style-type: none"> • Tissue cassette • Tissue Tex Prosessor • Microtome • Water bath • Pinset • Inkubator • Keranjang khusus • Pisau • Mesin vakum • Cetakan • Bunsen • Freezer • Objek glass • Objek glass box 	<ul style="list-style-type: none"> • Jaringan hewan yang telah difiksasi formalin 10% • Paraffin cair • Kertas label • Alkohol 90%, 80%, 70% • Alkohol absolut • Xylool • Spritus
Imunofluoresen	<ul style="list-style-type: none"> • Microwave • Jar • Micropipet • Timbangan analitik • Tabung ukur 100mL • Botol gelap • Botol terang • Tuperware kecil • Cup • pH meter • Stopwatch 	<ul style="list-style-type: none"> • Sampel jaringan • PBS (<i>Phosphate Buffer Saline</i>) • BSA • Etanol 70% dan 80% • Etanol absolute • Xylool • Antibodi primer (Mouse Monoclonal) • Antibodi sekunder

	<ul style="list-style-type: none">• Pinset• Erlemeyer	(anti mouse IgG-Rhodamine red x) <ul style="list-style-type: none">• Kertas label• Aquadest• Tissue
Pengamatan Confocal Microscopy	<ul style="list-style-type: none">• Confocal Laser Scanning Microscopy• CPU• Layar monitor• Power saver	• Slide

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

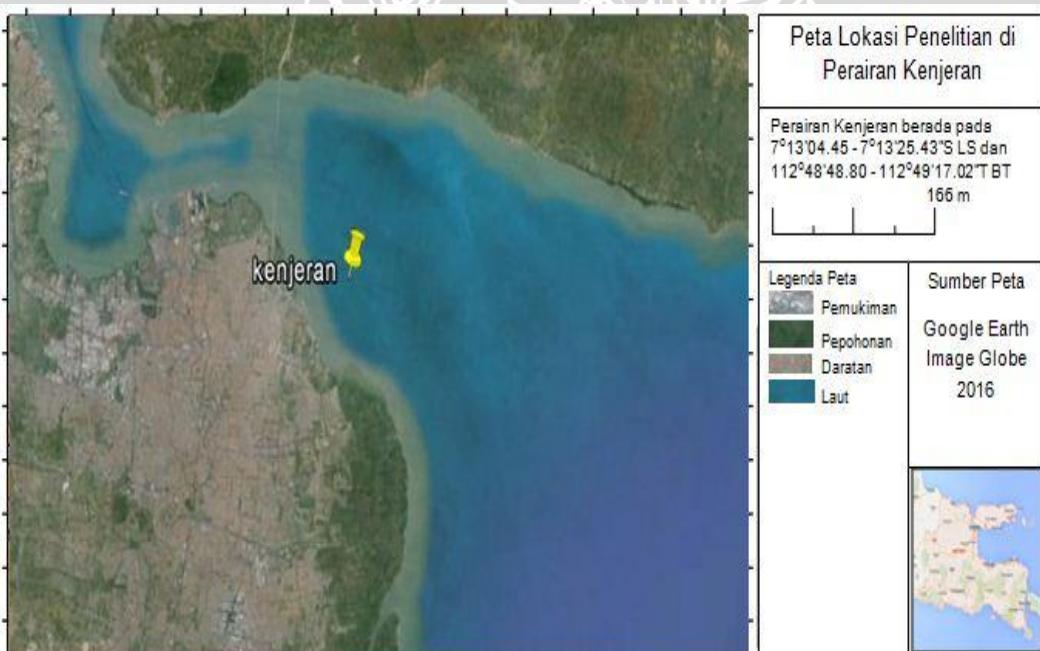


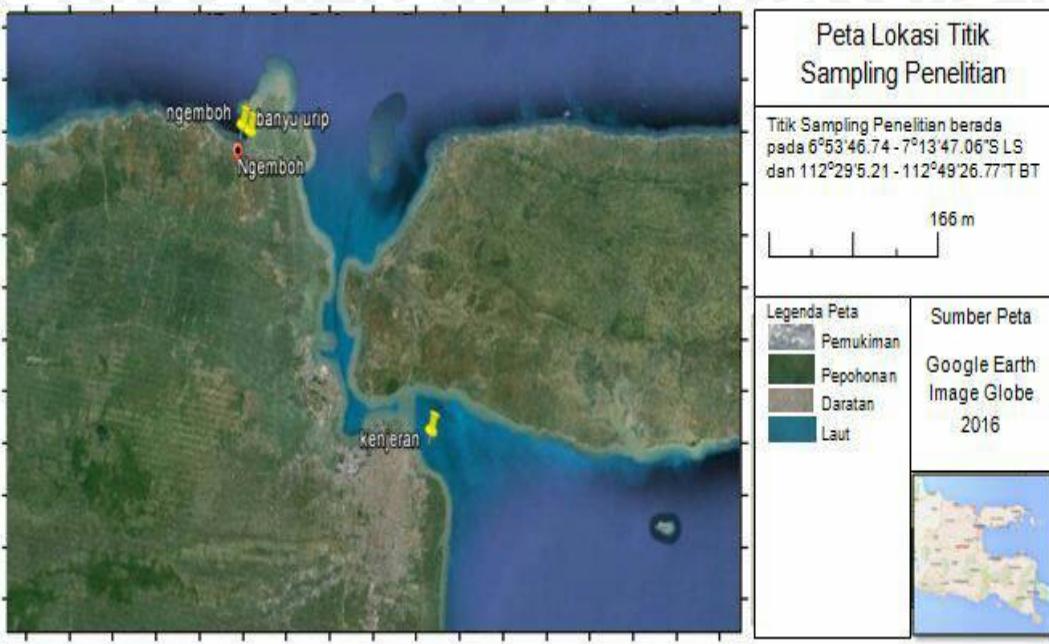
Lampiran 2. Peta Lokasi Sampling

2a. Peta Perairan Ngemboh dan Banyu Urip



2b. Peta Perairan Kenjeran

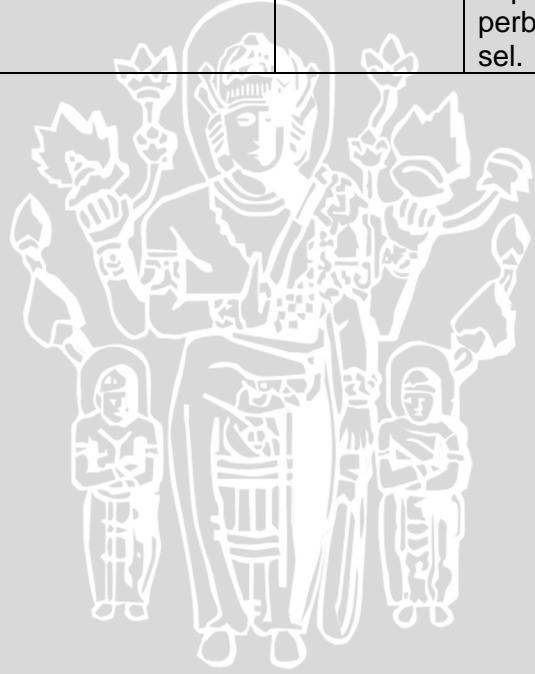


Lampiran 2. Lanjutan Peta Lokasi Sampling**2c. Peta Perairan Ngemboh, Banyu Urip dan Kenjeran**

Lampiran 3. Data penelitian terdahulu mengenai logam berat di perairan dan metallothionein

