KADAR METALLOTHIONEIN PADA SIPUT SUSUH KURA (*Sulcospira testudinaria*) DI ALIRAN SUNGAI BRANTAS WILAYAH MOJOKERTO DAN SURABAYA, JAWA TIMUR

SKRIPSI

Oleh:

TRIYAS PALUPI
NIM. 155080100111010

PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019

KADAR METALLOTHIONEIN PADA SIPUT SUSUH KURA (*Sulcospira testudinaria*) DI ALIRAN SUNGAI BRANTAS WILAYAH MOJOKERTO DAN SURABAYA, JAWA TIMUR

SKRIPSI

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

Oleh:

TRIYAS PALUPI
NIM. 155080100111010

PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

SKRIPSI

KADAR METALLOTHIONEIN PADA SIPUT SUSUH KURA (*Sulcospira testudinaria*) DI ALIRAN SUNGAI BRANTAS WILAYAH MOJOKERTO DAN SURABAYA, JAWA TIMUR

Oleh:
TRIYAS PALUPI
NIM. 155080100111010

Telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 30 April 2019
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

Dosen Pembimbing I

(Dr. Ir. Mulyanto, M.Si)
NIP. 19600317 198602 1 001
Tanggal: 14 MAY 2019

Dosen Pembimbing II

(Dr. Asus Maizar S.H., S.Pi, MP)
NIP. 19720529 200312 1 001
Tanggal: 14 MAY 2019

Mengetahui,
Ketua Jurusan Manajemen Sumberdaya Perairan

(Dr. Ir. M. Firdaus, MP)
NIP. 19680919 200501 1 001
Tanggal: 14 MAY 2019

repository.ub.ac.id

IDENTITAS TIM PENGUJI

Judul	**:**	**KADAR METALLOTHIONEIN PADA SIPUT SUSUH KURA (*Sulcospira testudinaria*) DI ALIRAN SUNGAI BRANTAS WILAYAH MOJOKERTO DAN SURABAYA, JAWA TIMUR**
Nama Mahasiswa	:	TRIYAS PALUPI
NIM	:	155080100111010
Program Studi	:	Manajemen Sumberdaya Perairan
PENGUJI PEMBIMBING:		
Pembimbing 1	:	Dr. Ir. Mulyanto, M.Si
Pembimbing 2	:	Dr. Asus Maizar Suryanto H., S.Pi, MP
PENGUJI BUKAN PEMBIMBING:		
Penguji 1	:	Dr. Uun Yanuhar, S.Pi, M.Si
Penguji 2	:	Evellin Dewi Lusiana, S.Si, M.Si
Tanggal Ujian	:	30 April 2019

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi dengan judul **"Kadar Metallothionein pada Siput Susuh Kura (*Sulcospira testudinaria*) di Aliran Sungai Brantas Wilayah Mojokerto dan Surabaya, Jawa Timur"** yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

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

Malang, April 2019
Mahasiswa

Triyas Palupi
NIM. 155080100111010

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada seluruh pihak yang telah berperan serta dalam membantu kelancaran kegiatan hingga terselesaikannya skripsi ini. Ucapan terima kasih ini ditujukan kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan kesehatan, keberkahan, dan karunia-Nya kepada penulis.
2. Kedua orang tua Bapak Ahmad Toha dan Ibu Ida Dwidasari yang selalu mendoakan anaknya dari jauh dan memberi dukungan lahir batin serta ridho yang tak pernah putus.
3. Keluarga besar dari kedua orang tua yang selalu memberi dukungan dan doa.
4. Prof. Dr. Ir. Happy Nursyam, MS selaku Dekan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.
5. Bapak Dr. Ir. M. Firdaus, MP selaku Ketua Jurusan Manajemen Sumberdaya Perairan.
6. Ibu Dr. Uun Yanuhar, S.Pi, M.Si selaku Ketua Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan.
7. Bapak Dr. Ir. Mulyanto, M.Si dan Bapak Dr. Asus Maizar Suryanto Hertika, S.Pi, MP selaku dosen pembimbing yang telah banyak memberikan ilmu, bimbingan, kritik, dan saran yang sangat membangun.
8. Ibu Dr. Uun Yanuhar, S.Pi, M.Si dan Ibu Evellin Dewi Lusiana, S.Si, M.Si selaku dosen penguji yang telah memberi kritik dan saran yang sangat bermanfaat.
9. Adik kandung “Junio Ajuma Al-Abror” dan sepupu ku yang selalu memberi dukungan tanpa henti.

10. *My long distance friendship* “Riyan Septiarum, Tejawati Lianingsih, dan Bella Amanda” yang selalu memberi support dari jauh, menjadikan penulis lebih dewasa dan percaya diri, dan berjuang meraih gelar sarjana bersama.
11. Perempuan tangguh “Diana Ilyas, Anisa Retno, Afni Hasanah, Aldena Binar, Cesarlia Dwi, dan Puspita Eka” yang selalu ada saat suka maupun duka mulai dari maba hingga semester akhir.
12. *Kostmate* Puri Bunga Cluster B “Diana, Norma, Nisfuah, Kak Grace, Kak Yanti, Nun Arsy, Ezra, Ismi, dan Etha”.
13. Teman-teman satu bimbingan Pak Asus dan Pak Mulyanto yang selalu memberi dukungan.
14. *Partner* setia penulis dari jauh “Wahyu Rianto” yang selalu menjadi tempat curahan hati dalam suka duka skripsi.
15. Perempuan tempat berbagi rasa “Nur Sakinah, Arum Sukma, Gabriella”.
16. Teman-teman PSDM Humanera periode 2016/2017 “Vida, Robby, Faisal, Fahmi, Saddam, Biandi, Yoga”.
17. Teman-teman Asisten Biokimia 2018/2019.
18. Teman-teman MSP 2015 yang banyak membantu selama 8 semester ini.
19. Teman-teman “PESIAR” yang telah menjadi penghibur dan menjadi tempat dalam melepas penat.
20. Semua pihak lainnya yang secara langsung ataupun tidak langsung dan sengaja ataupun tidak sengaja membantu dalam penyelesaian laporan ini.

Malang, April 2019

Penulis

repository.ub.ac.id

RINGKASAN

TRIYAS PALUPI. Kadar Metallothionein pada Siput Susuh Kura (*Sulcospira testudinaria*) di Aliran Sungai Brantas Wilayah Mojokerto dan Surabaya, Jawa Timur (di bawah bimbingan **Dr. Ir. Mulyanto, M.Si** dan **Dr. Asus Maizar Suryanto Hertika, S.Pi, MP**)

Pencemaran air di sungai menjadi salah satu permasalahan yang banyak terjadi di Indonesia. Pencemaran air akibat aktivitas manusia biasanya berasal dari buangan limbah seperti pertanian, peternakan, pemukiman, dan industri. Buangan limbah yang masuk ke dalam perairan mengandung logam berat yang dapat menurunkan kualitas perairan. Selain itu, logam berat di perairan juga dapat berpotensi terakumulasi dalam tubuh organisme seperti siput. Salah satu siput yang banyak ditemukan di sungai adalah *Sulcospira testudinaria*. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk menganalisis kadar logam berat (Pb, Cd, dan Hg) pada keseluruhan organ siput *Sulcospira testudinaria*, lalu untuk menganalisis kadar metallothionein (MT) pada keseluruhan organ siput *Sulcospira testudinaria* dan untuk menganalisis hubungan antara kadar Pb, Cd, dan Hg dengan kadar metallothionein (MT) pada keseluruhan organ siput *Sulcospira testudinaria*. Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari hingga Maret 2019 di aliran Sungai Brantas wilayah Mojokerto dan Surabaya, Jawa Timur.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode deskriptif dengan teknik survei. Lokasi penelitian dibagi menjadi tiga stasiun dan setiap stasiun ditentukan tiga sub stasiun serta dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali pengambilan pada setiap sub stasiun. Setiap stasiun diambil sampel siput dan diukur kualitas air secara insitu. Kualitas air yang diukur antara lain suhu, pH, dan oksigen terlarut (*Dissolved Oxygen*/DO). Siput *Sulcospira testudinaria* yang diambil pada setiap stasiun dibedah dan diambil keseluruhan organnya lalu dilakukan analisis kadar Pb, Cd, dan Hg di Laboratorium Kimia Analitik FMIPA Universitas Brawijaya dan analisis kadar metallothionein (MT) dengan menggunakan prosedur ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) di Laboratorium Ilmu FAAL Divisi Fisiologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Kadar Pb, Cd, dan Hg pada keseluruhan organ siput *Sulcospira testudinaria* di ketiga stasiun penelitian diperoleh hasil yaitu stasiun 1 dengan kadar Pb 0,0228 – 0,0464 ppm, Cd 0,0098 – 0,0245 ppm, dan Hg 0,0130 – 0,0289 ppm. Stasiun 2 dengan kadar Pb 0,0145 – 0,0620 ppm, Cd 0,0054 – 0,0422 ppm, dan Hg 0,0121 – 0,0498 ppm. Stasiun 3 dengan kadar Pb 0,0358 – 0,1240 ppm, Cd 0,0149 – 0,0478 ppm, dan Hg 0,0194 – 0,0667 ppm. Secara keseluruhan kadar Pb, Cd, dan Hg masih dalam kategori aman menurut SNI 2009. Kadar metallothionein (MT) pada keseluruhan organ siput *Sulcospira testudinaria* di setiap stasiun penelitian diperoleh hasil yaitu stasiun 1 berkisar 0,2486 – 0,5589 ng/mL, stasiun 2 berkisar 0,2467 – 0,7133 ng/mL, dan stasiun 3 berkisar 0,2591 – 1,0566 ng/mL. Sedangkan untuk hasil pengukuran kualitas air pada stasiun 1 diperoleh nilai suhu 28,4 – 30^{o}C; pH 6,9 – 7,4; dan DO 7,1 – 8,1 ppm. Stasiun 2 diperoleh nilai suhu 28,6 – 30,1^{o}C; pH 6,8 – 7,4; dan DO 5,4 – 7,7 ppm. Stasiun 3 diperoleh nilai suhu 29 – 32^{o}C; pH 6,4 – 6,9; dan DO 5,6 – 7,1 ppm. Berdasarkan pengukuran kualitas air yang diperoleh menunjukkan bahwa hasil tersebut masih layak untuk kehidupan organisme di perairan. Hubungan antara kadar logam berat dengan kadar metallothionein pada siput *Sulcospira testudinaria* ditunjukkan

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

melalui analisis regresi linear sederhana. Hasil analisis regresi pada stasiun 1 diperoleh nilai koefisien korelasi (R) yaitu Pb dan MT 0,862; Cd dan MT 0,867; serta Hg dan MT 0,885. Stasiun 2 diperoleh nilai koefisien korelasi (R) yaitu Pb dan MT 0,924; Cd dan MT 0,889; serta Hg dan MT 0,908. Stasiun 3 diperoleh nilai koefisien korelasi (R) yaitu Pb dan MT 0,985; Cd dan MT 0,964; serta Hg dan MT 0,972. Nilai koefisien korelasi yang diperoleh pada ketiga stasiun menunjukkan hubungan yang kuat antara logam berat Pb, Cd, dan Hg dengan metallothionein. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar logam berat (Pb, Cd, dan Hg) terhadap kadar metallothionein (MT) pada keseluruhan organ siput *Sulcospira testudinaria* memiliki hubungan yang kuat, sehingga hal tersebut dapat dijadikan sebagai biomarker dalam pencemaran perairan. Selain itu, dari hasil penelitian ini juga diperlukan *monitoring* secara berkala dan adanya konservasi terhadap perairan sungai agar tetap terjaga kualitasnya.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, dengan segala rasa syukur kehadirat Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat dan berkah-Nya kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan laporan skripsi dengan judul "**Kadar Metallothionein pada Siput Susuh Kura (*Sulcospira testudinaria*) di Aliran Sungai Brantas Wilayah Mojokerto dan Surabaya, Jawa Timur".** Penulis menyadari bahwa laporan ini masih jauh dari kata sempurna dan memiliki banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun sehingga dapat lebih disempurnakan lagi untuk kebutuhan selanjutnya. Semoga laporan ini dapat diterima dan bermanfaat bagi kita semua.

Malang, April 2019

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL ..... **ii**

HALAMAN PENGESAHAN ..... **iii**

IDENTITAS TIM PENGUJI ..... **iv**

PERNYATAAN ORISINALITAS ..... **v**

UCAPAN TERIMA KASIH ..... **vi**

RINGKASAN ..... **viii**

KATA PENGANTAR ..... **x**

DAFTAR ISI ..... **xi**

DAFTAR TABEL ..... **xiii**

DAFTAR GAMBAR ..... **xiv**

DAFTAR LAMPIRAN ..... **xv**

1. PENDAHULUAN **1**
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 4
1.3 Tujuan Penelitian 5
1.4 Kegunaan Penelitian 6
1.5 Tempat dan Waktu 6

2. TINJAUAN PUSTAKA **7**
2.1 Sungai Brantas 7
2.2 Gastropoda 8
2.2.1 Biologi Gastropoda 8
2.2.2 Morfologi Gastropoda 8
2.2.3 Klasifikasi *Sulcospira testudinaria* 9
2.2.4 Habitat dan Kebiasaan Makan Gastropoda 10
2.3 Metallothionein (MT) 10
2.4 Mekanisme Pengikatan Logam Berat oleh Metallothionein 16
2.5 Pengamatan Metallothionein (MT) dengan Metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) 17
2.6 Logam Berat 20
2.6.1 Timbal (Pb) 21
2.6.2 Cadmium (Cd) 22
2.6.3 Merkuri (Hg) 23
2.7 Parameter Kualitas Air 24
2.7.1 Suhu 24
2.7.2 Derajat Keasaman (pH) 25
2.7.3 Oksigen Terlarut 26

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN 27
3.1 Materi Penelitian 27
3.2 Alat dan Bahan 27
3.3 Metode Penelitian 27
3.4 Prosedur Penelitian 29
3.4.1 Penentuan Stasiun Penelitian 29
3.4.2 Pengambilan Sampel Siput *Sulcospira testudinaria* 29
3.5 Analisis Sampel 30
3.5.1 Logam Berat dalam Keseluruhan Organ Siput *S. testudinaria* 30
3.5.2 Kadar Metallothionein dalam Siput *Sulcospira testudinaria* 31
3.6 Analisis Data 32
3.7 Analisis Kualitas Air 33
3.7.1 Suhu 33
3.7.2 Derajat Keasaman (pH) 33
3.7.3 Oksigen Terlarut 34

4. HASIL DAN PEMBAHASAN 35
4.1 Kondisi Umum Stasiun 1 (Kecamatan Bangsal, Mojokerto) 35
4.2 Kondisi Umum Stasiun 2 (Kecamatan Mojoanyar, Mojokerto) 36
4.3 Kondisi umum Stasiun 3 (Kecamatan Karang Pilang, Surabaya) 37
4.4 Kadar Logam Berat Pada Keseluruhan organ Siput *S. testudinaria* 39
4.5 Kadar Metallothionein Pada Keseluruhan organ Siput *S. testudinaria* 43
4.6 Hubungan Kadar Logam Berat Terhadap Kadar Metallothionein pada Siput *Sulcospira testudinaria* 46
4.6.1 Hubungan Kadar Logam Berat Terhadap Kadar Metallothionein pada Siput *Sulcospira testudinaria* (Stasiun 1) 46
4.6.2 Hubungan Kadar Logam Berat Terhadap Kadar Metallothionein pada Siput *Sulcospira testudinaria* (Stasiun 2) 48
4.6.3 Hubungan Kadar Logam Berat Terhadap Kadar Metallothionein pada Siput *Sulcospira testudinaria* (Stasiun 3) 51
4.7 Parameter Kualitas Air 53
4.7.1 Suhu 54
4.7.2 Derajat keasaman (pH) 55
4.7.3 Oksigen Terlarut 57