No	Sumber	Judul	Lokasi	Hasil Penelitian
1	Eshmat <i>et al.</i> , (2014)	Analisis kandungan logam berat timbal (Pb) dan kadmium (Cd) pada kerang hijau (<i>Perna viridis L.</i>) di Perairan Ngemboh Kabupaten Gresik Jawa Timur	Perairan Ngemboh, Gresik	Logam berat Pb pada kerang rata-rata 0,161 – 0,871 ppm dan Cd pada kerang 0,012 – 0,129 ppm. Pada sedimen Pb rata-rata 1,175 – 2,023 ppm untuk Cd sedimen rata-rata 0,290 – 0,609 ppm, sedangkan pada air Pb sebesar 0,055 – 0,3 ppm serta Cd sebesar 0,019 – 0,048 ppm.
2	Komara, (2014)	Analisis Kandungan Logam Berat Timbal Pb Pada Organisme Kerang Hijau (<i>Perna viridis L.</i>) Sebagai Bioindikator Lingkungan di Muara Sungai Ujung Pangkah Desa Banyu Urip Kabupaten Gresik	Muara Sungai Desa Banyu Urip Kabupaten Gresik	Kandungan logam berat Pb pada kerang hijau rata-rata 0,02 ppm, pada air sebesar 9,16 ppm, dan pada sedimen sebesar 7,287 ppm.
3	Taftazani, (2007)	Distribusi Konsentrasi Logam Berat Hg dan Cr Pada Sampel Lingkungan Perairan Surabaya	Perairan Pesisir Kenjeran Surabaya	Konsentrasi Hg pada air sebesar 0,00097, konsentrasi Cr pada air sebesar 0,3705. Logam berat Hg dan Cr di pesisir pantai Kenjeran melebihi baku mutu menurut KEPMEN LH No. 51 Tahun 2004.
4	Trilaksana <i>et al.</i> , (1998)	Kandungan Logam Berat Merkuri (Hg) dan Kadmium (Cd) Pada Kupang Merah (<i>Muscullita senhausia</i>)	Tandes Surabaya dan Sedayu Gresik	Kandungan logam Hg di Tandes Surabaya 0,5709 ppm dan Sedayu Gresik 0,3833 ppm
5	Mubin, (2014)	Metallothionein Sebagai Biomarker Kadar Logam Berat Hg, Cd dan Pb pada Tiram <i>Crassostrea</i>	Perairan Pantai Utara Kabupaten Gresik	Kadar metallothionein yang diperoleh sebesar 8050 – 43900 ng/ml. Kadar metallothionein yang

		<i>iredalei</i> di Perairan Pantai Utara Kabupaten Gresik, Jawa Timur		tinggi menunjukkan kenaikan dalam konsentrasi Hg.
6	Rumahlatu <i>et al.</i> , (2012)	Kadmium dan Efeknya terhadap Ekspresi Protein Metallothionein pada <i>Deadema setosum</i> (Echinoidea; Echinodermata)	Perairan Pulau Ambon	Kadar Cd yang terakumulasi pada cangkang, duri, gonad dan usus bervariasi berturut-turut sebesar 0,67; 0,75; 1,35 dan 1,63 ppm. Hasil pemulasan imunohistokimia menunjukkan ekspresi protein MT-1 pada gonad, usus dan hepar menunjukkan perbedaan morfologi sel.



Lampiran 4. Data Logam Berat Pb, Cd dan Hg di Air, Sedimen dan Lambung Kerang Hijau (*Perna viridis* L.)

4a. Logam Berat Pada Air

Data Logam Berat Pb air

Lokasi	Ulangan			Rata-rata	SD
	1	2	3		
Ngemboh	0.016	0.019	0.010	0.015	0.004
Banyu Urip	0.009	0.011	0.008	0.009	0.001
Kenjeran	0.020	0.024	0.016	0.020	0.004

Data Logam Berat Cd air

Lokasi	Ulangan			Rata-rata	SD
	1	2	3		
Ngemboh	0.007	0.009	0.006	0.007	0.002
Banyu Urip	0.007	0.009	0.005	0.007	0.002
Kenjeran	0.009	0.012	0.007	0.010	0.003

Data Logam Berat Hg air

Lokasi	Ulangan			Rata-rata	SD
	1	2	3		
Ngemboh	0.011	0.014	0.008	0.011	0.003
Banyu Urip	0.008	0.010	0.007	0.009	0.001
Kenjeran	0.015	0.017	0.013	0.015	0.002

4b. Logam Berat Pada Sedimen

Data Logam Berat Pb

Lokasi	Ulangan			Rata-rata	SD
	1	2	3		
Ngemboh	2.136	2.365	1.827	2.109	0.270
Banyu Urip	1.323	1.636	1.009	1.322	0.314
Kenjeran	2.523	2.755	2.334	2.537	0.211

Data Logam Berat Cd

Lokasi	Ulangan			Rata-rata	SD
	1	2	3		
Ngemboh	0.576	0.654	0.467	0.566	0.094
Banyu Urip	0.311	0.389	0.280	0.327	0.056
Kenjeran	0.638	0.823	0.545	0.668	0.141

Data Logam Berat Hg

Lokasi	Ulangan			Rata-rata	SD
	1	2	3		
Ngemboh	0.950	1.110	0.860	0.973	0.126
Banyu Urip	0.716	0.770	0.626	0.704	0.073
Kenjeran	1.644	1.825	1.268	1.579	0.284

4c. Logam Berat Pada Lambung Kerang Hijau (*Perna viridis* L.)

Data Logam Berat Pb Lambung

Lokasi	Organ	Ulangan			Rata-rata	SD
		1	2	3		
Ngemboh	Lambung	0.292	0.321	0.237	0.283	0.043
Banyu Urip	Lambung	0.254	0.282	0.240	0.259	0.021
Kenjeran	Lambung	0.349	0.432	0.294	0.358	0.070
		Rata-rata			0.300	

Data Logam Berat Cd Lambung

Lokasi	Organ	Ulangan			Rata-rata	SD
		1	2	3		
Ngemboh	Lambung	0.153	0.223	0.128	0.168	0.049
Banyu Urip	Lambung	0.129	0.170	0.102	0.133	0.034
Kenjeran	Lambung	0.272	0.306	0.221	0.266	0.042
		Rata-rata			0.189	

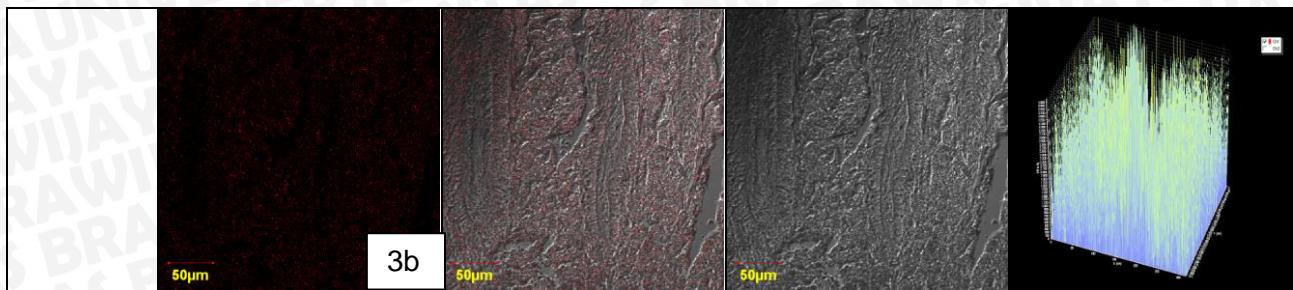
Data Logam Berat Hg Lambung

Lokasi	Organ	Ulangan			Rata-rata	SD
		1	2	3		
Ngemboh	Lambung	0.191	0.230	0.172	0.197	0.029
Banyu Urip	Lambung	0.153	0.172	0.115	0.146	0.029
Kenjeran	Lambung	0.248	0.259	0.191	0.233	0.036
		Rata-rata			0.192	

Lampiran 5. Ekspresi Metallothionein pada Lambung Kerang Hijau (*Perna viridis* L.)

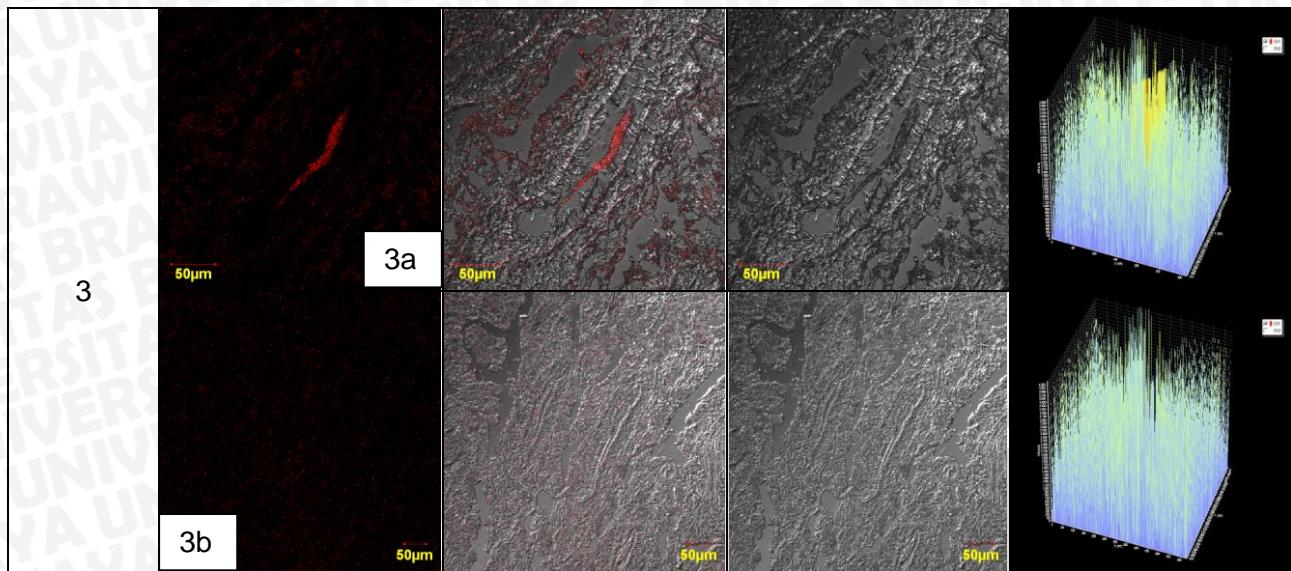
1. Perairan Ngemboh

Ulangan	Rhodamine	SI (Super Impose)	DIC	Grafik 3 Dimensi
1				
2				
3				

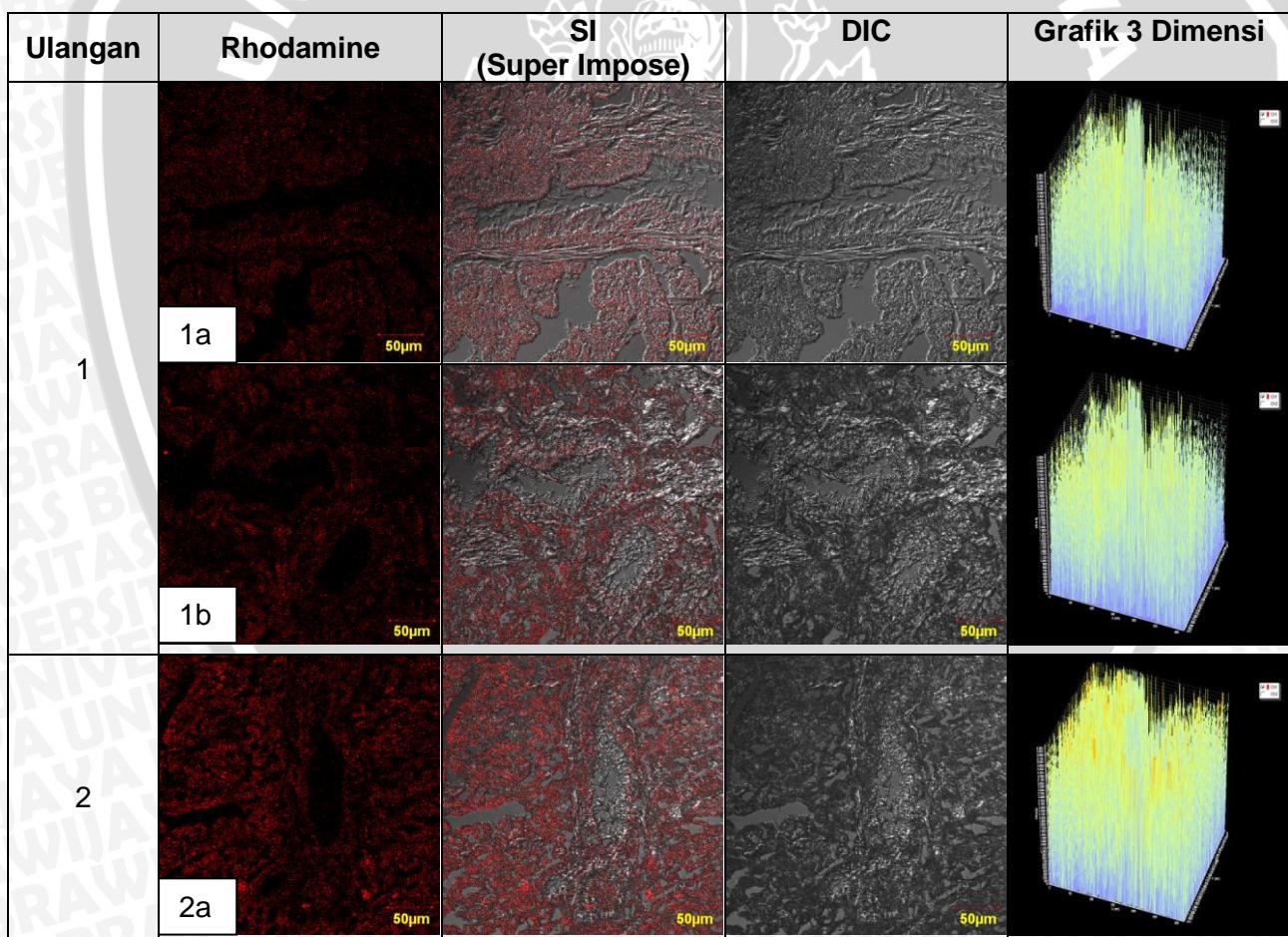


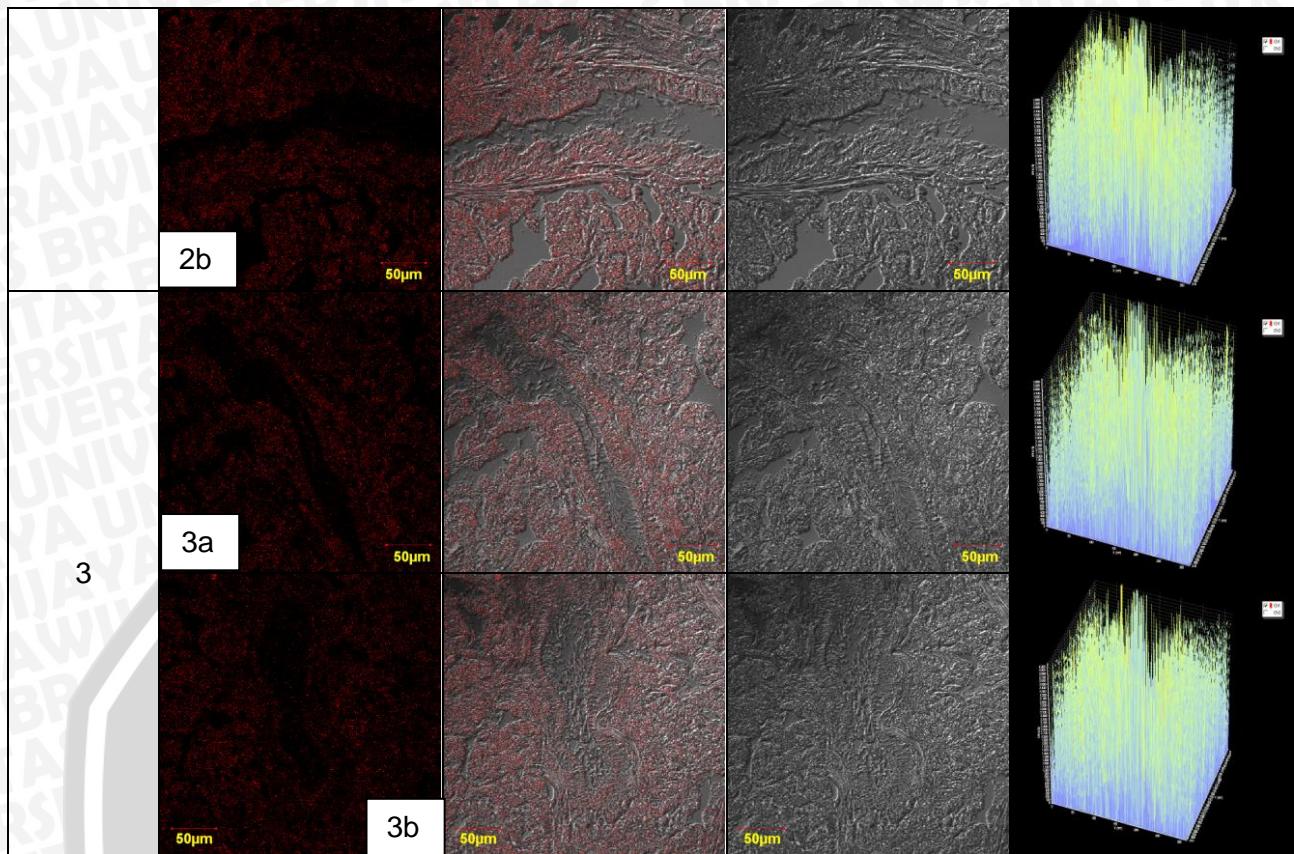
2. Perairan Banyu Urip

Ulangan	Rhodamine	SI (Super Impose)	DIC	Grafik 3 Dimensi
1				
2				



3. Perairan Kenjeran





Lampiran 6. Kandungan Metallothionein pada Lambung Kerang Hijau (*Perna viridis* L.)

Lokasi	Ulangan	Lapang Pandang	Hasil	Rata-rata	SD
Ngemboh	1	LN1 1 LN1 2	246.709 229.459	238.084	12.198
	2	LN2 1 LN2 2	265.250 247.014	256.132	12.895
	3	LN3 1 LN3 2	171.516 206.747	189.132	24.912
Rata-rata				227.783	
SD				34.668	
Banyu Urip	1	LB1 1 LB1 2	153.770 148.299	151.035	3.869
	2	LB2 1 LB2 2	164.958 156.538	160.748	5.954
	3	LB3 1 LB3 2	135.067 126.882	130.975	5.788
Rata-rata				147.586	
SD				15.183	
Kenjeran	1	LK1 1 LK1 2	316.084 307.545	311.815	6.038
	2	LK2 1 LK2 2	538.778 335.345	437.062	143.849
	3	LK3 1 LK3 2	278.368 277.701	278.035	0.472
Rata-rata				342.304	
SD				83.783	

Lampiran 7. Output Analisis Uji Statistik Kruskal-Wallis Hubungan Kandungan Metallothionein pada Lambung Kerang Hijau (*Perna viridis L.*) dengan tiga perairan Berbeda

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum	Percentiles		
						25th	50th (Median)	75th
MT	9	239.22422	96.414235	130.975	437.062	155.89150	238.08400	294.92500
Lokasi	9	2.00000	.866025	1.000	3.000	1.00000	2.00000	3.00000

Kruskal-Wallis Test

Ranks

	Lokasi	N	Mean Rank
MT	Ngemboh	3	5.00
	Banyu Urip	3	2.00
	Kenjeran	3	8.00
	Total	9	

Test Statistics^{a,b}

	MT
Chi-Square	7.200
df	2
Asymp. Sig.	.027

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Lokasi



Lampiran 8. Output Analisis Regresi Korelasi Model Linier Berganda

- Hubungan Intensitas Metallothionein dengan Logam Berat Pb, Cd dan Hg Pada Lambung Kerang Hijau (*Perna viridis L.*)

Variables Entered/Removed^a

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

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

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.955 ^a	.912	.859	36.147824

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