5. KESIMPULAN DAN SARAN 59
5.1 Kesimpulan 59
5.2 Saran 59

DAFTAR PUSTAKA 60

LAMPIRAN 67

repository.ub.ac.id

DAFTAR TABEL

Tabel **Halaman**

1. Hasil penelitian kadar metallothionein (MT) dan logam berat 12

2. Uji standarisasi Z (Z-*score*) stasiun 1 47

3. Uji standarisasi Z (Z-*score*) stasiun 2 50

4. Uji standarisasi Z (Z-*score*) stasiun 3 52

5. Hasil pengukuran kualitas air 54

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DAFTAR GAMBAR

Gambar **Halaman**

1. Bagan alur perumusan masalah 4
2. *Sulcospira testudinaria* (Marwoto dan Isnaningsih, 2012) 9
3. Struktur kimia metallothionein (Artanti, 2005; Rakhmawati, 2006) 11
4. Regulasi fungsi protein melalui mekanisme redoks..... 15
5. Metallothionein yang mengikat logam Cd (Klaassen *et al*., 1999) 16
6. Metode Indirect ELISA (Voller *et al*., 1978) 19
7. Sampel siput penelitian..... 30
8. Lokasi stasiun 1 (a) sub stasiun 1 (b) sub stasiun 2 (c) sub stasiun 3 36
9. Lokasi stasiun 2 (a) sub stasiun 1 (b) sub stasiun 2 (c) sub stasiun 3 37
10. Lokasi stasiun 3 (a) sub stasiun 1 (b) sub stasiun 2 (c) sub stasiun 3 38
11. Grafik rata-rata kadar logam berat pada keseluruhan organ *S.testudinaria*.... 39
12. Grafik rata-rata kadar metallothionein (MT) pada keseluruhan organ *S.testudinaria* 44
13. Grafik hubungan antara logam berat Pb (A), Cd (B), dan Hg (C) terhadap kadar metallothionein dalam keseluruhan organ *S.testudinaria* (Stasiun 1)... 46
14. Grafik hubungan antara logam berat Pb (A), Cd (B), dan Hg (C) terhadap kadar metallothionein dalam keseluruhan organ *S.testudinaria* (Stasiun 2)... 49
15. Grafik hubungan antara logam berat Pb (A), Cd (B), dan Hg (C) terhadap kadar metallothionein dalam keseluruhan organ *S.testudinaria* (Stasiun 3)... 51
16. Grafik pengukuran suhu..... 54
17. Grafik pengukuran pH..... 56
18. Grafik pengukuran oksigen terlarut 57

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran **Halaman**

1. Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian 67

2. Peta lokasi penelitian 69

3. Data hasil logam berat pada keseluruhan organ siput *S. testudinaria* 71

4. Kadar metallothionein pada keseluruhan organ siput *S.testudinaria* 73

5. Output analisis regresi linear 75

6. Dokumentasi penelitian 84

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Makhluk hidup sangat bergantung terhadap sumber daya alam. Salah satu sumber daya alam yang memiliki fungsi penting bagi makhluk hidup adalah air. Sumber daya air merupakan suatu komponen lingkungan hidup yang mempengaruhi kelangsungan hidup baik manusia maupun makhluk hidup lainnya (PP No. 82 Tahun 2001). Sampai saat ini, sumber daya air masih menjadi permasalahan utama di Indonesia yaitu pencemaran. Salah satu pencemaran air yang banyak terjadi adalah di perairan sungai. Menurut Agustiningsih *et al*. (2012), sungai berfungsi sebagai wadah pengaliran air yang berada di posisi paling rendah dalam landskap bumi. Kualitas air sungai dipengaruhi oleh kualitas pasokan air yang berasal dari daerah tangkapan dan hal tersebut berkaitan dengan aktivitas manusia yang ada di dalamnya. Perubahan kualitas air pada aliran sungai menunjukkan dampak dari buangan penggunaan lahan yang ada. Beberapa aktivitas manusia dalam memenuhi kebutuhan hidupnya yang berasal dari rumah tangga, pertanian, peternakan, dan kegiatan industri akan menghasilkan limbah yang dapat menyebabkan penurunan kualitas air sungai.

Salah satu sungai yang terindikasi mengalami pencemaran adalah Sungai Brantas. Menurut Ratih *et al*. (2015), Sungai Brantas merupakan sungai terpanjang kedua di Pulau Jawa setelah Sungai Bengawan Solo yang terletak di Provinsi Jawa Timur. Sungai ini melewati beberapa kota di Jawa Timur seperti Malang, Blitar, Tulungagung, Kediri, Jombang, Mojokerto, dan bermuara di Kota Surabaya. Jumlah penduduk di wilayah aliran Sungai Brantas terdapat ±14 juta jiwa dan sebagian besar bergantung pada sumber daya air yang menjadi sumber utama sebagai kebutuhan air baku untuk keperluan rumah tangga, industri, irigasi, dan lain-lain. Aktivitas manusia memiliki kontribusi yang cukup besar terhadap

pencemaran perairan. Beberapa aktivitas manusia yang dapat mempengaruhi kualitas perairan sungai yaitu buangan limbah rumah tangga, limbah industri dan domestik, sampah yang dibuang sembarangan, dan sebagainya. Salah satu aliran Sungai Brantas yang dijadikan sebagai objek penelitian yaitu di wilayah Kabupaten Mojokerto dan Kota Surabaya. Berdasarkan data Pemkab Mojokerto, pemanfaatan lahan yang cukup luas di Kabupaten Mojokerto diantaranya yaitu area pemukiman dan pertanian. Luas lahan yang dimanfaatkan sebagai area pemukiman mencapai 13,66% dan area pertanian mencapai 38,27% dari luas wilayah Kabupaten Mojokerto. Kota Surabaya dikenal sebagai kota industri di Jawa Timur sehingga dugaan pencemaran berasal dari aktivitas industri yang tepatnya berlokasi di Kecamatan Karang Pilang. Akibat dari hal tersebut maka kualitas perairan sungai akan semakin menurun dan menyebabkan pencemaran. Menurut Pasal 1 UURI No. 32 Tahun 2009, pencemaran lingkungan hidup merupakan masuk atau dimasukkannya makhluk hidup, energi, zat, atau komponen lain ke dalam lingkungan hidup oleh kegiatan manusia sehingga melampaui baku mutu lingkungan hidup yang telah ditetapkan.

Penyebab pencemaran perairan di sungai yang banyak terjadi berasal dari logam berat yang terkandung dalam limbah. Logam berat merupakan zat yang berbahaya karena sifatnya *non degradable* atau susah untuk diuraikan (Djuangsih *et al*., 1982). Keberadaan logam berat di perairan dapat mengganggu proses fisiologis biota akuatik. Logam berat dapat terakumulasi di dalam tubuh makhluk hidup sehingga kadar logam berat di dalam tubuh biota lebih tinggi daripada di lingkungan sekitarnya. Selain itu, logam berat juga dapat mengalami biomagnifikasi yaitu terjadi peningkatan kadar logam berat pada organisme dalam trofik yang lebih tinggi dalam suatu rantai makanan (Effendie, 2003). Logam berat yang masuk ke muara sungai atau estuari akan tersebar dan mengalami proses pengendapan sehingga terjadi penyebaran zat pencemar baik pada air, sedimen

maupun organisme. Sumber logam berat biasanya berasal dari limbah baik limbah industri, pertanian, perkebunan, maupun rumah tangga (Rochyantun *et al*., 2006).

Salah satu penemuan yang dapat dijadikan sebagai respon dini tingkat molekuler terhadap pencemaran logam berat adalah metallothionein (MT). Protein metallothionein disebut sebagai *metal binding protein* atau protein pengikat logam yang berperan dalam proses pengikatan logam di dalam jaringan setiap makhluk hidup. Metallothionein bersifat spesifik, *early warning*, dan sensitif sebagai biomarker, serta universal yang dapat digunakan baik penelitian skala laboratorium maupun perairan bebas (Bebianno *et al*., 2003). Metallothionein merupakan protein yang sangat peka dan akurat sebagai indikator pencemaran. Protein ini dapat ditemukan di berbagai golongan makhluk hidup (misalnya ikan, mamalia, moluska) dan di berbagai tingkat jaringan atau organ (misalnya ginjal, hati, insang, usus, otot, eritrosit). Konsentrasi metallothionein pada jaringan seperti hati, ginjal, dan kelenjar pencernaan akan meningkat apabila organisme terkontaminasi oleh logam berat (Lasut, 2002). Metallothionein juga memiliki peranan penting terhadap pertahanan detoksifikasi logam non esensial seperti timbal (Pb), cadmium (Cd), dan merkuri (Hg) (Carpene *et al*., 2007). Diantara berbagai macam logam berat, Hg dan Cd menjadi urutan pertama dan kedua untuk tingkat toksiknya. Setelah itu urutan tingkat toksik logam berat lainnya yaitu Ag, Ni, Pb, As, Cr, Sn, dan Zn (Waldichuk, 1974).

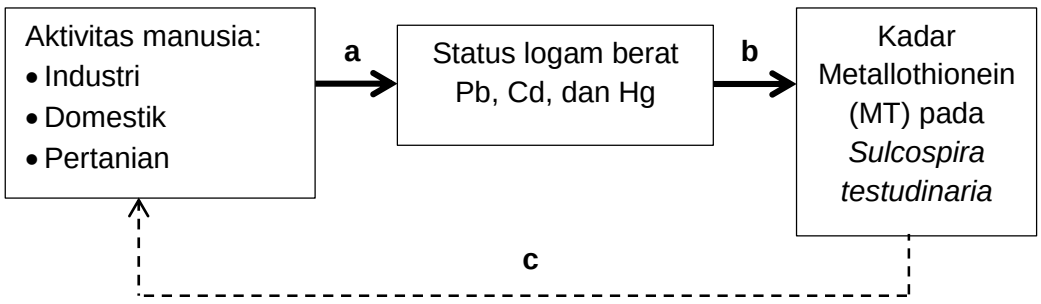
Organisme perairan yang tercemar logam berat memiliki daya tahan yang berbeda-beda. Salah satu kelompok organisme yang dapat menjadi biomarker terhadap pencemaran adalah dari golongan gastropoda. Biasanya gastropoda ada di dasar sungai ataupun tepi sungai. Kelas ini memiliki anggota yang bervariasi dan keanekaragaman hayatinya tinggi. Bentuknya asimetris karena memiliki torsi dan secara umum cangkangnya berbentuk kerucut atau konde yang berbentuk tabung melingkar (Barnes, 1987). Gastropoda dapat tumbuh dan berkembang

pada sedimen yang halus dan dapat beradaptasi dengan lingkungan perairan yang tipe substratnya berlumpur. Menurut Hitalessy *et al*. (2015), gastropoda merupakan biota yang dapat mensirkulasi zat-zat yang tersuspensi dalam air untuk mendapatkan makanan. Distribusi dan kelimpahan gastropoda dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti ketersediaan makanan, pemangsaan, dan kompetisi.

Pencemaran logam berat di perairan sungai dapat dideteksi secara dini melalui pengukuran kadar metallothionein. Logam berat yang dijadikan sebagai objek penelitian yaitu Pb, Cd, dan Hg. Ketiga logam tersebut merupakan logam dengan toksisitas tinggi di perairan dan merupakan logam non esensial yang tidak memiliki manfaat dalam tubuh organisme. Salah satu perairan sungai yang diduga mengalami pencemaran logam berat adalah Sungai Brantas di Jawa Timur. Sungai ini banyak ditemukan gastropoda dengan jenis *Sulcospira testudinaria*. Dengan demikian, penelitian ini dilakukan untuk mendeteksi pencemaran logam berat Pb, Cd, dan Hg melalui kadar metallothionein dalam jaringan *Sulcospira testudinaria* serta untuk mengontrol dan melakukan evaluasi terhadap kualitas perairan di Sungai Brantas tepatnya di wilayah Mojokerto dan Surabaya.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas mengenai permasalahan pencemaran akibat logam berat di perairan sungai maka rumusan masalah dalam penelitian ini dapat digambarkan sebagai berikut:



Gambar 1. Bagan alur perumusan masalah

Keterangan:

a. Aktivitas manusia di sekitar perairan Sungai Brantas daerah Mojokerto dan Surabaya seperti industri (seperti keramik, perabotan rumah tangga, farmasi, plastik, semen, dll), domestik (seperti bekas cucian, kotoran manusia, sampah, dll), dan pertanian (seperti pupuk, pestisida, dll) akan menghasilkan limbah dan jika dibuang langsung ke perairan maka dapat menimbulkan logam berat seperti Pb, Cd, dan Hg.
b. Konsentrasi logam berat (Pb, Cd, dan Hg) yang tercemar di perairan akan mempengaruhi kandungan metallothionein pada tubuh organisme dan objek penelitian ini menggunakan spesies *Sulcospira testudinaria*.
c. Kadar metallothionein dalam siput *Sulcospira testudinaria* dapat dijadikan sebagai biomarker pencemaran perairan akibat logam berat (Pb, Cd, dan Hg) sehingga dapat dijadikan acuan dasar dalam pengendalian pencemaran perairan dari aktivitas manusia di sekitar aliran Sungai Brantas wilayah Mojokerto dan Surabaya.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk menganalisis kadar logam berat pada keseluruhan organ siput *Sulcospira testudinaria.*
2. Untuk menganalisis kadar metallothionein (MT) pada keseluruhan organ siput *Sulcospira testudinaria.*
3. Untuk menganalisis hubungan antara kadar logam berat dengan kadar metallothionein pada keseluruhan organ siput *Sulcospira testudinaria.*

1.4 Kegunaan Penelitian

Kegunaan dari penelitian ini yaitu dapat menjadi sumber informasi dan wawasan dalam mengambil kebijakan dalam pengelolaan dan pemanfaatan aliran sungai serta dapat mengendalikan aktivitas penduduk sekitar daerah aliran sungai guna mengurangi pencemaran air. Selain itu juga dapat dijadikan salah satu sumber bagi ilmu pengetahuan dan teknologi dalam bidang biomarker lingkungan perairan dengan mengetahui kandungan metallothionein pada spesies *Sulcospira testudinaria*.

1.5 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari sampai Maret 2019 di daerah Mojokerto dan Surabaya. Analisis kadar metallothionein dengan prosedur ELISA dilakukan di Laboratorium Ilmu FAAL Divisi Fisiologi Molekuler Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya. Sedangkan untuk kualitas air dilakukan secara insitu dan analisis logam berat Pb, Cd, Hg dilakukan di Laboratorium Kimia Analitik Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sungai Brantas

Air sungai adalah salah satu sumber daya alam yang memiliki peranan penting bagi kebutuhan hidup manusia. Sungai memenuhi berbagai kebutuhan manusia seperti mandi, minum, masak, dan mencuci. Secara umum, sungai merupakan kesatuan ekosistem dengan unsur utamanya yaitu sumber daya alam tanah, air, vegetasi, dan sumber daya manusia sebagai pelaku pemanfaat sumber daya. Sungai menjadi wilayah yang sangat mempengaruhi ketersediaan air untuk berbagai penggunaan. Kegiatan ekonomi yang berlangsung di sungai jumlahnya sangat besar mulai dari bagian hulu, tengah, dan hilir. Bagian hulu berfungsi sebagai daerah tangkapan air dan konservasi dengan mempertahankan keberadaan hutan serta berfungsi sebagai tempat pariwisata dan pada taraf tertentu untuk pertanian. Bagian tengah pada umumnya digunakan untuk pemukiman dan pertanian. Sedangkan untuk wilayah hilir biasanya dimanfaatkan untuk pemukiman dan kegiatan industri (Pasaribu dan Suradisastra, 2010).

Salah satu sungai yang dikenal masyarakat adalah Sungai Brantas yang berada di Provinsi Jawa Timur. Sungai Brantas merupakan sungai terpanjang kedua setelah sungai Bengawan Solo di Pulau Jawa. Sungai Brantas meliputi 10 kabupaten yaitu Malang, Blitar, Trenggalek, Tulungagung, Jombang, Nganjuk, Kediri, Mojokerto, Sidoarjo, dan Pasuruan dengan luas sebesar 13.529 km^2 (1.352.935 ha) serta 7 kota yaitu Malang, Batu, Kediri, Blitar, Pasuruan, Surabaya, dan Mojokerto dengan luas sebesar 678 km^2 (67.822 ha). Sungai Brantas juga memiliki 8 bendungan yang befungsi untuk PLTA dan irigasi, diantaranya yaitu Karangkates (Sutami), Sengguruh, Selorejo, Lahor, Wlingi, Wonorejo, Lodoyo, dan Bening dengan volume tampungan awal sebesar 484,1 juta m^3 (Keputusan Menteri Pekerjaan Umum, 2010).

2.2 Gastropoda

2.2.1 Biologi Gastropoda

Gastropoda berasal dari dua kata, yaitu "*gaster*" yang berarti perut dan "*podos*" yang berarti kaki. Gastropoda merupakan kelas terbesar dari filum Moluska yang telah teridentifikasi sekitar 75.000 spesies dan 15.000 diantaranya dapat dilihat bentuk fosilnya (Barnes, 1980). Gastropoda umumnya dikenal dengan sebutan siput atau keong. Beberapa jenis keong memiliki lempeng keras dan melingkar yang memiliki zat kapur di belakang kakinya. Lempeng tersebut disebut operculum yang dapat menjadi sumbat penutup lubang cangkang yang ampuh untuk melindungi tubuhnya yang lunak dan tersembunyi di dalam cangkang (Nontji, 2005).

Sebagian besar gastropoda memiliki cangkok (rumah) dan bentuknya kerucut terpilin atau spiral. Bentuk tubuhnya menyesuaikan dengan bentuk cangkoknya. Saat masih larva, tubuhnya berbentuk simetri bilateral. Akan tetapi, ada juga gastropoda yang tidak mempunyai cangkok sehingga sering disebut vaginula atau siput telanjang. Gastropoda memiliki alat reproduksi jantan dan betina yang bergabung menjadi satu atau disebut ovotestes. Gastropoda merupakan tipe hewan hemaprodit namun tidak dapat melakukan autofertilisasi. Alat ekskresinya berupa ginjal yang terletak di dekat jantung dan hasil dari ekskresi dikeluarkan ke dalam rongga mantel. Gastropoda memiliki sistem peredaran darah terbuka. Jantungnya terdiri dari serambi dan ventrikel (bilik) yang terletak dalam rongga tubuh (Rusyana, 2013).

2.2.2 Morfologi Gastropoda

Gastropoda terwujud dalam morfologi cangkangnya. Bentuk cangkang siput pada umumnya berbentuk seperti kerucut dari tabung yang melingkar seperti konde atau biasa disebut dengan *whorl*. Puncak kerucut merupakan bagian yang tertua dan disebut apex, sedangkan sumbu kerucut disebut dengan columella.

Gelungan atau konde terbesar disebut dengan *body whorl* dan gelungan yang kecil di atasnya disebut dengan *spire* (Arfiati, 1984).

Sebelum memiliki bentuk yang sempurna, gastropoda mengalami beberapa perubahan bentuk yang meliputi tiga tahapan, diantaranya yaitu perkembangan kepala, perubahan cangkang dilihat segi fungsinya dari sebagai alat pelindung menjadi tempat membenamkan tubuhnya yang lunak, serta perputaran cangkang atau disebut torsi (Barnes, 1987). Gastropoda memiliki berbagai variasi bentuk cangkang seperti *conical, biconical, abconical, turreted, fusi form, ovoid, patelli form, discoidal, globose, obovatus, involute, lenticular, bulloid, trochoid,* dan *cylindrical* (Oemarjati dan Wardana, 1990).

2.2.3 Klasifikasi *Sulcospira testudinaria*

Klasifikasi *Sulcospira testudinaria* menurut Oostingh (1923) yaitu:

Kingdom	:	Animalia
Phylum	:	Mollusca
Class	:	Gastropoda
Subclass	:	Prosobranchia
Family	:	Pachychilidae
Genus	:	Sulcospira
Species	:	*Sulcospira testudinaria*

Gambar 2. *Sulcospira testudinaria* (Marwoto dan Isnaningsih, 2012)

2.2.4 Habitat dan Kebiasaan Makan Gastropoda

Salah satu sumberdaya hayati non ikan yang memiliki keanekaragaman tinggi adalah gastropoda. Gastropoda dapat hidup di darat, perairan tawar hingga perairan laut (Nontji, 2005). Gastropoda merupakan organisme yang cenderung hidup menetap di dasar perairan. Gastropoda relatif menetap pada habitatnya karena pergerakannya yang cukup terbatas. Kelimpahan dan distribusi gastropoda dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti lingkungan sekitarnya, ketersediaan makan, pemangsaan, dan juga kompetisi. Setiap gastropoda menyukai habitat yang sesuai dengan jenisnya dan memiliki cara yang berbeda untuk beradaptasi dengan perubahan lingkungan. (Supardjo *et al*., 2013). Adaptasi gastropoda diperlukan untuk dapat bertahan hidup di lingkungan yang setiap saat dapat berubah-ubah kondisinya. Adaptasi tersebut meliputi daya tahan terhadap kehilangan air, tekanan mekanik, dan pemeliharaan keseimbangan panas tubuh (Ernanto *et al*., 2010).

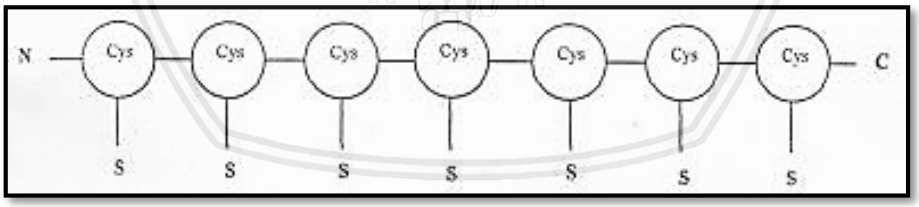
Gastropoda memiliki cara makan yang bervariasi antara lain herbivora, karnivora, *ciliary feeder*, *deposit feeder*, parasit, maupun *scavenger*. Mayoritas dari kelompok gastropoda memiliki radula sebagai alat untuk makan. Gigi radula tersusun dalam barisan memanjang yang terdiri dari beberapa garis gigi lateral, satu barisan tengah (median), dan gigi marginal. Jenis siput air tawar memakan bagian tubuh tumbuhan air lunak atau yang sudah membusuk (Arfiati, 1984).

2.3 Metallothionein (MT)

Metallothionein (MT) merupakan golongan peptida yang memiliki massa molekul rendah dengan konten sistein yang tinggi. Pada avertebrata air, metallothionein memiliki peranan penting dalam beberapa proses fisiologis seperti homeostatis, perlindungan terhadap logam berat serta regulasi metabolik. Metallothionein digunakan sebagai biomarker terhadap stres logam beracun

(Desouky, 2012). Metallothionein disebut sebagai *metal binding protein* yang berperan dalam proses penyekapan atau pengikatan logam di dalam suatu jaringan makhluk hidup (Anwar, 2009).

Metallothionein termasuk protein yang tergolong sangat akurat dan peka sebagai indikator pencemaran. Metallothionein terdiri dari polipeptida yang memiliki massa molekul rendah yaitu 6-7 kDa (kilodalton), mengandung sekitar 26 – 33% sistein, dan tidak memiliki asam amino aromatik atau histidin. Protein ini mengandung kelompok *thiol* (sulfhydryl-SH) yang cukup besar. Selain itu, MT dapat mengikat logam berat yang sangat kuat seperti Cd, Hg, Zn, Ag, dan Pb. Fungsi fisiologis dari protein ini berhubungan dengan seluruh proses metabolisme. Logam biasanya bertindak sebagai modulator reaksi tertentu. Metallothionein dapat ditemukan di berbagai golongan makhluk hidup (seperti ikan, moluska, mamalia, fitoplankton, dan zooplankton) dan berbagai tingkat jaringan atau organ makhluk hidup (seperti insang, hati, ginjal, usus, otot, plasma, testis, eritrosit, sel epithelial, dan urin). Konsentrasi MT dalam jaringan akan meningkat apabila suatu organisme terkontaminasi unsur logam (Lasut, 2002).



Keterangan : N = Nitrogen, Cys = sistein, S = Sulfur, dan C = Karbon

Gambar 3. Struktur kimia metallothionein (Artanti, 2005; Rakhmawati, 2006)

Gambar 3 menjelaskan bahwa metallothionein merupakan protein yang terdiri dari sistein sulfhydryl, nitrogen, dan karbon. Apabila terdapat logam dalam tubuh organisme maka akan berikatan dengan 2 atom S pada sistein. Logam berat akan terdetoksifikasi dalam struktur metallothionein. Sel akan terus membentuk metallothionein selama masih terdapat ion logam berat dalam larutan yang terikat pada gugus S dari protein dinding sel. Tabel 1 berikut ini merupakan hasil dari

beberapa penelitian mengenai konsentrasi MT yang dapat dijadikan sebagai pembanding.

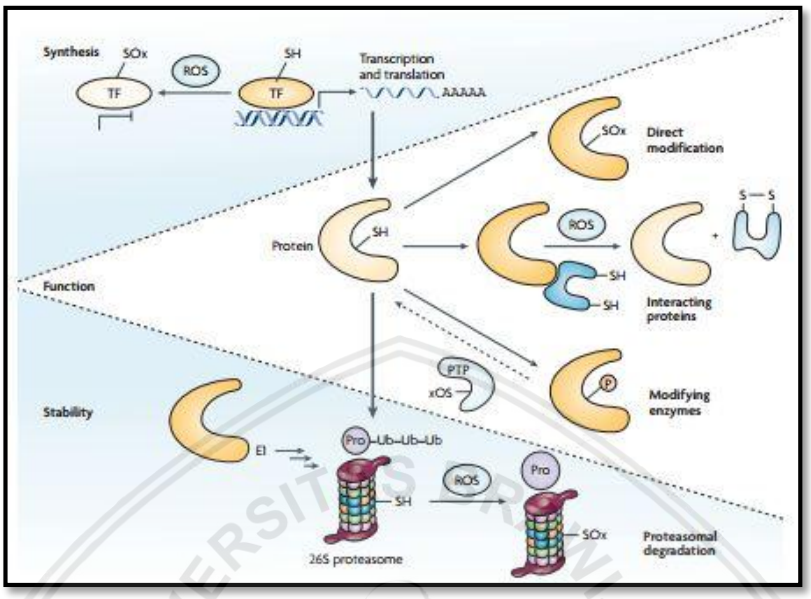
Tabel 1. Hasil penelitian kadar metallothionein (MT) dan logam berat

Pustaka	Judul	Logam Berat	Hasil MT
H.V. den Broeck, H. de Wolf, T. Backeljau,and R. Blust (2010)	Effect of metal accumulation on metallothionein level and condition of the periwinkle *Littorina littorea* along the Scheldt Estuary (the Netherlands)	Cd : 0,1 – 4 µg/g Pb : 1 – 5 µg/g	20 – 35 nmol/g
S. Lecoeur, B. Videmann, and Ph. Berny (2004)	Evaluation of metallothionein as a biomarker of single and combined Cd/Cu exposure in *Dreissena polymorpha*	Cd : 1.45±0.39 nmol/g	50 – 350 nmol/g
		Cu : 32.1±4.6 nmol/g	65 – 80 nmol/g
Wenli Ma, Lan Wang, Yongji He, and Yao Yan (2008)	Tissue-specific cadmium and metallothionein Levels in freshwater Crab *Sinopotamon henanense* during acute exposure to waterborne cadmium	Cd : • Insang 20.81 ± 2.01 µg/g • Daging 6.70 ± 0.39 µg/g	• Insang 16.7 ± 2.38 µg/g • Daging 10.81 ± 4.58 µg/g
M.J. Bebianno, A. Cravo, C. Miguel, and S. Morais (2003)	Metallothionein concentrations in a population of *Patella aspe*ra: variation with size	Cd: 5.9 ±0.9 µg/g hingga 6.5 ± 2.2 µg/g	4.9 ± 1.3 mg/g hingga 9.8 ± 1.4 mg/g
M. Mahmoud dan A. Desouky (2012)	Metallothionein is up-regulated in molluscan responses to cadmium, but not aluminium exposure	Cd : 30–425 µg/g	0,4 – 2 mg/g
Y. Li, H. Yang, Na Liu, J. Luo, Q. Wang, Lan Wang (2015)	Cadmium accumulation and metallothionein biosynthesis in cadmium treated freshwater mussel *Anodonta woodiana*	0,04 – 0,1 mg/g	1,5 – 4,3 µg/g

Pustaka	Judul	Logam Berat	Hasil MT
H. I. Falfushynka, L. L. Gnatyshyna, J. Gyori, O. B. Stoliar (2014)	Metallothioneins, Caspase-3 and oxidative stress responses in the multimarker study of freshwater mussel inhabiting sites of various human impact	Cu 3 – 20 µg/g Cd 0,74 – 3,4 µg/g	MT Cu 0,4 – 2 µg/g MT Cd 0,25 – 3,1 µg/g
M.J. Bebianno and W.J. Langston (1998)	Cadmium and metallothionein turnover in different tissues of the gastropod *Littorina littorea*	2,2 – 13,2 µg/g	0,5 – 4,5 µg/g
J.P. Bourdineaud, M. Baudrimont, P. Gonzalez, and J.L. Moreau (2006)	Challenging the model for induction of metallothionein gene expression	Cd 64±9,1nmol/g	61±2,4 nmol/g
A.M.S.Hertika, Kusriani, E.Indrayani, R.Nurdiani, R.B.D.S. Putra (2018)	Relationship between levels of the heavy metals lead, cadmium and mercury, and metallothionein in the gills and stomach of *Crassostrea iredalei* and *Crassostrea glomerata*	(Satuan ppm) Pb : • *C.iredalei:* 0.715 – 1.061 (insang), 0.352 – 0.600 (lambung) • *C.glomerate:* 0.419 – 0.649 (insang), 0.231 – 0.326 (lambung) Cd : • *C.iredalei:* 0.168 – 0.269 (insang), 0.099 – 0.149 (lambung) • *C.glomerate:* 0.101 – 0.234 (insang), 0.034 – 0.134 (lambung) Hg: • *C.iredalei:* 0.420 – 0.731 (insang), 0.171 – 0.337 (lambung) • *C.glomerate* 0.300 – 0.582 (insang), 0.077 – 0.308 (lambung)	• *C.iredalei* 111.500 – 160,250 ng/g • *C.glomerate* 108,900 – 159,000 ng/g

Protein memiliki kaitan dengan *Reactive Oxygen Species* (ROS) di dalam sel. *Reactive Oxygen Species* (ROS) merupakan spesies kimia reaktif yang mengandung oksigen. ROS terdiri dari dua jenis yaitu ROS radikal yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan dalam orbital molekul luarnya, dan ROS non radikal yang mengandung semua elektron berpasangan. Contoh dari ROS radikal yaitu anion superoksida (O_2^-), nitrit oksida, dan radikal hidroksil (OH^-). Sedangkan untuk ROS non radikal yaitu hidrogen peroksida (H_2O_2), ozon, peroksinitrat, dan hidroksida. ROS sangat penting dalam fungsi biologis. ROS mengatur jalur transduksi sinyal yang bereaksi secara langsung dengan memodifikasi struktur protein, faktor transkripsi dan gen untuk memodulasi fungsinya. ROS juga terlibat dalam pertumbuhan dan diferensiasi sel, mengatur aktivitas enzim, merangsang produksi sitokin, serta menghilangkan patogen dan partikel asing. Peningkatan ROS yang ringan dapat menyebabkan perubahan seluler sementara, sedangkan peningkatan ROS yang berat dalam sel dapat menyebabkan kerusakan oksidatif yang *irreversible* hingga menyebabkan kematian sel. ROS dapat ditemukan di lingkungan seperti polutan, asap tembakau, radiasi, dan dapat dihasilkan di dalam sel. Sumber utama ROS diproduksi di dalam mitokondria (Trachootham *et al*., 2009). ROS memiliki reaktifitas kimia yang tinggi terhadap pengikatan oksigen. Pengikatan yang dimaksud yaitu pengikatan ligan non kovalen pada reseptor. ROS juga dapat memberi sinyal melalui reaksi kimia dengan atom spesifik protein target yang mengarah pada modifikasi protein kovalen. Target molekuler ROS terjadi pada atom sehingga memperluas jumlah reseptor spesifik ROS (D'Autreaux dan Toledano, 2007). ROS disintesis oleh enzim spesifik dari NADPH oksidase (NOx) dan dual oksidase (DUOx). NOx dan DUOx mengoksidasi NADPH dan mengurangi oksigen yang melewati membran

plasma untuk menghasilkan superoksida(O_2^-) lalu membentuk H_2O_2 yang melewati membran dan memasuki sel (Shouval dan Elazar, 2007).