ANOVA^a

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	67832.312	3	22610.771	17.304	.005 ^b
	Residual	6533.326	5	1306.665		
	Total	74365.638	8			

- a. Dependent Variable: MT
- b. Predictors: (Constant), Hg, Pb, Cd

Coefficients^a

Model	Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients Beta	t	Sig.
	B	Std. Error			
1	(Constant)	163.873	107.428		.1525 .188
	Pb	927.248	611.376	.593	1.517 .190
	Cd	282.672	693.540	.206	.408 .700
	Hg	370.714	783.468	.179	.473 .656

- a. Dependent Variable: MT

Lampiran 9. Data Kualitas Perairan

Lokasi	Ulangan	Data Kualitas Air			
		Suhu (°C)	Salinitas (ppt)	pH	DO (mg/l)
Ngemboh	1	31	26	7,9	7,4
	2	31	26	8,1	8,1
	3	31	26	8,3	6,2
Banyu Urip	1	32	28	8,3	5,3
	2	31	26	8,7	5,1
	3	32	26	8,6	5
Kenjeran	1	32	25	8,7	5,7
	2	32	25	8,4	6,3
	3	32	25	7,6	5,6

Lampiran 10. Standart Baku Mutu

10a. Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup No 51 Tahun 2004

Lampiran III: Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup
Nomor : 51 Tahun 2004
Tanggal : 8 April 2004

BAKU MUTU AIR LAUT UNTUK BIOTA LAUT

No.	Parameter	Satuan	Baku mutu
1.	FISIKA Kecerahan ^a	m	coral: >5 mangrove: - lamun: >3 alam ³ <5
2.	Kebauan	-	coral: 20
3.	Kekerasuhan ^a	NTU	mangrove: 80
4.	Padatan tersuspensi total ^b	mg/l	lamun: 20 nilil ⁽⁴⁾ alam ⁽³⁾ coral: 28-30 ⁽⁴⁾ mangrove: 28-32 ⁽⁴⁾ lamun: 28-30 ⁽⁴⁾ nilil ⁽⁵⁾
5.	Sampah	-	
6.	Suhu ^c	°C	
7.	Lapisan minyak ⁵	-	
8.	KIMIA		
9.	pH ^d	-	7 - 8,5 ⁽¹⁾ alam ⁽³⁾
10.	Salinitas ^e	%o	coral: 33-34 ⁽⁴⁾ mangrove: s/d 34 ⁽⁴⁾ lamun: 33-34 ⁽⁴⁾
11.	Oksigen terlarut (DO)	mg/l	>5
12.	BCDS	mg/l	20
13.	Ammonia total (NH ₃ -N)	mg/l	0,3
14.	Fosfat (PO ₄ -P)	mg/l	0,015
15.	Nitrat (NO ₃ -N)	mg/l	0,008
16.	Sianida (CN ⁻)	mg/l	0,01
17.	Sulfida (H ₂ S)	mg/l	0,003
18.	PAH (Polaromatik hidrokarbon)	mg/l	0,002
19.	Senyawas Fenol total	mg/l	0,01
20.	PCB total (poliklor bifenil)	µg/l	1
21.	Surfaktan (deterjen)	mg/l MBAS	1
22.	Minyak & lemak	mg/l	1
23.	Pestisida ^f	µg/l	0,01
24.	TBT (tributil tin) ⁷	µg/l	0,01
25.	Logam terlarut:		
26.	Raksa (Hg)	mg/l	0,001
27.	Kromium heksavalen (Cr(VI))	mg/l	0,005
28.	Arsen (As)	mg/l	0,012