Gambar 4. Regulasi fungsi protein melalui mekanisme redoks (Trachootham *et al*., 2009)

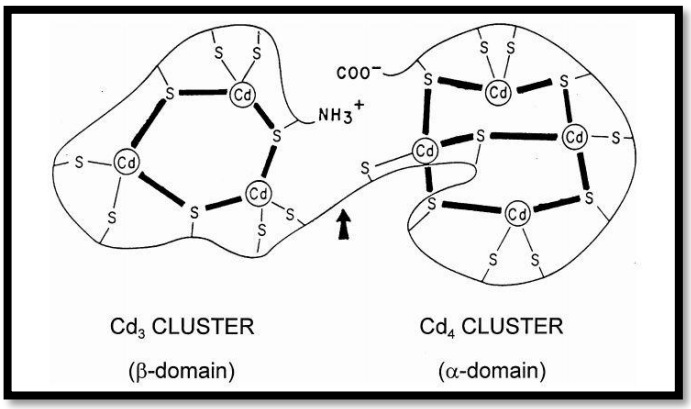
Gambar 4 menjelaskan bahwa ROS dapat mempengaruhi fungsi protein melalui beberapa mekanisme seperti regulasi ekspresi protein, modifikasi pasca translasi, dan perubahan stabilitas protein. Pada tingkat sintesis protein, ekspresi protein dapat dikontrol melalui laju transkripsi gen. oksidasi residu Cys (SOx) dapat mengganggu aktivitas transaktivasi dan menghambat ekspresi gen target. Modifikasi protein yang berinteraksi dengan ROS dapat menyebabkan disosiasi kompleks protein yang menyebabkan perubahan fungsional oleh protein yang berinteraksi dan peka terhadap redoks. Modifikasi pasca translasi seperti fosforilasi dapat mengaktifkan atau menghambat fungsi protein. Fosfatase seperti Protein Tirosin Phospatase (PTP) bertanggung jawab terhadap defosforilasi yang dapat dinonaktifkan dengan oksidasi dan menyebabkan peningkatan fosforlasi protein target. Stabilitas protein menentukan tingkat dan durasi aktivitas protein. Protein berwarna kuning muda bersifat sebagian aktif dan protein berwarna kuning gelap bersifat sepenuhnya aktif. Protein interaksi berwarna biru tua bersifat aktif

(mampu mengikat dan menekan fungsi protein), dan protein interaksi berwarna biru muda bersifat tidak aktif dikarenakan terjadi oksidasi.

2.4 Mekanisme Pengikatan Logam Berat oleh Metallothionein

Metallothionein memiliki dua fungsi utama yaitu sebagai pembersih dari radikal bebas pada tubuh organisme dan sebagai detoksifikasi logam untuk mencapai keadaan homeostatis, sehingga dengan adanya metallothionein menyebabkan organisme menjadi resisten terhadap logam berat dan toksisitas dari logam berat menjadi berkurang (Carpene *et al*., 2007). Metallothionein merupakan kimia protein yang unik serta dapat berkaitan dengan induksi logam berat dan hormon. Protein ini dapat mengikat berbagai logam berat seperti Hg, Cu, Zn, Pb, dan Cd. Metallothionein telah diisolasi pada berbagai spesies dan karakteristik yang paling luas dikembangkan berasal dari organ ginjal, hati, dan usus (Cousins, 1985).

Metallothionein berikatan dengan logam berat melalui kelompok ikatan thiolate yang memiliki daya ikatan bervariasi sebanyak enam kali lipat tergantung pada jumlah ion. Sintesis MT secara homeostatis diatur di dalam sel dan organisme yang terpapar oleh logam berat. Pada tingkatan yang lebih kompleks, ekspresi MT dapat diubah oleh perubahan struktur gen seperti amplifikasi dan metilasi serta oleh diferensiasi dan pengembangan sel (Hamer, 1986).



Gambar 5. Metallothionein yang mengikat logam Cd (Klaassen *et al*., 1999)

Gambar 5 menjelaskan bahwa metallothionein tersusun atas sistein sulfhydryl. Protein ini terdiri dari dua domain yaitu α domain dan β domain. Apabila terdapat logam berat maka sistein sulfhydryl akan membentuk ikatan kovalen dengan logam tersebut. Setiap rantai protein ini memiliki ujung N dan C yang biasa disebut dengan N-terminal dan C-terminal.

Berbagai jenis biota seperti Moluska, Annelida, Crustacea, dan ikan yang terinduksi sintesis MT oleh kontaminan logam berat telah menunjukkan potensi penggunaan konsentrasi MT pada organisme sebagai biomarker pencemaran logam berat. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi produksi MT antara lain yaitu jenis kelamin, ukuran, umur, perbedaan spesies, dan tingkat kematangan gonad. Metallothionein menjadi rangkaian dari inti biomarker yang diakui hingga ke Eropa dan terdapat kerangka jaminan kualitas efek biologis dalam program monitoring (Amiard *et al*., 2006).

2.5 Pengamatan Metallothionein (MT) dengan Metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA)

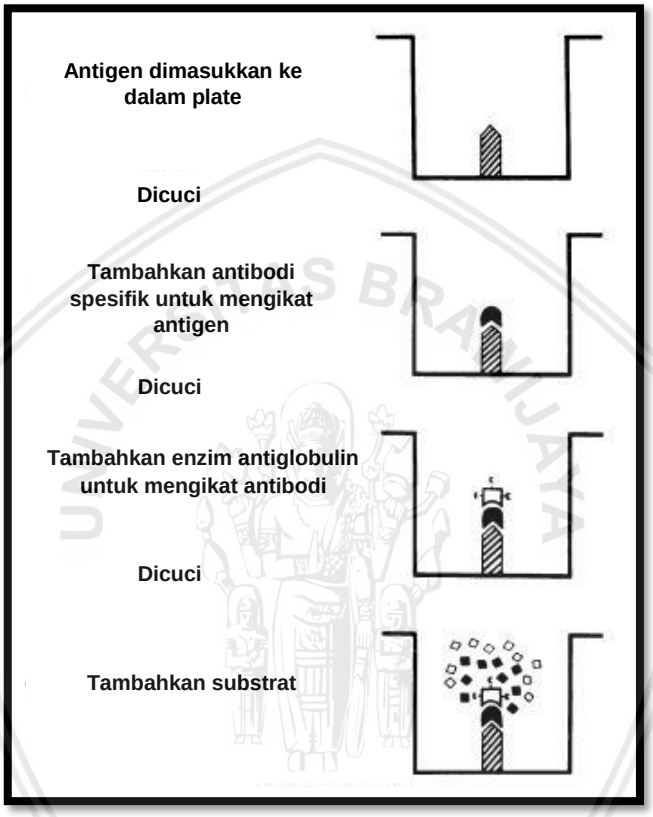
Teknik *Enzyme-Linked Immunosurbent Assay* (ELISA) merupakan teknik kuantitatif yang sangat sentitif, memerlukan peralatan yang relatif sedikit, penggunaannya sangat luas, reagen yang diperlukan sudah tersedia dan dijual secara komersial serta mudah didapat. Metode ini merupakan tes serologis yang umumnya dilakukan dalam berbagai bentuk pada tipe reagen dan antigen yang digunakan saat melakukan tes. Penggunaan tes ELISA dapat digunakan untuk menganalisis kadar MT dalam organisme yang dilakukan dengan mendeteksi melalui antibodi. Prinsip teknik ELISA secara umum menggunakan antibodi yang terdapat dalam serum yang dimasukkan ke dalam antigen yang telah difiksasi pada *plate microtiter* (penyangga padat) lalu dilakukan inkubasi selama waktu tertentu. Setelah itu dicuci untuk menghilangkan antibodi yang berlebihan

kemudian ditambahkan antibodi anti spesies yang dikonjugasi dengan enzim (Setiawan, 2007).

Enzyme-Linked Immunosurbent Assay (ELISA) adalah teknik biokimia yang digunakan dalam bidang imunologi untuk mendeteksi adanya antibodi atau antigen dalam suatu sampel. Secara sederhana, sejumlah antigen yang tidak dikenal ditempelkan pada suatu permukaan lalu antibodi spesifik dicucikan pada permukaan tersebut sehingga akan terbentuk ikatan antara keduanya. Antibodi tersebut akan terikat dengan suatu enzim dan pada tahap terakhir ditambahkan substansi yang dapat diubah oleh enzim menjadi sinyal yang dapat dideteksi. Penggunaan ELISA setidaknya melibatkan satu antibodi dengan spesifitas untuk antigen tertentu. Sampel dengan sejumlah antigen yang belum diketahui dipindahkan pada suatu permukaan solid seperti lempeng mikrotiter baik yang spesifik maupun non spesifik. Setelah antigen dipindahkan dan antibodi pendeteksi ditambahkan maka akan terbentuk ikatan kompleks dengan antigen. Antibodi pendeteksi dapat berikatan dengan enzim atau dapat dideteksi secara langsung oleh antibodi sekunder yang berikatan dengan enzim melalui biokonjugasi. Diantara setiap tahap, plate dicuci dengan suatu larutan untuk membuang kelebihan protein atau antibodi yang tidak terikat. Setelah tahap pencucian terakhir, plate ditambahkan substrat enzimatik untuk menunjukkan kuantitas antigen dalam sampel (Leng *et al*., 2008).

Prosedur metode ELISA dengan menggunakan aktivitas enzim yang berfungsi untuk mendeteksi pengikatan antara antibodi (Ab) dan antigen (Ag). Kerja enzim yaitu mengubah sampel menjadi produk yang berwarna sehingga akan mengindikasi adanya antigen dan antibodI. Teknik ELISA memiliki keuntungan dibandingkan dengan metode antibodi berlabel lainnya. Keuntungannya yaitu dapat menggunakan partikel lateks, ferritin, atau senyawa fluoresen yang merupakan suatu kombinasi reaktan serta memiliki sensitivitas

yang tinggi (Clark dan Adams, 1977). Beberapa faktor yang mempengaruhi tingkat sensitivitas dan keandalan dari metode ELISA antara lain yaitu persiapan dan penyimpanan pereaksi, kualitas antibodi, waktu inkubasi dan temperatur, pemilihan bagian yang tepat dari sampel serta penggunaan buffer ekstraksi yang cocok (Hewings dan D'Arcy, 1984).



Gambar 6. Metode *Indirect* ELISA (Voller *et al*., 1978)

Gambar 6 menunjukkan skema sederhana dalam metode *indirect* ELISA. Tahap pertama, antigen yang tidak dikenal dimasukkan ke dalam plate dan terjerap di dalamnya. Kemudian antibodi spesifik ditambahkan ke dalam plate sehingga berikatan dengan antigen. Selanjutnya ditambahkan enzim antiglobulin sehingga berikatan dengan antibodi. Setelah itu ditambahkan substrat dan diukur kadarnya menggunakan panjang gelombang. Setiap tahapan dalam metode *indirect* ELISA dilakukan pencucian pada plate untuk membuang partikel-partikel yang tidak terjerap.

2.6 Logam Berat

Logam berat merupakan unsur logam yang berat molekulnya tinggi dan memiliki densitas lebih dari 5 gr/cm^3 serta mempunyai nomor atom 22 sampai 92 yang terletak pada periode ketiga sampai ketujuh dalam tabel periodik (Waldichuck, 1974). Karakteristik logam berat diantaranya yaitu lunak, daya hantar panas dan listriknya tinggi, berkilau, dan bersifat kimiawi yang dapat dijadikan sebagai dasar pembentukan reaksi dengan asam (Connel dan Miller, 1984). Di perairan, terdapat logam berat baik yang bersifat esensial maupun non esensial. Semua logam berat dapat dikatakan sebagai bahan beracun untuk makhluk hidup. Namun, ada logam-logam yang dibutuhkan meskipun dalam jumlah yang sangat kecil atau biasa disebut logam esensial. Apabila logam esensial ini masuk ke dalam tubuh dalam jumlah yang berlebihan maka logam tersebut akan berubah menjadi racun (Fardiaz, 1992). Logam berat yang sering ditemukan dan mencemari lingkungan perairan yaitu Hg, Cd, As, Zn, dan Pb. Selain itu, ada juga logam berat yang bersifat esensial seperti Cr, Ni, dan Cu yang dibutuhkan dalam pembentukan haemosianin dalam darah dan system enzimatik (Sanusi, 2006).

Tingkat toksisitas dari logam berat bervariasi tergantung pada jenis serta sifat fisik dan kimianya. Kementerian Negara Kependudukan dan Lingkungan Hidup Tahun 1990 mengelompokkan logam berat berdasarkan sifat toksisitasnya dalam tiga kategori, antara lain yaitu:

- Bersifat toksik tinggi, terdiri dari unsur Hg, Pb, Cd, Cu, dan Zn.
- Bersifat toksik sedang, terdiri dari unsur Cr, Co, dan Ni.
- Bersifat toksik rendah, terdiri dari unsur Mn dan Fe.

Selain itu, Sutamihardja *et al*. (1982) menyatakan bahwa urutan tingkat toksisitas logam berat berdasarkan sifat fisika dan kimianya dari tinggi ke rendah sebagai berikut: merkuri (Hg), cadmium (Cd), seng (Zn), timbal (Pb), krom (Cr), nikel (Ni), dan kobalt (Co).

2.6.1 Timbal (Pb)

Timah hitam atau timbal yang biasa disimbolkan Pb merupakan jenis logam lunak yang berwarna cokelat dengan nomor atom 82; berat atom 207,19; memiliki titik cair 327,5^{o}C dan titik didih 1725^{o}C (Reilly, 1991). Timbal tidak berasa, tidak berbau, bersifat racun, serta dapat bereaksi dengan senyawa lain membentuk berbagai senyawa timbal seperti PbO atau timbal oksida dan $PbCl_2$ atau timbal klorida (SNI, 2009). Logam Pb di perairan ditemukan dalam bentuk terlarut dan tersuspensi. Bentuk kelarutannya cukup rendah sehingga kadar Pb dalam air relatif sedikit. Faktor yang mempengaruhi kadar dan toksisitas Pb antara lain yaitu pH, alkalinitas, kadar oksigen, dan kesadahan (Effendie, 2003).

Logam Pb banyak ditemukan dan tersebar luas pada bebatuan dan lapisan kerak bumi. Logam ini ditemukan di perairan dalam bentuk Pb^{2+}, $PbOH^{+}$, $PbHCO_3$, $PbCO^{+}$, dan $PbSO_4$ (Rohilan, 1992). Sumber alami Pb yang masuk ke dalam perairan berasal dari pengikisan batu mineral, presipitasi dan jatuhan atmosfer, tumbuhan yang membusuk, dan hewan yang telah terakumulasi logam berat. Sedangkan sumber Pb yang berasal dari aktivitas manusia seperti buangan limbah industri, pertanian, rumah tangga, maupun domestik. Daya racun dari logam Pb disebabkan adanya penghambatan proses kerja enzim oleh ion Pb^{2+} sehingga menyebabkan terganggunya pembentukan hemoglobin darah (Fardiaz, 1992).

Pencemaran lingkungan akibat logam berat Pb utamanya berasal dari penggunaan bahan bakar oleh hampir segala jenis kendaraan bermotor seperti bensin. Pencemaran Pb di lingkungan perairan dapat berasal dari hasil pembakaran bahan bakar kapal-kapal perikanan (Widyaningrum *et al*., 2007).

Logam berat Pb sangat berbahaya bagi manusia karena dapat menyebabkan keracunan akut dan kronis. Gejala keracunan akut dapat ditandai dengan rasa terbakar pada mulut, rangsangan pada sistem gastrointestinal serta diare. Sedangkan untuk gejala kronis ditandai dengan anemia, mual, sakit di sekitar mulut, dan bahkan bisa mengalami kelumpuhan (Darmono, 2001).

2.6.2 Cadmium (Cd)

Cadmium (Cd) merupakan logam berat yang berwarna biru keperakan dan merupakan unsur logam berat yang paling beracun setelah merkuri (Hg). Logam ini memiliki nomor atom 48, massa atom 112,49 gram/mol, titik beku 321^{o}C serta titik didih 765^{o}C. Logam Cd ditemukan paling besar di kulit bumi dan dapat ditemukan di alam. Logam berat Cd di perairan banyak ditemukan dalam bentuk ion. Cadmium yang dilepaskan ke perairan sungai melalui pengikisan batu oleh cuaca dan yang dilepaskan ke udara dapat berupa akibat dari kebakaran hutan dan letusan gunung merapi, serta ada juga yang dilepaskan melalui aktivitas manusia seperti penggunaan pestisida, pupuk, kegiatan penambangan, dan industri. Logam Cd termasuk logam toksisitas kronis yang mudah terakumulasi dalam tubuh terutama pada ginjal dan jika keracunan dalam waktu yang cukup lama maka akan bersifat toksik terhadap beberapa organ seperti hati, paru-paru, dan ginjal (Darmono, 1995).

Secara alami, logam berat cadmium merupakan komponen yang terdapat pada lapisan bumi dan dapat masuk ke perairan melalui proses geokimia dan aktivitas antropogenik (Gbaruko dan Friday, 2007). Aktivitas manusia atau aktivitas antropogenik menjadi penyebab utama kontaminasi logam berat Cd di perairan dan dapat menyebabkan gangguan pada sistem biologis. Hal ini dikarenakan dapat terakumulasi dengan mudah dalam tubuh organisme ataupun sedimen (Zhou *et al*., 2008). Cadmium telah banyak digunakan di berbagai industri seperti

peleburan dan pelapisan logam, baterai, pewarnaan, minyak pelumas, dan bahan bakar (Agustina, 2014).

2.6.3 Merkuri (Hg)

Raksa atau merkuri yang biasanya disimbolkan Hg merupakan unsur logam yang memiliki nomor atom 80 dan massa molekul relatif 200,59. Simbol kimia Hg adalah singkatan yang berasal dari bahasa Yunani yaitu *Hydrargyricum* yang artinya cairan perak. Logam Hg merupakan logam yang berbentuk cair dalam suhu kamar 25^{o}C dengan titik beku paling rendah yaitu –39^{o}C. Merkuri memiliki sifat seperti kecenderungan menguap lebih besar, dapat mengalirkan arus listrik sebagai konduktor, dan mudah bercampur dengan logam lain menjadi logam campuran (Alfian, 2006). Merkuri memiliki titik didih yaitu 357^{o}C. Unsur logam Hg dapat berbentuk senyawa organik maupun anorganik. Bentuk senyawa anorganik diperoleh melalui proses oksidasi dan kembali menjadi unsur Hg melalui proses reduksi. Perubahan merkuri anorganik menjadi merkuri organik dihasilkan melalui bakteri anaerobik tertentu dan dalam senyawa ini secara lambat dapat terdegradasi menjadi merkuri anorganik (Halida, 2002).

Merkuri merupakan unsur yang terkenal sifatnya racun mematikan jika terdapat dalam kandungan yang melebihi ambang batas seperti dalam biji-bijian dan binatang pemakan biji-bijian serta ikan yang terdapat dalam air yang tercemar merkuri. Ikan atau jenis makanan lain yang mengandung Hg lebih dari 0,5 ppm dilarang untuk dipasarkan. Selain itu, merkuri bersifat racun mematikan apabila berupa senyawa metil merkuri yang dihasilkan dari proses metilasi dalam air yang memiliki pH rendah dan berlangsung secara berkesinambungan. Senyawa ini terbentuk karena larutnya Hg^{2+} dari sedimen melalui pertukaran ion pada air yang memiliki ion hydrogen dengan konsentrasi tinggi dan meningkatnya sintesis metil merkuri oleh mikroorganisme. Keracunan merkuri anorganik dapat menyebabkan terganggunya fungsi hati dan ginjal serta dapat mengganggu sistem enzim dan

mekanisme sintetik jika berupa ikatan dengan kelompok sulfur dalam enzim dan protein. Sedangkan apabila keracunan merkuri organik dari jenis metil merkuri dapat masuk ke plasenta dan merusak janin pada wanita yang hamil serta dapat mengganggu saluran darah ke otak sehingga menyebabkan kerusakan otak (Herman, 2006).

Merkuri yang ada di lingkungan berasal dari volatilisasi dari tanah dan permukaan laut, aktivitas gunung berapi, dan proses industrialisasi seperti pembakaran minyak fosil dan peleburan logam (Butcher *et al*., 1994). Merkuri yang masuk ke dalam tubuh organisme hidup umumnya melalui makanan. Sekitar 90% dari unsur merkuri masuk dalam tubuh melalui makanan dan sisanya masuk secara difusi dan sistem pernapasan (Palar, 1994). Efek toksisitas merkuri pada tubuh manusia tergantung pada bentuk komposisi merkuri, jalan masuk ke tubuh, dan lamanya berkembang. Toksisitas merkuri melalui saluran pernapasan biasanya menyerang sistem saraf pusat dan toksisitas yang kronik dapat menyerang ginjal (Alfian, 2006).

2.7 Parameter Kualitas Air

2.7.1 Suhu

Suhu merupakan salah satu parameter fisika yang mempengaruhi suatu perairan. Suhu pada badan air dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti ketinggian permukaan laut atau altitude, lintang atau latitude, musim, waktu, tutupan awan, sirkulasi udara, kedalaman air, dan aliran air. Organisme akuatik memiliki kisaran suhu tertentu untuk pertumbuhannya. Peningkatan suhu dapat menyebabkan peningkatan respirasi dan kecepatan metabolisme organisme air sehingga mengakibatkan laju konsumsi oksigen ikut meningkat (Effendie, 2003).

Suhu disebut sebagai *controlling factor* terhadap proses metabolisme dan respirasi biota akuatik yang mempengaruhi pertumbuhan, fisiologi, dan siklus

reproduksinya. Setiap biota memiliki adaptasi suhu yang bervariasi tergantung kemampuan tubuh organisme dan lingkungan hidupnya. Perubahan suhu dalam air terutama adanya kenaikan suhu dapat menyebabkan perubahan pada jenis, jumlah, dan keberadaan fauna akuatis. Kisaran suhu optimum untuk pertumbuhan organisme perairan yaitu 26^{O}C – 31^{O}C (Hutabarat dan Evans, 1985). Gastropoda memiliki kemampuan beradaptasi dengan suhu yang cukup baik yaitu dapat bertahan hidup dengan kisaran suhu antara 12^{O}C – 34^{O}C (Dharma, 1988).

2.7.2 Derajat Keasaman (pH)

Derajat keasaman atau biasa disebut pH menyatakan konsentrasi ion hydrogen dalam suatu larutan. pH merupakan negatif logaritma dari aktivitas ion hidrogen yang secara matematis dirumuskan sebagai pH = log 1/H^+, dimana H^+ menyatakan banyaknya ion hidrogen dalam mol per liter larutan. Kemampuan air dalam mengikat atau melepaskan sejumlah ion hidrogen akan menunjukkan sifat larutan asam atau basa (Barus, 2002). Kehidupan biota perairan normal dapat berlangsung pada pH sekitar 6 – 9 baik hewan maupun tumbuhan. Dalam kondisi dengan kisaran pH tersebut diketahui bahwa tidak adanya proses kimia dan mikrobiologis yang menghasilkan senyawa berbahaya bagi keberlangsungan hidup biota maupun lingkungan perairan (Yusuf, 2008).

Secara umum, toksisitas logam berat akan meningkat pada pH yang rendah. Sedangkan pada pH yang tinggi logam berat akan mengalami pengendapan (Sudarwin, 2008). pH yang rendah biasanya disebabkan oleh penguraian bahan organik pada limbah dengan bantuan bakteri aerob sehingga menghasilkan asam organik. Adanya perubahan pH pada limbah menjadi asam atau basa akan mengganggu kehidupan biota perairan bahkan bisa mengakibatkan kematian baik hewan maupun tumbuhan (Ariasih, 2008).

2.7.3 Oksigen Terlarut

Salah satu unsur kimia yang penting dalam kehidupan organisme perairan adalah oksigen. Organisme di perairan memanfaatkan oksigen untuk proses respirasi dan penguraian zat organik menjadi zat anorganik dengan bantuan mikroorganisme. Oksigen yang terlarut dalam air berasal dari difusi udara dan hasil dari fotosintesis organisme berklorofil yang hidup dalam perairan. Hal ini dibutuhkan oleh organisme untuk mengoksidasi zat hara yang masuk ke dalam tubuhnya (Nybakken, 1988). Oksigen terlarut yang ada di dalam badan air sungai merupakan suatu indikator kesehatan atau sanitasi dari badan air sungai. Asupan oksigen berasal dari masukan aliran air dan reaerasi dalam sungai. Oksigen digunakan untuk oksidasi material yang terdegradasi dari karbon organik dan nitrogen anorganik yang berasal dari masukan aliran air anak sungai yang mengandung limbah (Thomann, 1987).

Faktor utama yang menyebabkan berkurangnya kandungan oksigen terlarut dalam perairan adalah masuknya zat pencemar. Zat pencemar tersebut terdiri dari bahan organik dan anorganik yang berasal dari berbagai sumber, seperti sampah, buangan limbah industri dan rumah tangga, dan kotoran manusia maupun hewan (Conner dan Miller, 1984). Logam berat yang terakumulasi dalam tubuh organisme akan mengganggu sintesis Hb, dimana Hb berfungsi untuk mengikat oksigen. Apabila sintesis Hb terhambat maka kemampuan dalam mengikat oksigen akan semakin kecil (Yulaipi dan Aunurohim, 2013). Semakin rendah oksigen terlarut semakin tinggi toksisitas logam berat, begitupun sebaliknya. Kadar oksigen yang diperuntukkan untuk perikanan tidak kurang dari 5 ppm (Wahyuni *et al*., 2013).

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah hubungan antara kadar logam berat Pb, Cd, dan Hg dengan kadar metallothionein pada siput *Sulcospira testudinaria* di aliran Sungai Brantas wilayah Mojokerto dan Surabaya Provinsi Jawa Timur. Parameter kualitas air yang digunakan antara lain parameter fisika yaitu suhu serta parameter kimia yaitu pH dan oksigen terlarut.

3.2 Alat dan Bahan

Pengukuran kualitas air baik fisika maupun kimia dilakukan secara langsung (insitu) serta untuk pengambilan sampel air dan pengambilan sampel siput dilakukan pada waktu yang bersamaan. Selain itu juga dilakukan pengukuran kadar logam berat dan pengujian kadar metallothionein pada siput *Sulcospira testudinaria*. Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada **Lampiran 1**.

3.3 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode deskriptif dengan menggunakan teknik survei. Menurut Morissan (2012), penelitian dengan menggunakan metode survei deskriptif merupakan upaya untuk menjelaskan atau mencatat suatu kondisi atau sikap yang menjelaskan fakta yang ada atau situasi yang sebenarnya. Hal seperti ini tidak dapat digunakan pada penelitian lainnya seperti penelitian eksperimen yang memerlukan ruang laboratorium dengan kondisi yang sengaja direkayasa. Kegiatan survei memungkinkan penelliti mempelajari berbagai variabel dan menggunakan berbagai data statistik untuk dilakukan analisis data. Survei dapat menggunakan data sekunder atau data

pendukung yang telah tersedia, seperti data sensus, dokumen atau arsip, laporan, data kependudukan, dan berbagai sumber pendukung lainnya.

Pengambilan data merupakan hal yang sangat penting dalam suatu penelitian. Data adalah suatu keterangan atau informasi mengenai suatu hal dan berkaitan dengan tujuan penelitian. Data yang digunakan dalam penelitian ini meliputi data primer dan data sekunder.

a. Data Primer

Data primer didefinisikan sebagai sumber-sumber dasar yang merupakan saksi utama atau bukti dari kejadian yang lalu (Nazir, 2003). Data primer diperoleh secara langsung di lapangan serta penggalian informasi dari pakar. Data ini terbagi menjadi dua yaitu secara terstruktur dan tidak terstruktur. Secara terstruktur yaitu dengan menggunakan alat bantu berupa kuisioner, sedangkan secara tidak terstruktur yaitu dengan melakukan wawancara yang bertujuan untuk mengeksplorasi informasi sebanyak mungkin (Wibowo *et al*., 2011). Data primer dalam penelitian ini meliputi observasi, wawancara, partisipasi aktif, dan dokumentasi.

b. Data Sekunder

Data sekunder merupakan data yang dikumpulkan dan disatukan oleh berbagai studi sebelumnya atau yang telah diterbitkan oleh berbagai instansi. Data sekunder bisa didapatkan melalui berbagai publikasi, artikel, majalah, buku, atau studi pustaka lain yang mendukung (Situmorang *et al*., 2010). Pengambilan data sekunder dalam penelitian ini diperoleh dari artikel, jurnal, laporan skripsi, buku, dan studi pustaka lain yang menunjang hasil penelitian.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Penentuan Stasiun Penelitian

Pengambilan sampel siput *Sulcospira testudinaria* dan air dilakukan pada tiga stasiun pengamatan di aliran Sungai Brantas wilayah Surabaya dan Mojokerto, Jawa Timur. Penentuan lokasi dalam pengambilan sampel menggunakan metode *purposive sampling*. Menurut Yusuf (2016), metode *purposive sampling* merupakan metode yang digunakan dengan tujuan atau pertimbangan tertentu dari suatu penelitian. Penetapan lokasi (stasiun) tersebut berdasarkan pada pendugaan masuknya bahan pencemar akibat aktivitas manusia untuk mengetahui hubungan kadar metallothionein pada siput *Sulcospira testudinaria* yang diduga tercemar logam berat Pb, Cd, dan Hg. Selanjutnya, antara ketiga stasiun tersebut dibandingkan hasilnya. Stasiun pertama terletak di Desa Bangsal, Kecamatan Bangsal, Kabupaten Mojokerto dengan dugaan pencemaran logam berat akibat limbah dari pemukiman penduduk sekitar. Stasiun kedua terletak di Desa Kepuhanyar, Kecamatan Mojoanyar, Kabupaten Mojokerto dengan dugaan pencemaran logam berat akibat limbah dari pertanian. Stasiun ketiga terletak di Kecamatan Karang Pilang, Kota Surabaya dengan dugaan pencemaran logam berat akibat limbah dari pabrik industri. Dari ketiga lokasi tersebut ditentukan 3 sub stasiun dan dilakukan ulangan pengambilan sampel sebanyak 3 kali.

3.4.2 Pengambilan Sampel Siput *Sulcospira testudinaria*

Siput jenis *Sulcospira testudinaria* hidup di tepian sungai dengan tanah yang dominan berlumpur dan tepian yang terbuat dari batu. Sampel yang diambil kemudian diseleksi dari keutuhan bentuk cangkangnya, ada tidaknya organisme di dalamnya, dan besar kecilnya siput disesuaikan dengan kebutuhan penelitian. Setelah diseleksi, sampel dimasukkan ke dalam plastik klip dan dimasukkan ke

dalam *coolbox*. Sampel siput *Sulcospira testudinaria* diambil dari tiga stasiun yang berbeda dan setiap stasiun dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali.