No.	Parameter	Satuan	Baku mutu
20.	Kadmium (Cd)	mg/l	0,001
21.	Timbaga (Cu)	mg/l	0,008
22.	Timbal (Pb)	mg/l	0,008
23.	Seng (Zn)	mg/l	0,05
24.	Nikel (Ni)	mg/l	0,05
25.	BIOLOGI		
26.	Coliform (total) ⁸	MPN/100 ml	1000 ⁽⁹⁾
27.	Patogen	set/100 ml	nilil ¹
28.	Plankton	set/100 ml	tidak bloom ⁶
29.	RADIO NUKLIDA		
30.	Komposisi yang tidak diketahui	Bq/l	4

Catatan:

1. Nihil adalah tidak terdeteksi dengan batas deteksi alat yang digunakan (sesuai dengan metode yang digunakan)
2. Metode analisa mengacu pada metode analisa untuk air laut yang telah ada, baik internasional maupun nasional.
3. Alami adalah kondisi normal suatu lingkungan, bervariasi setiap saat (siang, malam dan musim).
4. Pengamatan oleh manusia (visual).
5. Pengamatan oleh manusia (visual). Lapisan minyak yang diau adalah lapisan tipis (*thin layer*) dengan ketebalan 0,01mm
6. Tidak bloom adalah tidak terjadi pertumbuhan yang berlebihan yang dapat menyebabkan eutrofikasi. Pertumbuhan plankton yang berlebihan dipengaruhi oleh nutrien, cahaya, suhu, kecepatan arus, dan kestabilan plankton itu sendiri.
7. TBT adalah zat *antifouling* yang biasanya terdapat pada cat kapal
 - Diperbolehkan terjadi perubahan sampai dengan <10% kedalaman euphotic
 - Diperbolehkan terjadi perubahan sampai dengan <10% konsentrasi rata-rata musiman
 - Diperbolehkan terjadi perubahan sampai dengan <2oC dari suhu alami
 - Diperbolehkan terjadi perubahan sampai dengan <0,2 satuan pH
 - Diperbolehkan terjadi perubahan sampai dengan <5% salinitas rata-rata musiman
 - Berbagai jenis pestisida seperti: DDT, Endrin, Endosulfan dan Heptachlor
 - Diperbolehkan terjadi perubahan sampai dengan <10% konsentrasi rata-rata musiman]

Menteri Negara
Lingkungan Hidup,

ttd

Nabiel Makarim, MPA., MSM.

Salinan sesuai dengan aslinya
Deputi MENLH Bidang Kebijakan dan
Kelembagaan Lingkungan Hidup,

ttd

Hoetomo, MPA.



10b. ANZECC Baku Mutu Sedimen

Contaminant	ISQG-Low (Trigger value)	ISQG-High
METALS (mg/kg dry wt)		
Antimony	2	25
Cadmium	1.5	10
Chromium	80	370
Copper	65	270
Lead	50	220
Mercury	0.15	1
Nickel	21	52
Silver	1	3.7
Zinc	200	410
METALLOIDS (mg/kg dry wt)		
Arsenic	20	70
ORGANOMETALLICS		
Tributyltin ($\mu\text{g Sn/kg dry wt.}$)	5	70
ORGANICS ($\mu\text{g/kg dry wt.}$)^b		
Acenaphthene	16	500
Acenaphthalene	44	640
Anthracene	85	1100
Fluorene	19	540
Naphthalene	160	2100
Phenanthrene	240	1500
Low Molecular Weight PAHs ^c	552	3160
Benzo(a)anthracene	261	1600
Benzo(a)pyrene	430	1600
Dibenzo(a,h)anthracene	63	260
Chrysene	384	2800
Fluoranthene	600	5100
Pyrene	665	2600
High Molecular Weight PAHs ^c	1700	9600
Total PAHs	4000	45000
Total DDT	1.6	46
p,p'-DDE	2.2	27
o,p'- + p,p'-DDD	2	20
Chlordane	0.5	6
Dieldrin	0.02	8
Endrin	0.02	8
Lindane	0.32	1
Total PCBs	23	—

Lampiran 11. Data Kuantitatif Uji Metallothionein dengan CLSM

a. Perairan Ngemboh

Region Measurement - LN1 MT-RHOD 400X 1.oib Z:0 T:0 L:0 ROI:2

	CenterX [um]	CenterY [um]	Area [um^2]	Perimeter [um]	LengthL [um]	LengthS [um]	Integration CH2	Average CH2	Max CH2	Min CH2	Range CH2	StdDev CH2	3StdDev CH2	Integration TD1	Average TD1	Max TD1	Min TD1	Range TD1	StdDev TD1	3StdDev TD1
Count	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
Average	158.666	158.976	100896	1270.566	317.952	317.331	64547019	246.709	4095	0	4095	687.244	2061.731	3.05E+08	1165.265	4095	346	3749	541.007	1623.021
Max	158.666	158.976	100896	1270.566	317.952	317.331	64547019	246.709	4095	0	4095	687.244	2061.731	3.05E+08	1165.265	4095	346	3749	541.007	1623.021
Min	158.666	158.976	100896	1270.566	317.952	317.331	64547019	246.709	4095	0	4095	687.244	2061.731	3.05E+08	1165.265	4095	346	3749	541.007	1623.021
Range	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
StdDev	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
3StdDev	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
ROI	CenterX [um]	CenterY [um]	Area [um^2]	Perimeter [um]	LengthL [um]	LengthS [um]	Integration CH2	Average CH2	Max CH2	Min CH2	Range CH2	StdDev CH2	3StdDev CH2	Integration TD1	Average TD1	Max TD1	Min TD1	Range TD1	StdDev TD1	3StdDev TD1
2	158.666	158.976	100896	1270.566	317.952	317.331	64547019	246.709	4095	0	4095	687.244	2061.731	3.05E+08	1165.265	4095	346	3749	541.007	1623.021

Region Measurement - LN1 MT-RHOD 400X 2.oib Z:0 T:0 L:0 ROI:2

	CenterX [um]	CenterY [um]	Area [um^2]	Perimeter [um]	LengthL [um]	LengthS [um]	Integration CH2	Average CH2	Max CH2	Min CH2	Range CH2	StdDev CH2	3StdDev CH2	Integration TD1	Average TD1	Max TD1	Min TD1	Range TD1	StdDev TD1	3StdDev TD1
Count	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
Average	158.976	158.976	100699	1269.324	317.331	317.331	59916543	229.459	4095	0	4095	657.048	1971.144	3.5E+08	1339.578	4095	284	3811	514.84	1544.52
Max	158.976	158.976	100699	1269.324	317.331	317.331	59916543	229.459	4095	0	4095	657.048	1971.144	3.5E+08	1339.578	4095	284	3811	514.84	1544.52
Min	158.976	158.976	100699	1269.324	317.331	317.331	59916543	229.459	4095	0	4095	657.048	1971.144	3.5E+08	1339.578	4095	284	3811	514.84	1544.52
Range	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
StdDev	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
3StdDev	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
ROI	CenterX [um]	CenterY [um]	Area [um^2]	Perimeter [um]	LengthL [um]	LengthS [um]	Integration CH2	Average CH2	Max CH2	Min CH2	Range CH2	StdDev CH2	3StdDev CH2	Integration TD1	Average TD1	Max TD1	Min TD1	Range TD1	StdDev TD1	3StdDev TD1
2	158.976	158.976	100699	1269.324	317.331	317.331	59916543	229.459	4095	0	4095	657.048	1971.144	3.5E+08	1339.578	4095	284	3811	514.84	1544.52