Gambar 7. Sampel siput penelitian

3.5 Analisis Sampel

3.5.1 Logam Berat dalam Keseluruhan Organ Siput *S. testudinaria*

Pengukuran kadar logam berat Pb, Cd, dan Hg pada keseluruhan organ siput *Sulcospira testudinaria* dilakukan menggunakan metode AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometry*) di Laboratorium Kimia Analitik FMIPA, Universitas Brawijaya dengan prosedur sebagai berikut:

1) Membedah sampel untuk diambil keseluruhan organnya.
2) Menimbang sampel siput sebanyak ±2 gram kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer 25 ml. .
3) Menambahkan 10 ml larutan aquaregia (3 HCl : 1 HNO_3) ke dalam erlenmeyer untuk mengikat logam berat lalu dipanaskan di atas hotplate hingga menguap dan didinginkan.
4) Menambahkan HNO_3 2,5N sebanyak 10 ml dan dipanaskan di atas hotplate selama ±5 menit sekaligus diaduk dengan spatula.
5) Menyaring sampel dan tambahkan aquades untuk pengenceran sampai tanda batas lalu dihomogenkan.

6) Mengukur sampel menggunakan lampu katoda sesuai dengan logam yang akan diuji dan dibaca menggunakan AAS tipe AA-6200 lalu dicatat absorbansinya.

3.5.2 Kadar Metallothionein dalam Siput *Sulcospira testudinaria*

Pengukuran kadar metallothionein dilakukan menggunakan metode ELISA (*Enzyme Linked-Immunosorbent Assay*) di Laboratorium Ilmu FAAL Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya dengan prosedur sebagai berikut:

1) Menimbang sampel keseluruhan organ siput sebanyak 0,2 gram dengan menggunakan timbangan digital.
2) Menghaluskan sampel menggunakan mortal dan alu.
3) Menambahkan 1 ml PMSF lysis buffer sebagai larutan ektraksi protein ke dalam mortal dan dihomogenkan hingga sampel terlarut sempurna.
4) Memasukkan sampel ke dalam mikrotube dan dihomogenkan menggunakan homogenizer.
5) Setelah dihomogenkan, sampel disentrifugasi pada kecepatan 6000 rpm selama 10 menit dengan suhu 4^{o}C untuk mendapatkan supernatan.
6) Supernatan yang dihasilkan dipindahkan ke mikrotube agar terpisah dari substrat.
7) Langkah selanjutnya yaitu menyiapkan pembuatan denah plate ELISA dan *coating buffer*. Denah dibuat berdasarkan kode sampel.
8) *Coating* antigen dibuat dengan kadar antigen yang digunakan adalah (1 : 20) diencerkan dengan *coating buffer* dan diinkubasi pada suhu 4^{o}C semalam.
9) Lalu keesokan harinya, mencuci plate menggunakan larutan PBS Tween 0,2% sebanyak 100 µl dan diulang sebanyak tiga kali.
10) Menambahkan 100 µl antibodi primer MT (1:400) (spesifikasi 1B/H/X (N-19) sc-12807 Lot #J04 goat polyclonal IgG) dalam assay buffer.

11) Menginkubasi plate Elisa pada suhu ruang selama 2 jam sekaligus dishaker menggunakan shaker Elisa plate agar antibodi dapat berikatan dengan antigen.
12) Mencuci kembali dengan PBS Tween 0,2% sebanyak 100 µl dan diulang 3 kali.
13) Menambahkan 100 µl antibodi sekunder IgG biotin anti rabbit (1:400) (spesifikasi 910 Clopper Road Lot No.120035) dalam assay buffer lalu diinkubasi pada suhu ruang selama 1,5 jam sekaligus dishaker.
14) Melakukan pencucian lagi dengan PBS Tween 0,2% sebanyak 100 µl dan diulang 3 kali.
15) Menambahkan 100 µl larutan SAHRP (1:500) (spesifikasi Rockland 800-656-7625 p/n S000-03 Lot: 34173) sebagai enzim dalam assay buffer lalu inkubasi pada suhu ruang selama 1 jam sekaligus dishaker.
16) Mencuci dengan PBS Tween 0,2% sebanyak 100 µl dan diulang 3 kali.
17) Menambahkan 50 µl TMB *High Sensitivity Substrate Solution* (spesifikasi Biolegend Cat: 42151 Lot: B240623) sebagai indikator warna biru pada masing-masing plate lalu inkubasi 15 menit pada ruang gelap. Apabila terjadi reaksi antara antigen dan antibodi maka akan berubah warna menjadi biru.
18) Menambahkan 50 µl HCl 1N sebagai stop reaksi pada masing-masing plate. Pada tahap ini larutan warna biru berubah menjadi warna kuning.
19) Melakukan pembacaan dengan ELISA reader pada panjang gelombang 450 nm. Hasil absorbansi dikonversi dengan kurva standart dan diketahui kadar metallothionein.

3.6 Analisis Data

Analisis data dalam penelitian ini menggunakan analisis regresi korelasi dengan model regresi linear sederhana pada software SPSS versi 16.0. Analisis regresi merupakan metode yang digunakan dalam berbagai penelitian untuk menentukan hubungan sebab akibat antara satu variabel dengan variabel yang

lain (Prawoto, 2016). Analisis regresi memiliki tiga kegunaan yaitu untuk tujuan deskripsi dari fenomena data yang diteliti, untuk tujuan prediksi, dan untuk tujuan kontrol. Regresi linear merupakan metode dalam statistika yang digunakan untuk membentuk model suatu hubungan antara variabel terikat (dependen atau respon; variabel Y) dengan satu atau lebih variabel bebas (independen atau prediktor; variabel X). Regresi linear sederhana adalah model regresi linear yang hanya memiliki satu variabel bebas (Kurniawan, 2008).

3.7 Analisis Kualitas Air

3.7.1 Suhu

Pengukuran suhu dilakukan menggunakan alat yaitu DO meter. Menurut Hermawati *et al*. (2009), prosedur pengukurannya adalah sebagai berikut:

1) Membilas alat DO meter dengan aquades sampai menunjukkan angka nol.
2) Memasukkan ujung hitam pada DO meter ke dalam air yang akan diuji.
3) Menunggu selama kurang lebih 3 menit.
4) Mencatat nilai DO sesuai dengan angka yang tertera pada DO meter.

3.7.2 Derajat Keasaman (pH)

Pengukuran pH dilakukan menggunakan alat yaitu pH meter. Adapun prosedur pengukurannya berdasarkan SNI No. 06-6989.11-2004 adalah sebagai berikut:

1) Membilas alat dengan menggunakan aquades dan dikeringkan dengan tisu.
2) Membilas elektroda dengan contoh uji atau larutan uji.
3) Memasukkan elektroda ke dalam contoh uji hingga pH meter menunjukkan pembacaan yang konstan.
4) Mencatat hasil pembacaan skala yang tertera pada tampilan pH meter.

3.7.3 Oksigen Terlarut

Oksigen terlarut diukur menggunakan alat yaitu DO meter. Adapun prosedur pengukurannya menurut Hermawati *et al*. (2009) adalah sebagai berikut:

1) Membilas alat DO meter dengan aquades sampai menunjukkan angka nol.
2) Memasukkan ujung hitam pada DO meter ke dalam air yang akan diuji.
3) Menunggu selama kurang lebih 3 menit.
4) Mencatat nilai DO sesuai dengan angka yang tertera pada DO meter.

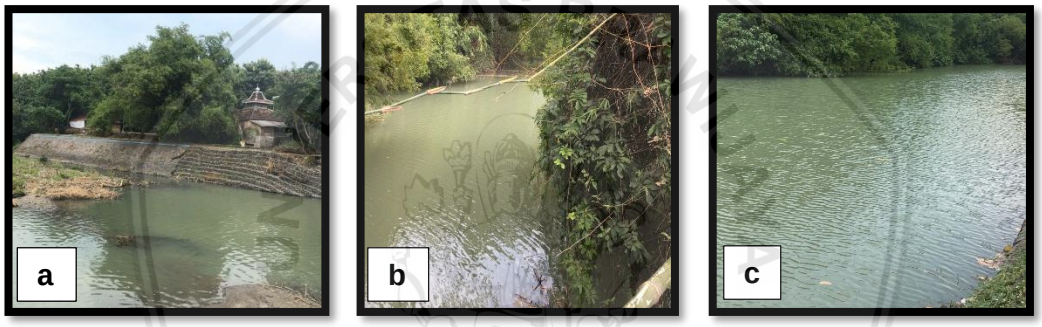
4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Kondisi Umum Stasiun 1 (Kecamatan Bangsal, Mojokerto)

Kabupaten Mojokerto merupakan salah satu kabupaten yang terletak di provinsi Jawa Timur. Secara geografis, Kabupaten Mojokerto terletak diantara 112°20'13" sampai dengan 112°40'47" Bujur Timur dan diantara -7°18'35" sampai dengan -7°47'30" Lintang Selatan. Kabupaten Mojokerto tidak berbatasan dengan pantai, namun memiliki batas-batas administratif antara lain yaitu sebelah Utara berbatasan dengan Kabupaten Lamongan dan Kabupaten Gresik, sebelah Timur berbatasan dengan Kabupaten Sidoarjo dan Kabupaten Pasuruan, sebelah Selatan berbatasan dengan Kabupaten Malang dan Kota Batu, serta sebelah Barat berbatasan dengan Kabupaten Jombang. Kabupaten Mojokerto terdiri dari 18 Kecamatan, 5 Kelurahan, dan 299 Desa. Luas wilayah Kabupaten Mojokerto seluruhnya mencapai 969.360 km^2 dan luas lahan 132.440 km^2 atau sekitar 13,66% dari luas wilayah Kabupaten Mojokerto dimanfaatkan sebagai area pemukiman.

Salah satu area pemukiman yang ada di Kabupaten Mojokerto terletak di Kecamatan Bangsal. Luas daerah Kecamatan Bangsal mencapai 24,06 km^2. Secara administratif, lokasi pemukiman yang digunakan dalam penelitian ini berada di Desa Bangsal, Kecamatan Bangsal, Kabupaten Mojokerto. Pada area pemukiman tersebut terdapat aliran Sungai Brantas yang dimanfaatkan oleh penduduk dalam kehidupan sehari-hari. Pengambilan sampel siput *Sulcospira testudinaria* di aliran Sungai Brantas sekitar pemukiman tersebut dilakukan pada tiga sub stasiun dengan koordinat masing-masing yaitu sub stasiun pertama terletak diantara 112°29.182' BT dan -7°30.274' LS, sub stasiun kedua terletak diantara 112°29.184' BT dan -7°30.231' LS, dan sub stasiun ketiga terletak diantara 112°29.206' BT dan -7°30.166' LS. Pada aliran sungai di sekitar

pemukiman penduduk tersebut dijumpai beberapa aktivitas seperti mandi, mencuci, membuang sampah, dan *home industry* kerupuk rambak yang secara tidak langsung memberi dampak terhadap kualitas perairan. Aktivitas tersebut menyebabkan banyaknya sampah yang menggenang, sisa-sisa sabun cuci di dalam sungai, dan bahan kimia yang digunakan dalam *home industry* masuk ke perairan sungai. Kondisi tersebut dapat menyebabkan pencemaran perairan sungai dan dapat mempengaruhi kondisi organisme seperti siput yang hidup di dalamnya. Siput yang ditemukan di aliran sungai tersebut hidup menempel pada tepian sungai. Lokasi penelitian pada stasiun 1 dapat dilihat pada **Gambar 8**.



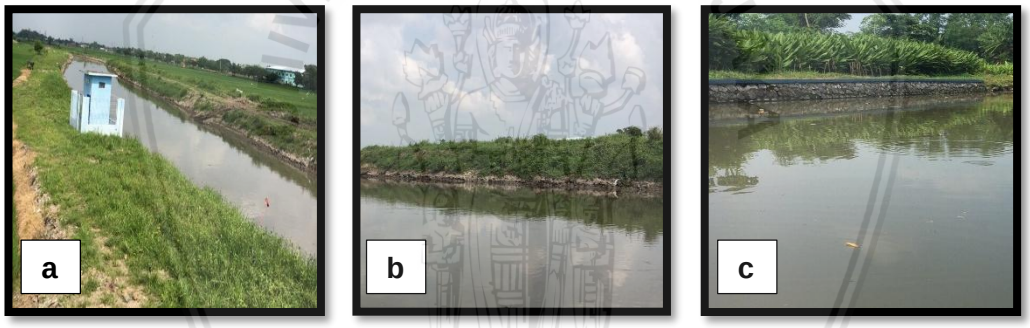
Gambar 8. Lokasi stasiun 1 (a) sub stasiun 1 (b) sub stasiun 2 (c) sub stasiun 3

4.2 Kondisi Umum Stasiun 2 (Kecamatan Mojoanyar, Mojokerto)

Kabupaten Mojokerto merupakan salah satu wilayah yang memiliki luas pemanfaatan lahan untuk pertanian yang cukup luas. Pemanfaatan lahan sebagai area pertanian memiliki luas 371.010 km^2 atau sekitar 38,27% dari luas wilayah Kabupaten Mojokerto secara menyeluruh. Salah satu daerah pertanian di Kabupaten Mojokerto terletak di Kecamatan Mojoanyar. Luas lahan pertanian di Kecamatan Mojoanyar mencapai 1.491 Ha.

Lokasi yang digunakan dalam penelitian ini merupakan area pertanian yang terletak di Desa Kepuh Anyar, Kecamatan Mojoanyar, Kabupaten Mojokerto. Di daerah sekitar lahan pertanian tersebut terdapat aliran Sungai Brantas yang dimanfaatkan oleh penduduk sekitar terutama petani. Pengambilan sampel siput

Sulcospira testudinaria di aliran Sungai Brantas tersebut dilakukan pada tiga sub stasiun dengan koordinat masing-masing yaitu sub stasiun pertama terletak diantara 112°28,942' BT dan -7°28,450' LS, sub stasiun kedua terletak diantara 112°29,004' BT dan -7°28,447' LS, dan sub stasiun ketiga terletak diantara 112°29,048' BT dan -7°28,427' LS. Adanya saluran irigasi yang mengandung limbah pertanian dan mengalir menuju sungai menyebabkan perubahan kualitas perairan di sungai tersebut. Selain kualitas perairan dapat tercemar, organisme yang hidup di perairan sungai seperti siput juga akan terpengaruh oleh limbah pertanian tersebut. Siput yang ditemukan di aliran sungai tersebut hidup menempel pada tepian sungai dan tanah yang berlumpur. Lokasi penelitian pada stasiun 2 dapat dilihat pada **Gambar 9**.



Gambar 9. Lokasi stasiun 2 (a) sub stasiun 1 (b) sub stasiun 2 (c) sub stasiun 3

4.3 Kondisi Umum Stasiun 3 (Kecamatan Karang Pilang, Surabaya)

Kota Surabaya merupakan ibu kota Provinsi Jawa Timur dan dikenal sebagai salah satu kota yang padat penduduk dan industri. Secara geografis, Kota Surabaya terletak diantara 112°36' sampai dengan 112°54' Bujur Timur dan diantara 7°9' sampai dengan 7°21' Lintang Selatan. Batas-batas wilayah Kota Surabaya antara lain yaitu sebelah Utara dan sebelah Timur berbatasan dengan Selat Madura, sebelah Selatan berbatasan dengan Kabupaten Sidoarjo, dan sebelah Barat berbatasan dengan Kabupaten Gresik. Kota Surabaya termasuk kategori daerah dataran rendah dengan ketinggian 3 – 6 meter di atas permukaan

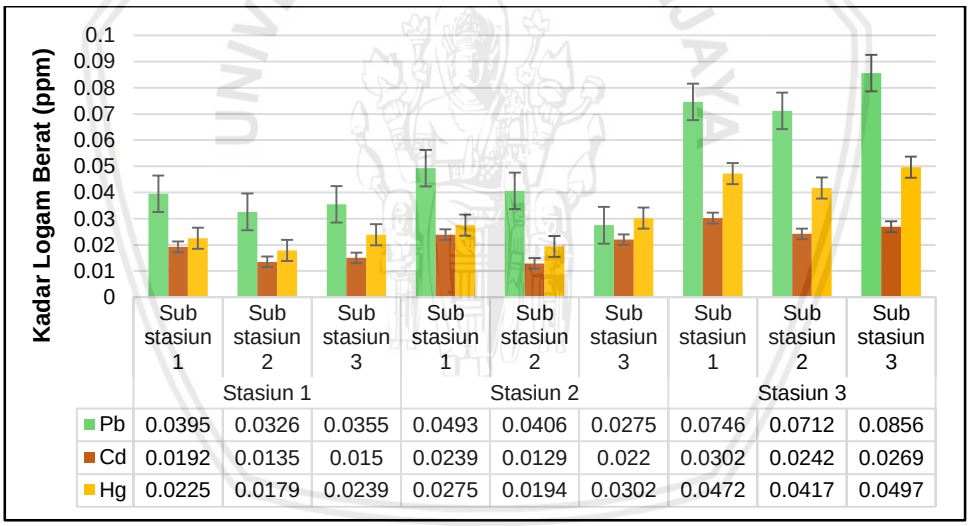
air laut, kecuali di bagian selatan terdapat dua bukit landai di daerah Gayungan dan Lidah yang memiliki ketinggian 25 – 50 meter di atas permukaan air laut. Luas wilayah Kota Surabaya mencapai 33.306,30 Ha serta terdiri dari 31 Kecamatan dan 160 Desa atau Kelurahan.