Region Measurement - LB2 MT-RHOD 400X 1.oib Z:0 T:0 L:0 ROI:2

	CenterX	CenterY	Area	Perimeter	LengthL	LengthS	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev
	[um]	[um]	[um^2]	[um]	[um]	[um]	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	
Count	1	1	1	1	1	1	69397807	265.25	4095	0	4095	698.545	2095.636	3.53E+08	1350.203	4095	285	3810	511.361	1534.083
Average	158.666	158.355	100896	1270.566	317.952	317.331	69397807	265.25	4095	0	4095	698.545	2095.636	3.53E+08	1350.203	4095	285	3810	511.361	1534.083
Max	158.666	158.355	100896	1270.566	317.952	317.331	69397807	265.25	4095	0	4095	698.545	2095.636	3.53E+08	1350.203	4095	285	3810	511.361	1534.083
Min	158.666	158.355	100896	1270.566	317.952	317.331	69397807	265.25	4095	0	4095	698.545	2095.636	3.53E+08	1350.203	4095	285	3810	511.361	1534.083
Range	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
StdDev	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
3StdDev	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
ROI	CenterX	CenterY	Area	Perimeter	LengthL	LengthS	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev
	[um]	[um]	[um^2]	[um]	[um]	[um]	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	
2	158.666	158.355	100896	1270.566	317.952	317.331	69397807	265.25	4095	0	4095	698.545	2095.636	3.53E+08	1350.203	4095	285	3810	511.361	1534.083

Region Measurement - LN2 MT-RHOD 400X 2.oib Z:0 T:0 L:0 ROI:3

	CenterX	CenterY	Area	Perimeter	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev
	[um]	[um]	[um^2]	[um]	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1
Count	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Average	103.942	163.245	47654.82	998.845	31276240	247.014	4095	0	4095	678.141	2034.423	1.39E+08	1007.787	3820	361	3459	392.465	1177.394
Max	177.799	181.511	77771.45	1211.311	51756717	256.643	4095	0	4095	691.494	2074.481	2.41E+08	1193.229	4095	391	3704	553.975	1661.926
Min	30.084	144.979	17538.18	786.379	10795762	237.384	4095	0	4095	664.788	1994.364	37398641	822.346	3545	331	3214	230.954	692.863
Range	147.715	36.532	60233.27	424.932	40960955	19.259	0	0	0	26.706	80.118	2.03E+08	370.883	550	60	490	323.021	969.063
StdDev	104.45	25.832	42591.35	300.472	28963769	13.618	0	0	0	18.884	56.652	1.44E+08	262.254	388.909	42.426	346.482	228.41	685.231
3StdDev	313.35	77.495	127774.1	901.416	86891307	40.854	0	0	0	56.652	169.955	4.31E+08	786.762	1166.726	127.279	1039.447	685.231	2055.692
ROI	CenterX	CenterY	Area	Perimeter	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev
	[um]	[um]	[um^2]	[um]	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1
2	30.084	144.979	17538.18	786.379	10795762	237.384	4095	0	4095	664.788	1994.364	37398641	822.346	3545	331	3214	230.954	692.863
3	177.799	181.511	77771.45	1211.311	51756717	256.643	4095	0	4095	691.494	2074.481	2.41E+08	1193.229	4095	391	3704	553.975	1661.926

Region Measurement - LN3 MT-RHOD 400X 1.oib Z:0 T:0 L:0 ROI:2

	CenterX	CenterY	Area	Perimeter	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev
	[um]	[um]	[um^2]	[um]	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	
Count	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
Average	132.793	166.885	92826.49	1991.911	41285149	171.516	4095	0	4095	562.584	1687.753	3.19E+08	1324.609	4095	341	3754	499.549	1498.648
Max	132.793	166.885	92826.49	1991.911	41285149	171.516	4095	0	4095	562.584	1687.753	3.19E+08	1324.609	4095	341	3754	499.549	1498.648
Min	132.793	166.885	92826.49	1991.911	41285149	171.516	4095	0	4095	562.584	1687.753	3.19E+08	1324.609	4095	341	3754	499.549	1498.648
Range	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
StdDev	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
3StdDev	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
ROI	CenterX	CenterY	Area	Perimeter	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev
	[um]	[um]	[um^2]	[um]	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	
2	132.793	166.885	92826.49	1991.911	41285149	171.516	4095	0	4095	562.584	1687.753	3.19E+08	1324.609	4095	341	3754	499.549	1498.648

Region Measurement - LN3 MT-RHOD 400X 2.oib Z:0 T:0 L:0 ROI:2

	CenterX	CenterY	Area	Perimeter	LengthL	LengthS	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev
	[um]	[um]	[um^2]	[um]	[um]	[um]	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1		
Count	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
Average	158.666	158.976	100896	1270.566	317.952	317.331	54091587	206.747	4095	0	4095	618.97	1856.91	3.43E+08	1311.9	4095	302	3793	481.257	1443.771
Max	158.666	158.976	100896	1270.566	317.952	317.331	54091587	206.747	4095	0	4095	618.97	1856.91	3.43E+08	1311.9	4095	302	3793	481.257	1443.771
Min	158.666	158.976	100896	1270.566	317.952	317.331	54091587	206.747	4095	0	4095	618.97	1856.91	3.43E+08	1311.9	4095	302	3793	481.257	1443.771
Range	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
StdDev	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
3StdDev	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
ROI	CenterX	CenterY	Area	Perimeter	LengthL	LengthS	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev
	[um]	[um]	[um^2]	[um]	[um]	[um]	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1		
2	158.666	158.976	100896	1270.566	317.952	317.331	54091587	206.747	4095	0	4095	618.97	1856.91	3.43E+08	1311.9	4095	302	3793	481.257	1443.771

b. Banyu Urip

Region Measurement - LB1 MT-RHOD 400X 1.oib Z:0 T:0 L:0 ROI:2

	CenterX	CenterY	Area	Perimeter	LengthL	LengthS	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev
	[um]	[um]	[um^2]	[um]	[um]	[um]	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	
Count	1	1	1	1	1	1	40231090	153.77	4095	0	4095	539.333	1617.998	3.03E+08	1158.431	4095	355	3740	489.163	1467.489
Average	158.666	158.976	100896	1270.566	317.952	317.331	40231090	153.77	4095	0	4095	539.333	1617.998	3.03E+08	1158.431	4095	355	3740	489.163	1467.489
Max	158.666	158.976	100896	1270.566	317.952	317.331	40231090	153.77	4095	0	4095	539.333	1617.998	3.03E+08	1158.431	4095	355	3740	489.163	1467.489
Min	158.666	158.976	100896	1270.566	317.952	317.331	40231090	153.77	4095	0	4095	539.333	1617.998	3.03E+08	1158.431	4095	355	3740	489.163	1467.489
Range	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
StdDev	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
3StdDev	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
ROI	CenterX	CenterY	Area	Perimeter	LengthL	LengthS	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev
	[um]	[um]	[um^2]	[um]	[um]	[um]	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	
2	158.666	158.976	100896	1270.566	317.952	317.331	40231090	153.77	4095	0	4095	539.333	1617.998	3.03E+08	1158.431	4095	355	3740	489.163	1467.489

Region Measurement - LB1 MT-RHOD 400X 2.oib Z:0 T:0 L:0 ROI:2

	CenterX	CenterY	Area	Perimeter	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev		
	[um]	[um]	[um^2]	[um]	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1		
Count	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	4095	527.579	1582.738	3.1E+08	1309.02	4095	291	3804	484.247	1452.741
Average	138.992	162.946	91460.55	1931.023	35171314	148.299	4095	0	4095	527.579	1582.738	3.1E+08	1309.02	4095	291	3804	484.247	1452.741		
Max	138.992	162.946	91460.55	1931.023	35171314	148.299	4095	0	4095	527.579	1582.738	3.1E+08	1309.02	4095	291	3804	484.247	1452.741		
Min	138.992	162.946	91460.55	1931.023	35171314	148.299	4095	0	4095	527.579	1582.738	3.1E+08	1309.02	4095	291	3804	484.247	1452.741		
Range	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
StdDev	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
3StdDev	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
ROI	CenterX	CenterY	Area	Perimeter	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev		
	[um]	[um]	[um^2]	[um]	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1		
2	138.992	162.946	91460.55	1931.023	35171314	148.299	4095	0	4095	527.579	1582.738	3.1E+08	1309.02	4095	291	3804	484.247	1452.741		