Lokasi yang digunakan dalam penelitian ini merupakan area industri yang terletak di Kelurahan Warugunung, Kecamatan Karang Pilang, Kota Surabaya. Pada sekitar area industri tersebut terdapat aliran Sungai Brantas yang dijadikan sebagai buangan limbah industri dari beberapa pabrik yang berada di sekitarnya. Hal ini menyebabkan perubahan kualitas perairan di sungai tersebut dan menjadi tercemar. Selain penurunan kualitas air, organisme yang berada di dalamnya seperti siput juga akan terpengaruh oleh perubahan kondisi perairan. Pengambilan sampel siput *Sulcospira testudinaria* di aliran Sungai Brantas tersebut dilakukan pada tiga sub stasiun dengan koordinat masing-masing yaitu sub stasiun pertama terletak diantara 112º42,447' BT dan -7º19,894' LS, sub stasiun kedua terletak diantara 112º42,597' BT dan -7º19,503 LS, dan sub stasiun ketiga terletak diantara 112º42,593' BT dan -7º19,366' LS. Siput yang ditemukan pada lokasi tersebut hidup di tepian sungai dan tanah yang berlumpur. Lokasi penelitian pada stasiun 3 dapat dilihat pada **Gambar 10**.

Gambar 10. Lokasi stasiun 3 (a) sub stasiun 1 (b) sub stasiun 2 (c) sub stasiun 3

4.4 Kadar Logam Berat pada Keseluruhan organ Siput *S. testudinaria*

Pengukuran logam berat pada keseluruhan organ siput *Sulcospira testudinaria* dilakukan menggunakan metode AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometry*). Logam berat yang diukur antara lain Pb, Cd, dan Hg pada setiap stasiun penelitian. Berdasarkan analisis kadar logam berat Pb, Cd, dan Hg pada keseluruhan organ siput *Sulcospira testudinaria* dari lokasi penelitian diperoleh hasil yang beragam. Hal ini disebabkan adanya perbedaan sumber limbah pencemaran pada setiap stasiun penelitian. Grafik hasil rata-rata pengukuran kadar logam berat pada keseluruhan organ siput *Sulcospira testudinaria* dapat dilihat pada **Gambar 11** dan data hasil pengukuran logam berat keseluruhan organ siput dapat dilihat pada **Lampiran 3**.



	Sub stasiun 1	Sub stasiun 2	Sub stasiun 3	Sub stasiun 1	Sub stasiun 2	Sub stasiun 3	Sub stasiun 1	Sub stasiun 2	Sub stasiun 3
	Stasiun 1			Stasiun 2			Stasiun 3		
Pb	0.0395	0.0326	0.0355	0.0493	0.0406	0.0275	0.0746	0.0712	0.0856
Cd	0.0192	0.0135	0.015	0.0239	0.0129	0.022	0.0302	0.0242	0.0269
Hg	0.0225	0.0179	0.0239	0.0275	0.0194	0.0302	0.0472	0.0417	0.0497

Gambar 11. Grafik rata-rata kadar logam berat pada keseluruhan organ *S.testudinaria*

Berdasarkan Gambar 11 diperoleh hasil rata-rata pengukuran logam berat Pb, Hg, dan Cd pada setiap stasiun penelitian. Stasiun 1 diperoleh hasil rata-rata kadar logam berat Pb pada ketiga sub stasiun antara lain yaitu sub stasiun 1 sebesar 0,0395 ppm, sub stasiun 2 sebesar 0,0326 ppm, dan sub stasiun 3 sebesar 0,0355 ppm. Logam berat Cd pada stasiun 1 diperoleh hasil rata-rata pada ketiga sub stasiun antara lain yaitu sub stasiun 1 sebesar 0,0192 ppm, sub stasiun

2 sebesar 0,0135 ppm, dan sub stasiun 3 sebesar 0,015 ppm. Sedangkan logam berat Hg pada stasiun 1 diperoleh hasil rata-rata pada ketiga sub stasiun antara lain yaitu sub stasiun 1 sebesar 0,0225 ppm, sub stasiun 2 sebesar 0,0179 ppm, dan sub stasiun 3 sebesar 0,0239 ppm.

Stasiun 2 diperoleh hasil rata-rata kadar logam berat Pb pada ketiga sub stasiun antara lain yaitu sub stasiun 1 sebesar 0,0493 ppm, sub stasiun 2 sebesar 0,0406 ppm, dan sub stasiun 3 sebesar 0,0275 ppm. Logam berat Cd pada stasiun 2 diperoleh hasil rata-rata pada ketiga sub stasiun antara lain yaitu sub stasiun 1 sebesar 0,0239 ppm, sub stasiun 2 sebesar 0,0129 ppm, dan sub stasiun 3 sebesar 0,022 ppm. Sedangkan logam berat Hg pada stasiun 2 diperoleh hasil rata-rata pada ketiga sub stasiun antara lain yaitu sub stasiun 1 sebesar 0,0275 ppm, sub stasiun 2 sebesar 0,0194 ppm, dan sub stasiun 3 sebesar 0,0302 ppm.

Stasiun 3 diperoleh hasil rata-rata kadar logam berat Pb pada ketiga sub stasiun antara lain yaitu sub stasiun 1 sebesar 0,0746 ppm, sub stasiun 2 sebesar 0,0712 ppm, dan sub stasiun 3 sebesar 0,0856 ppm. Logam berat Cd pada stasiun 3 diperoleh hasil rata-rata pada ketiga sub stasiun antara lain yaitu sub stasiun 1 sebesar 0,0302 ppm, sub stasiun 2 sebesar 0,0242 ppm, dan sub stasiun 3 sebesar 0,0269 ppm. Sedangkan logam berat Hg pada stasiun 3 diperoleh hasil rata-rata pada ketiga sub stasiun antara lain yaitu sub stasiun 1 sebesar 0,0472 ppm, sub stasiun 2 sebesar 0,0417 ppm, dan sub stasiun 3 sebesar 0,0497 ppm.

Menurut SNI (2009), batas baku mutu pangan untuk logam berat Pb sebesar 1,5 ppm, logam berat Hg dan Cd sebesar 1 ppm. Berdasarkan landasan tersebut dapat dikatakan bahwa hasil rata-rata kadar logam berat pada ketiga stasiun masih dalam ambang batas aman. Hasil yang diperoleh pada ketiga stasiun penelitian berbeda-beda, hal ini disebabkan oleh perbedaan sumber pencemaran pada setiap lokasi. Susanti *et al*. (2014) menyatakan bahwa pada umumnya polutan yang masuk ke dalam lingkungan perairan berasal dari

pengendapan dan sebagian besar substansinya disebabkan oleh kegiatan manusia. Pembangunan sektor industri akibat pertumbuhan penduduk dan peningkatan konsumsi akan meningkatkan pencemaran berat terhadap sumber daya alam. Secara alami, logam berat yang masuk ke perairan dapat berasal dari pelapukan tanah, batu, dan aktivitas manusia seperti penggunaan pestisida, pemupukan, limbah industri, dan limbah domestik yang dibuang ke badan air. Selain berpengaruh terhadap kualitas perairan, logam berat juga mempengaruhi sumber daya hayati perairan dikarenakan logam berat bersifat akumulatif pada tubuh biota. Akumulasi terjadi karena adanya proses absorbsi logam berat ke dalam tubuh baik melalui saluran pernapasan maupun saluran pencernaan. Logam berat yang terakumulasi dalam jaringan tubuh dapat menyebabkan kematian organisme. Sebagaimana pendapat Gupta *et al*. (2014), faktor urbanisasi dan industrialisasi yang pesat menjadi kontribusi besar dalam pembuangan limbah industri dan rumah tangga yang mengandung logam berat ke dalam badan air seperti sungai. Limbah yang mengandung logam berat tersebut secara simultan akan tersebar luas di dalam air dan terserap oleh sedimen di dalamnya. Logam berat yang masuk ke dalam ekosistem perairan akan cepat meluas melalui jaring makanan serta dapat menimbulkan dampak buruk terhadap kehidupan biota air. Gastropoda merupakan salah satu organisme akuatik yang memiliki kemampuan dalam beradaptasi terhadap kontaminasi logam berat yang tinggi bahkan dengan paparan yang kontinyu.

Kelompok gastropoda merupakan salah satu konsumen pertama dalam rantai makanan yang dapat mengakumulasi logam berat dalam jumlah besar tanpa menunjukkan efek fisiologis yang nyata. Akumulasi logam berat dalam tubuh organisme air dapat terjadi melalui penyerapan langsung melewati membran tubuh ataupun penyerapan tidak langsung melalui makanan yang dicerna (Das dan Jana, 2003). Mekanisme dalam pencernaan makanan memiliki peranan penting

dalam penyerapan logam berat. Gastropoda dapat mencerna makanan yang mengandung logam berat dari perifiton, bahan organik, maupun bahan anorganik di dalam perairan maupun sedimen (Nashaat *et al*., 2016). Dampak toksik dalam tubuh organisme yang disebabkan oleh pengaruh suatu zat tergantung pada jumlah zat yang terdapat pada bagian rentan dalam tubuh. Secara umum logam berat dapat terakumulasi dalam jaringan tubuh seperti insang, hati, ginjal, keseluruhan organ, daging, dan otot (Dewi *et al*., 2014).

Logam berat memiliki sifat mudah mengikat bahan organik, mengendap di dasar perairan, dan menyatu dengan sedimen. Logam berat bersifat *non degradable* oleh organisme hidup dan terakumulasi ke lingkungan sehingga membentuk senyawa yang kompleks dengan bahan organik dan anorganik secara kombinasi dan adsorpsi. Jumlah logam berat yang terakumulasi dalam tubuh biota akuatik tergantung pada efek kimia logam berat serta cenderung berikatan dengan protein dan lipid pada jaringan biologis. Salah satu logam berat yang banyak ditemukan di lingkungan perairan adalah Cd. Jenis logam berat Cd memiliki efek toksik pada organisme dan diketahui memiliki waktu paruh yang panjang dalam tubuh organisme. Cd diketahui tidak memiliki fungsi biologis di dalam sel, namun memiliki sifat reaktif yang sangat tinggi dan dapat menginaktifkan berbagai macam aktivitas enzim yang dibutuhkan oleh sel. Setelah diabsorpsi oleh sel, jenis logam ini akan terakumulasi di dalam organ target dan menimbulkan toksisitas. Logam Cd dapat menginduksi kerusakan pada fungsi membran yaitu pada komposisi lipid membran sel. Dampak lain yang ditimbulkan adalah dapat menghambat pengambilan nutrisi, menghambat aktivitas enzim termasuk sistem antioksidan organisme hidup. Paparan logam berat kadmium menyebabkan pertumbuhan menjadi lambat dan menghambat pengambilan ion kalsium pada organ insang. Pada konsentrasi yang tinggi, kadmium merupakan logam berat yang bersifat karsinogen, mutagenik, dan teratogenik pada beberapa jenis organisme. Sifat

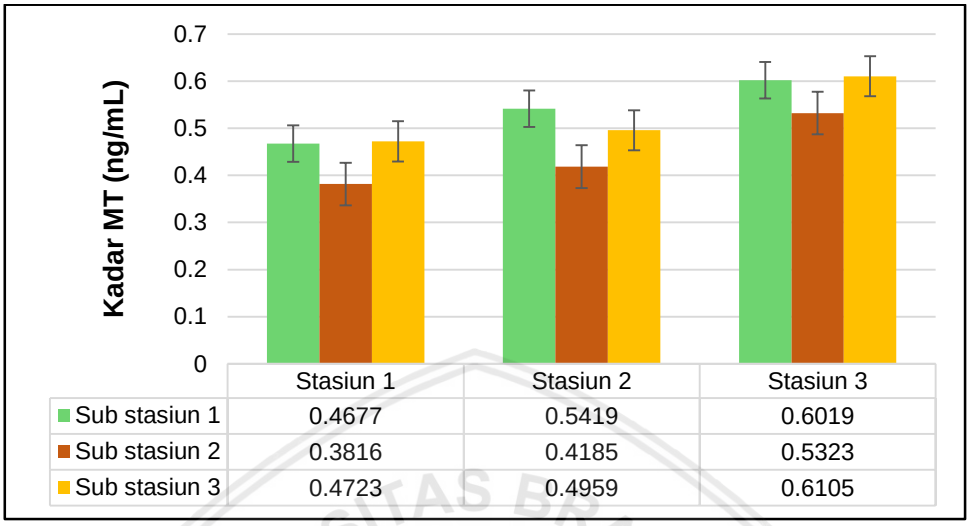
karsinogenik kadmium menyebabkan logam berat menjadi urutan pertama agen mutagenik bagi organisme hidup (Rumahlatu *et al*., 2012).

Selain logam Cd, logam berat yang sering ditemukan di perairan adalah timbal (Pb). Logam berat Pb merupakan kelompok logam yang bersifat racun dan berbahaya bagi makhluk hidup. Logam Pb yang masuk ke dalam perairan merupakan dampak dari aktifitas manusia seperti buangan limbah yang kemudian akan mengalami pengendapan (Budiastuti *et al*., 2016). Merkuri (Hg) juga terkenal menjadi kelompok logam toksik di perairan dan dapat terakumulasi dalam tubuh. Pemanfaatan logam merkuri saat ini semakin meluas. Merkuri telah banyak digunakan dalam bidang pertanian, kedokteran, dan industri. Bidang kedokteran menggunakan merkuri untuk pengobatan penyakit kelamin dan sebagai bahan pembuatan kosmetik. Pada bidang pertanian, merkuri biasanya digunakan untuk membunuh jamur, pengawet produk hasil pertanian, dan pembasmi hama. Sedangkan dalam bidang industri, merkuri digunakan oleh pabrik alat listrik sebagai lampu penerangan jalan raya, bahan pembuatan baterai, penjernihan air dan pembasmi kuman oleh perusahaan air minum, dan juga digunakan sebagai campuran cat. Sebagian besar merkuri yang terdapat di alam dihasilkan oleh sisa industri. Komponen merkuri yang masuk ke dalam tubuh secara kontinyu akan menyebabkan kerusakan pada organ hati, ginjal, dan otak. Ion merkuri menyebabkan pengaruh toksik yang terjadi karena proses presipitasi protein menghambat aktivitas enzim dan sifatnya yang korosif (Alfian, 2006).

4.5 Kadar Metallothionein pada Keseluruhan organ Siput *S. testudinaria*

Analisis kadar metallothionein pada keseluruhan organ siput *Sulcospira testudinaria* dilakukan menggunakan metode indirect ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*). Ketiga stasiun penelitian menunjukkan hasil kadar metallothionein yang beragam. Adapun grafik hasil rata-rata kadar metallothionein

pada setiap stasiun penelitian dapat dilihat pada **Gambar 12** dan data hasil pengukuran kadar metallothionein dapat dilihat pada **Lampiran 4**.