Region Measurement - LB2 MT-RHOD 400X 1.oib Z:0 T:0 L:0 ROI:2

	CenterX [um]	CenterY [um]	Area [um^2]	Perimeter [um]	LengthL [um]	LengthS [um]	Integration CH2	Average CH2	Max CH2	Min CH2	Range CH2	StdDev CH2	3StdDev CH2	Integration TD1	Average TD1	Max TD1	Min TD1	Range TD1	StdDev TD1	3StdDev TD1
Count	1	1	1	1	1	1	43158346	164.958	4095	0	4095	571.09	1713.27	3.14E+08	1201.82	4095	305	3790	522.025	1566.074
Average	158.666	158.976	100896	1270.566	317.952	317.331	43158346	164.958	4095	0	4095	571.09	1713.27	3.14E+08	1201.82	4095	305	3790	522.025	1566.074
Max	158.666	158.976	100896	1270.566	317.952	317.331	43158346	164.958	4095	0	4095	571.09	1713.27	3.14E+08	1201.82	4095	305	3790	522.025	1566.074
Min	158.666	158.976	100896	1270.566	317.952	317.331	43158346	164.958	4095	0	4095	571.09	1713.27	3.14E+08	1201.82	4095	305	3790	522.025	1566.074
Range	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
StdDev	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
3StdDev	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
ROI	CenterX [um]	CenterY [um]	Area [um^2]	Perimeter [um]	LengthL [um]	LengthS [um]	Integration CH2	Average CH2	Max CH2	Min CH2	Range CH2	StdDev CH2	3StdDev CH2	Integration TD1	Average TD1	Max TD1	Min TD1	Range TD1	StdDev TD1	3StdDev TD1
2	158.666	158.976	100896	1270.566	317.952	317.331	43158346	164.958	4095	0	4095	571.09	1713.27	3.14E+08	1201.82	4095	305	3790	522.025	1566.074

Region Measurement - LB2 MT-RHOD 400X 2.oib Z:0 T:0 L:0 ROI:2

	CenterX [um]	CenterY [um]	Area [um^2]	Perimeter [um]	Integration CH2	Average CH2	Max CH2	Min CH2	Range CH2	StdDev CH2	3StdDev CH2	Integration TD1	Average TD1	Max TD1	Min TD1	Range TD1	StdDev TD1	3StdDev TD1
Count	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Average	130.99	149.329	87950.44	2081.672	35700422	156.538	4095	0	4095	540.258	1620.773	3.09E+08	1352.753	4095	312	3783	521.057	1563.17
Max	130.99	149.329	87950.44	2081.672	35700422	156.538	4095	0	4095	540.258	1620.773	3.09E+08	1352.753	4095	312	3783	521.057	1563.17
Min	130.99	149.329	87950.44	2081.672	35700422	156.538	4095	0	4095	540.258	1620.773	3.09E+08	1352.753	4095	312	3783	521.057	1563.17
Range	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
StdDev	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3StdDev	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ROI	CenterX [um]	CenterY [um]	Area [um^2]	Perimeter [um]	Integration CH2	Average CH2	Max CH2	Min CH2	Range CH2	StdDev CH2	3StdDev CH2	Integration TD1	Average TD1	Max TD1	Min TD1	Range TD1	StdDev TD1	3StdDev TD1
2	130.99	149.329	87950.44	2081.672	35700422	156.538	4095	0	4095	540.258	1620.773	3.09E+08	1352.753	4095	312	3783	521.057	1563.17

Region Measurement - LB3 MT-RHOD 400X 1.oib Z:0 T:0 L:0 ROI:2

	CenterX	CenterY	Area	Perimeter	LengthL	LengthS	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev
	[um]	[um]	[um^2]	[um]	[um]	[um]	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	
Count	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
Average	158.976	159.287	100501.9	1268.082	317.331	316.71	35199730	135.067	4095	0	4095	516.328	1548.985	3.13E+08	1200.771	4095	300	3795	520.32	1560.96
Max	158.976	159.287	100501.9	1268.082	317.331	316.71	35199730	135.067	4095	0	4095	516.328	1548.985	3.13E+08	1200.771	4095	300	3795	520.32	1560.96
Min	158.976	159.287	100501.9	1268.082	317.331	316.71	35199730	135.067	4095	0	4095	516.328	1548.985	3.13E+08	1200.771	4095	300	3795	520.32	1560.96
Range	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
StdDev	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
3StdDev	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
ROI	CenterX	CenterY	Area	Perimeter	LengthL	LengthS	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev
	[um]	[um]	[um^2]	[um]	[um]	[um]	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	
2	158.976	159.287	100501.9	1268.082	317.331	316.71	35199730	135.067	4095	0	4095	516.328	1548.985	3.13E+08	1200.771	4095	300	3795	520.32	1560.96

Region Measurement - LB3 MT-RHOD 400X 2.oib Z:0 T:0 L:0 ROI:2

	CenterX	CenterY	Area	Perimeter	LengthL	LengthS	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev
	[um]	[um]	[um^2]	[um]	[um]	[um]	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	
Count	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
Average	317.331	317.331	404373.9	2543.616	635.904	635.904	33261343	126.882	4095	0	4095	490.375	1471.126	4.54E+08	1731.12	4095	479	3616	530.07	1590.209
Max	317.331	317.331	404373.9	2543.616	635.904	635.904	33261343	126.882	4095	0	4095	490.375	1471.126	4.54E+08	1731.12	4095	479	3616	530.07	1590.209
Min	317.331	317.331	404373.9	2543.616	635.904	635.904	33261343	126.882	4095	0	4095	490.375	1471.126	4.54E+08	1731.12	4095	479	3616	530.07	1590.209
Range	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
StdDev	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
3StdDev	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
ROI	CenterX	CenterY	Area	Perimeter	LengthL	LengthS	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev
	[um]	[um]	[um^2]	[um]	[um]	[um]	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	
2	317.331	317.331	404373.9	2543.616	635.904	635.904	33261343	126.882	4095	0	4095	490.375	1471.126	4.54E+08	1731.12	4095	479	3616	530.07	1590.209

c. Kenjeran

Region Measurement - LK1 MT-RHOD 400X 1.oib Z:0 T:0 L:0 ROI:2

	CenterX	CenterY	Area	Perimeter	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev
	[um]	[um]	[um^2]	[um]	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	
Count	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
Average	174.051	186.69	91938.74	2068.429	75355978	316.084	4095	0	4095	766.319	2298.958	3.09E+08	1294.981	4095	246	3849	531.35	1594.051
Max	174.051	186.69	91938.74	2068.429	75355978	316.084	4095	0	4095	766.319	2298.958	3.09E+08	1294.981	4095	246	3849	531.35	1594.051
Min	174.051	186.69	91938.74	2068.429	75355978	316.084	4095	0	4095	766.319	2298.958	3.09E+08	1294.981	4095	246	3849	531.35	1594.051
Range	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
StdDev	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
3StdDev	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
ROI	CenterX	CenterY	Area	Perimeter	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev
	[um]	[um]	[um^2]	[um]	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	
2	174.051	186.69	91938.74	2068.429	75355978	316.084	4095	0	4095	766.319	2298.958	3.09E+08	1294.981	4095	246	3849	531.35	1594.051

Region Measurement - LK1 MT-RHOD 400X 2.oib Z:0 T:0 L:0 ROI:2

	CenterX	CenterY	Area	Perimeter	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev
	[um]	[um]	[um^2]	[um]	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	
Count	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
Average	152.983	136.46	96133.75	1560.178	76665690	307.545	4095	0	4095	762.198	2286.593	2.84E+08	1139.367	4095	308	3787	545.956	1637.867
Max	152.983	136.46	96133.75	1560.178	76665690	307.545	4095	0	4095	762.198	2286.593	2.84E+08	1139.367	4095	308	3787	545.956	1637.867
Min	152.983	136.46	96133.75	1560.178	76665690	307.545	4095	0	4095	762.198	2286.593	2.84E+08	1139.367	4095	308	3787	545.956	1637.867
Range	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
StdDev	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
3StdDev	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
ROI	CenterX	CenterY	Area	Perimeter	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev
	[um]	[um]	[um^2]	[um]	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	
2	152.983	136.46	96133.75	1560.178	76665690	307.545	4095	0	4095	762.198	2286.593	2.84E+08	1139.367	4095	308	3787	545.956	1637.867

Region Measurement - LK2 MT-RHOD 400X 1.oib Z:0 T:0 L:0 ROI:2

	CenterX	CenterY	Area	Perimeter	LengthL	LengthS	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev
	[um]	[um]	[um^2]	[um]	[um]	[um]	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	
Count	1	1	1	1	1	1	1.41E+08	538.778	4095	0	4095	1002.739	3008.217	2.75E+08	1048.699	4095	396	3699	400.979	1202.938
Average	158.666	158.666	101093.5	1271.808	317.952	317.952	1.41E+08	538.778	4095	0	4095	1002.739	3008.217	2.75E+08	1048.699	4095	396	3699	400.979	1202.938
Max	158.666	158.666	101093.5	1271.808	317.952	317.952	1.41E+08	538.778	4095	0	4095	1002.739	3008.217	2.75E+08	1048.699	4095	396	3699	400.979	1202.938
Min	158.666	158.666	101093.5	1271.808	317.952	317.952	1.41E+08	538.778	4095	0	4095	1002.739	3008.217	2.75E+08	1048.699	4095	396	3699	400.979	1202.938
Range	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
StdDev	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
3StdDev	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
ROI	CenterX	CenterY	Area	Perimeter	LengthL	LengthS	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev
	[um]	[um]	[um^2]	[um]	[um]	[um]	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	
2	158.666	158.666	101093.5	1271.808	317.952	317.952	1.41E+08	538.778	4095	0	4095	1002.739	3008.217	2.75E+08	1048.699	4095	396	3699	400.979	1202.938

Region Measurement - LK2 MT-RHOD 400X 2.oib Z:0 T:0 L:0 ROI:2

	CenterX	CenterY	Area	Perimeter	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev		
	[um]	[um]	[um^2]	[um]	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1		
Count	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	4095	790.067	2370.202	3.19E+08	1321.883	4095	304	3791	543.471	1630.413
Average	163.247	176.797	92974.19	1668.877	80848290	335.345	4095	0	4095	790.067	2370.202	3.19E+08	1321.883	4095	304	3791	543.471	1630.413		
Max	163.247	176.797	92974.19	1668.877	80848290	335.345	4095	0	4095	790.067	2370.202	3.19E+08	1321.883	4095	304	3791	543.471	1630.413		
Min	163.247	176.797	92974.19	1668.877	80848290	335.345	4095	0	4095	790.067	2370.202	3.19E+08	1321.883	4095	304	3791	543.471	1630.413		
Range	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
StdDev	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
3StdDev	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
ROI	CenterX	CenterY	Area	Perimeter	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev	Integration	Average	Max	Min	Range	StdDev	3StdDev		
	[um]	[um]	[um^2]	[um]	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	CH2	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1	TD1		
2	163.247	176.797	92974.19	1668.877	80848290	335.345	4095	0	4095	790.067	2370.202	3.19E+08	1321.883	4095	304	3791	543.471	1630.413		

Region Measurement - LK3 MT-RHOD 400X 1.oib Z:0 T:0 L:0 ROI:2

	CenterX [um]	CenterY [um]	Area [um^2]	Perimeter [um]	Integration CH2	Average CH2	Max CH2	Min CH2	Range CH2	StdDev CH2	3StdDev CH2	Integration TD1	Average TD1	Max TD1	Min TD1	Range TD1	StdDev TD1	3StdDev TD1
Count	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
Average	164.991	145.471	95042.38	1676.076	68604608	278.368	4095	0	4095	724.111	2172.334	3.28E+08	1329.404	4095	329	3766	526.116	1578.348
Max	164.991	145.471	95042.38	1676.076	68604608	278.368	4095	0	4095	724.111	2172.334	3.28E+08	1329.404	4095	329	3766	526.116	1578.348
Min	164.991	145.471	95042.38	1676.076	68604608	278.368	4095	0	4095	724.111	2172.334	3.28E+08	1329.404	4095	329	3766	526.116	1578.348
Range	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
StdDev	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
3StdDev	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
ROI	CenterX [um]	CenterY [um]	Area [um^2]	Perimeter [um]	Integration CH2	Average CH2	Max CH2	Min CH2	Range CH2	StdDev CH2	3StdDev CH2	Integration TD1	Average TD1	Max TD1	Min TD1	Range TD1	StdDev TD1	3StdDev TD1
2	164.991	145.471	95042.38	1676.076	68604608	278.368	4095	0	4095	724.111	2172.334	3.28E+08	1329.404	4095	329	3766	526.116	1578.348

Region Measurement - LK3 MT-RHOD 400X 2.oib Z:0 T:0 L:0 ROI:2

	CenterX [um]	CenterY [um]	Area [um^2]	Perimeter [um]	LengthL [um]	LengthS [um]	Integration CH2	Average CH2	Max CH2	Min CH2	Range CH2	StdDev CH2	3StdDev CH2	Integration TD1	Average TD1	Max TD1	Min TD1	Range TD1	StdDev TD1	3StdDev TD1
Count	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
Average	158.666	158.666	101093.5	1271.808	317.952	317.952	72797737	277.701	4095	0	4095	714.462	2143.387	3.45E+08	1317.972	4095	283	3812	538.018	1614.055
Max	158.666	158.666	101093.5	1271.808	317.952	317.952	72797737	277.701	4095	0	4095	714.462	2143.387	3.45E+08	1317.972	4095	283	3812	538.018	1614.055
Min	158.666	158.666	101093.5	1271.808	317.952	317.952	72797737	277.701	4095	0	4095	714.462	2143.387	3.45E+08	1317.972	4095	283	3812	538.018	1614.055
Range	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
StdDev	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
3StdDev	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
ROI	CenterX [um]	CenterY [um]	Area [um^2]	Perimeter [um]	LengthL [um]	LengthS [um]	Integration CH2	Average CH2	Max CH2	Min CH2	Range CH2	StdDev CH2	3StdDev CH2	Integration TD1	Average TD1	Max TD1	Min TD1	Range TD1	StdDev TD1	3StdDev TD1
2	158.666	158.666	101093.5	1271.808	317.952	317.952	72797737	277.701	4095	0	4095	714.462	2143.387	3.45E+08	1317.972	4095	283	3812	538.018	1614.055

Lampiran 12. Dokumentasi Penelitian

	
Persiapan Pengambilan Sampel Air, Sedimen dan Kerang Hijau (<i>Perna viridis L.</i>) di Perairan Banyu Urip	Bagan Tempat Pengambilan Kerang Hijau (<i>Perna viridis L.</i>)
	
Pengukuran Kualitas Air di Perairan Banyu Urip (Suhu dan DO)	Hasil Pengambilan Kerang Hijau (<i>Perna viridis L.</i>) dan selanjutnya dilakukan Pensortiran
	
Pembedahan Kerang Hijau (<i>Perna viridis L.</i>) untuk diambil Insang, Lambung dan Otot	Persiapan Deparafinisasi
	
Pemberian Antibodi Anti Metallothionein	Pengamatan dengan Menggunakan Confocal Laser Scanning Microscopy