	Stasiun 1	Stasiun 2	Stasiun 3
Sub stasiun 1	0.4677	0.5419	0.6019
Sub stasiun 2	0.3816	0.4185	0.5323
Sub stasiun 3	0.4723	0.4959	0.6105

Gambar 12. Grafik rata-rata kadar metallothionein (MT) pada keseluruhan organ *S.testudinaria*

Berdasarkan Gambar 12, diperoleh hasil rata-rata pengukuran kadar metallothionein (MT) keseluruhan organ siput *Sulcospira testudinaria* pada ketiga sub stasiun di setiap stasiun penelitian. Stasiun 1 diperoleh hasil rata-rata kadar MT pada ketiga sub stasiun masing-masing yaitu sub stasiun 1 sebesar 0,4677 ng/mL, sub stasiun 2 sebesar 0,3816 ng/mL, dan sub stasiun 3 sebesar 0,4723 ng/mL. Stasiun 2 diperoleh hasil rata-rata kadar MT pada ketiga sub stasiun masing-masing yaitu sub stasiun 1 sebesar 0,5419 ng/mL, sub stasiun 2 sebesar 0,4185 ng/mL, dan sub stasiun 3 sebesar 0,4959 ng/mL. Stasiun 3 diperoleh hasil rata-rata kadar MT pada ketiga sub stasiun masing-masing yaitu sub stasiun 1 sebesar 0,6019 ng/mL, sub stasiun 2 sebesar 0,5323 ng/mL, dan sub stasiun 3 sebesar 0,6105 ng/mL. Hasil di atas menunjukkan bahwa setiap stasiun memiliki kadar MT yang berbeda-beda. Perbedaan kadar MT ini dapat dipengaruhi oleh jumlah logam berat yang terakumulasi pada tubuh siput *Sulcospira testudinaria*. Sebagaimana ungkapan Lecoeur *et al*. (2004) bahwa studi ekotoksikologi tentang efek logam berat menyatakan bahwa metallothionein berpotensi menjadi

biomarker paparan logam berat. Metallothionein menunjukkan respon dini terhadap logam berat tertentu seperti Cd, Cu, Ag, Hg, Pb serta diasumsikan menjadi peran utama dalam homeostatis logam seluler dengan menyimpan logam esensial dan detoksifikasi logam berat. Kandungan metallothionein sangat dipengaruhi oleh induksi logam berat yang berasal dari lingkungan hidup suatu organisme. Nashaat *et al*. (2016) menambahkan bahwa organisme memiliki kemampuan untuk mendetoksifikasi logam berat dengan cara menyimpan logam dalam suatu ikatan protein pengikat logam seperti metallothionein. Protein tersebut dapat mengikat beberapa logam berat seperti Cu, Cd, Hg, Zn, Cu, Pb, dan Ag.

Protein pengikat logam metallothionein pada organisme air berfungsi dalam mengevaluasi paparan logam dan memprediksi toksisitas logam berat. Peningkatan konsentrasi logam berat umumnya berkaitan dengan peningkatan konsentrasi metallothionein pada tubuh organisme. Biaokumulasi logam berat dalam tubuh organisme dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti usia, ukuran, laju makan, dan kondisi lingkungan (Leung dan Furness, 1999). Metallothionein berfungsi sebagai detoksifikasi logam berat. Apabila terjadi paparan logam berat yang memiliki afinitas tinggi terhadap thionein maka logam tersebut memiliki kemampuan tinggi dalam menginduksi metallothionein (Dewi *et al*., 2014).

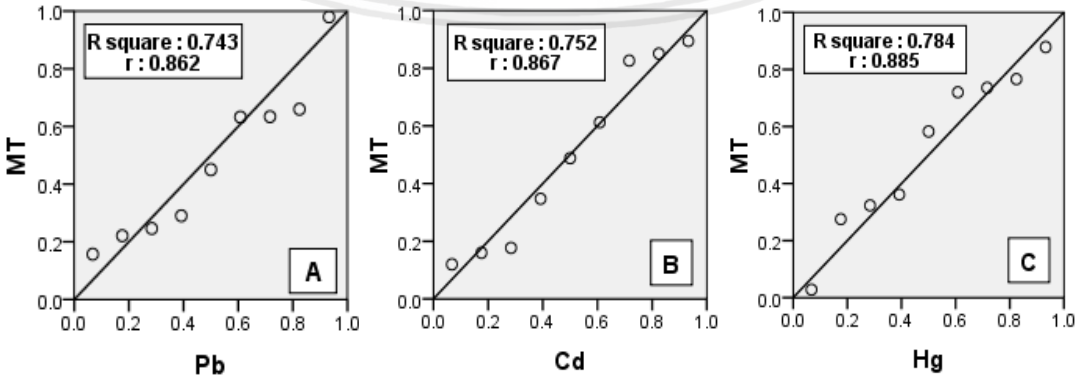
Protein metallothionein diketahui memiliki dua fungsi utama yaitu sebagai detoksifikasi logam berat dan *scavenger* radikal bebas. Hal tersebut menunjukkan bahwa metallothionein sebagai protein terlibat dalam metabolisme logam berat yang berperan penting dalam menjalankan fungsi sel suatu organisme. Oleh sebab itu, metallothionein tidak hanya mengikat sejumlah logam di dalam sel tetapi juga mengembalikan kemampuan fungsi protein yang tidak aktif akibat logam berat (Rumahlatu *et al*., 2012).

4.6 Hubungan Kadar Logam Berat terhadap Kadar Metallothionein pada Siput *Sulcospira testudinaria*

Hubungan antara kadar logam berat dan kadar metallothionein pada keseluruhan organ siput *Sulcospira testudinaria* dapat diketahui melalui analisis regresi dengan aplikasi SPSS 16.0. Menurut Yudiaatmaja (2013), secara umum analisis regresi digunakan untuk mengidentifikasi variabel bebas yang signifikan dalam mempengaruhi variabel terikat. Selain itu juga untuk mengetahui besarnya perubahan variabel bebas yang dapat mempengaruhi perubahan variabel terikat dengan melalui perhitungan koefisien variabel bebasnya. Adapun analisis yang digunakan dalam penelitian ini yaitu analisis regresi linear sederhana dengan kadar logam berat (Pb, Cd, dan Hg) pada keseluruhan organ siput sebagai variabel bebas/independen (X) dan kadar metallothionein pada keseluruhan organ siput sebagai variabel terikat/dependen (Y). Adapun output perhitungan regresi linear dapat dilihat pada **Lampiran 5**.

4.6.1 Hubungan Kadar Logam Berat terhadap Kadar Metallothionein pada Siput *Sulcospira testudinaria* (Stasiun 1)

Hasil analisis hubungan antara kadar logam berat (Pb, Cd, dan Hg) terhadap kadar metallothionein pada stasiun 1 dengan menggunakan regresi linear sederhana dapat dilihat pada **Gambar 13**.



Gambar 13. Grafik hubungan antara logam berat Pb (A), Cd (B), dan Hg (C) terhadap kadar metallothionein dalam keseluruhan organ *S.testudinaria* (Stasiun 1)

Berdasarkan Gambar 13, hasil analisis regresi pada stasiun 1 diperoleh bahwa kadar logam berat Pb terhadap kadar MT pada keseluruhan organ siput *Sulcospira testudinaria* memiliki nilai koefisiensi determinasi (R^2) sebesar 0,743 dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,862. Variabel Pb memberi pengaruh sebesar 74,3% terhadap kadar metallothionein dan 25,7% dipengaruhi oleh faktor lain. Hasil analisis regresi antara logam berat Cd dengan MT diperoleh nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,752 dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,867. Variabel Cd memberi pengaruh sebesar 75,2% terhadap kadar metallothionein dan 24,8% dipengaruhi oleh faktor lain. Sedangkan untuk hasil analisis regresi antara logam berat Hg dengan MT diperoleh nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,784 dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,885. Variabel Hg memberi pengaruh sebesar 78,4% terhadap kadar metallothionein dan 21,6% dipengaruhi oleh faktor lain.

Tabel 2. Uji standarisasi Z (*Z-score*) stasiun 1

Coefficients[a]

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	3.709E-16	.181		.000	1.000
	Zscore(Pb)	.862	.192	.862	4.500	.003

a. Dependent Variable: Zscore(MT)

Coefficients[a]

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	4.146E-16	.178		.000	1.000
	Zscore(Cd)	.867	.188	.867	4.605	.002

a. Dependent Variable: Zscore(MT)

Coefficients[a]

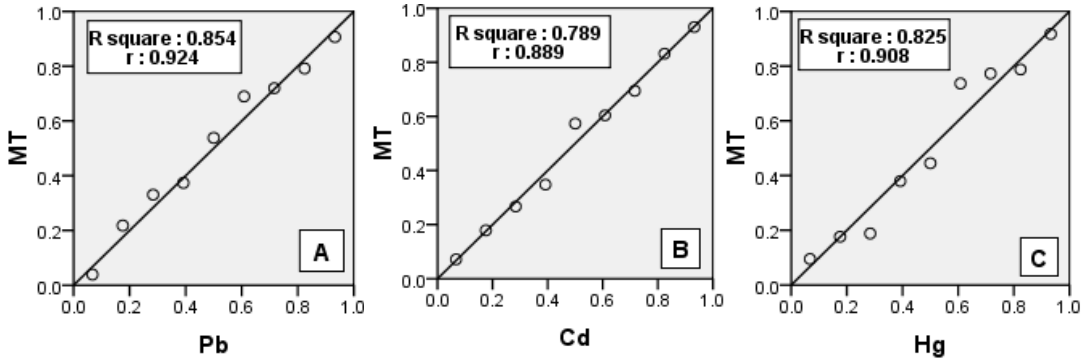
Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	2.543E-17	.166		.000	1.000
	Zscore(Hg)	.885	.176	.885	5.042	.001

a. Dependent Variable: Zscore(MT)

Berdasarkan hasil uji standarisasi Z (Z-*score*) pada tabel 2 diketahui bahwa pengaruh logam berat antara Pb, Cd, dan Hg terhadap kadar metallothionein paling besar di stasiun 1 adalah logam berat Hg sebesar 0,885 dan nilai koefisien korelasi (r) untuk logam berat Pb, Cd, dan Hg pada stasiun 1 memiliki hubungan yang kuat sebagaimana pernyataan dari Sugiyono (2009), interval koefisien korelasi antara 0,6 – 0,799 menunjukkan tingkat hubungan yang kuat antar variabel. Sedangkan jika interval koefisien korelasi antara 0,8 – 1 menunjukkan tingkat hubungan yang sangat kuat antar variabel. Menurut Ulumuddin *et al*. (2005), hasil uji statistik dinyatakan dengan nilai koefisien korelasi (R). Koefisien ini menunjukkan bahwa adanya kekuatan hubungan linear antara variabel bebas dan terikat. Apabila nilai R lebih kecil dari 0,4 maka menunjukkan hubungan antar variabel yang lemah. Sedangkan apabila nilai R mendekati 1 atau R=1 maka menunjukkan hubungan antar variabel yang kuat. Hal ini juga didukung oleh pernyataan Budiwati *et al*. (2010), apabila nilai koefisien korelasi lebih dari 0,5 atau lebih kecil dari –0,5 maka variabel-variabel yang ada menunjukkan korelasi yang kuat. Apabila koefisien korelasinya bernilai positif maka kenaikan (penurunan) nilai variabel bebas umumnya diikuti oleh kenaikan (penurunan) nilai variabel tak bebas atau terikat. Sedangkan jika koefisien korelasinya bernilai negatif maka kenaikan (penurunan) nilai variabel bebas umumnya diikuti oleh penurunan (kenaikan) nilai variabel terikat.

4.6.2 Hubungan Kadar Logam Berat terhadap Kadar Metallothionein pada Siput *Sulcospira testudinaria* (Stasiun 2)

Hasil analisis hubungan antara kadar logam berat (Pb, Cd, dan Hg) terhadap kadar metallothionein pada stasiun 2 dengan menggunakan regresi linear sederhana dapat dilihat pada **Gambar 14**.



Gambar 14. Grafik hubungan antara logam berat Pb (A), Cd (B), dan Hg (C) terhadap kadar metallothionein dalam keseluruhan organ *S.testudinaria* (Stasiun 2)

Berdasarkan Gambar 14, hasil analisis regresi pada stasiun 2 diperoleh bahwa kadar logam berat Pb terhadap kadar MT pada keseluruhan organ siput Sulcospira testudinaria memiliki nilai koefisiensi determinasi (R^2) sebesar 0,854 dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,924. Variabel Pb memberi pengaruh sebesar 85,4% terhadap kadar metallothionein dan 14,6% dipengaruhi oleh faktor lain. Hasil analisis regresi antara logam berat Cd dengan MT diperoleh nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,789 dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,889. Variabel Cd memberi pengaruh sebesar 78,9% terhadap kadar metallothionein dan 21,1% dipengaruhi oleh faktor lain. Sedangkan untuk hasil analisis regresi antara logam berat Hg dengan MT diperoleh nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,825 dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,908. Variabel Hg memberi pengaruh sebesar 82,5% terhadap kadar metallothionein dan 17,5% dipengaruhi oleh faktor lain.

Tabel 3. Uji standarisasi Z (Z-*score*) stasiun 2

Coefficients[a]

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	1.237E-16	.136		.000	1.000
	Zscore(Pb)	.924	.144	.924	6.403	.000

a. Dependent Variable: Zscore(MT)

Coefficients[a]

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	1.048E-16	.163		.000	1.000
	Zscore(Cd)	.889	.173	.889	5.124	.001

a. Dependent Variable: Zscore(MT)

Coefficients[a]

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	-2.292E-16	.149		.000	1.000
	Zscore(Hg)	.908	.158	.908	5.749	.001

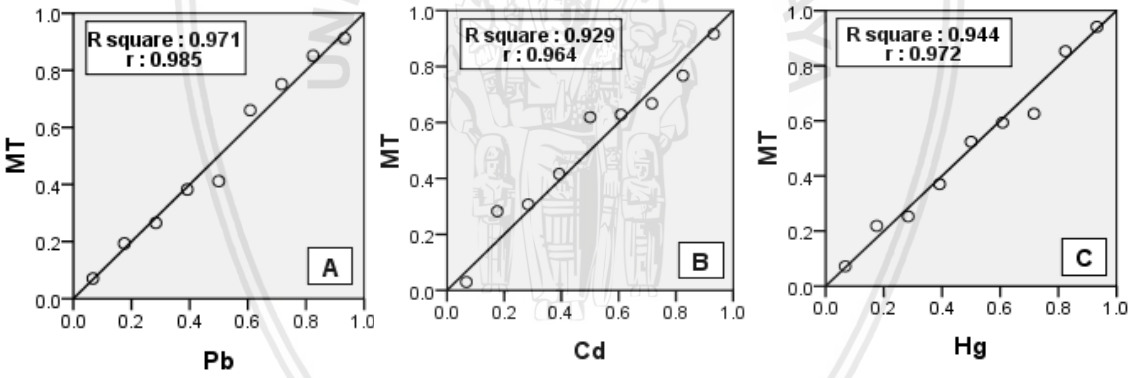
a. Dependent Variable: Zscore(MT)

Berdasarkan hasil uji standarisasi Z (Z-*score*) pada tabel 3 diketahui bahwa pengaruh logam berat antara Pb, Cd, dan Hg terhadap kadar metallothionein paling besar di stasiun 2 adalah logam berat Pb sebesar 0,924 dan nilai koefisien korelasi (r) untuk logam berat Pb, Cd, dan Hg pada stasiun 2 memiliki hubungan yang kuat sebagaimana pernyataan dari Sugiyono (2009), interval koefisien korelasi antara 0,6 – 0,799 menunjukkan tingkat hubungan yang kuat antar variabel. Sedangkan jika interval koefisien korelasi antara 0,8 – 1 menunjukkan tingkat hubungan yang sangat kuat antar variabel. Menurut Ulumuddin *et al*. (2005), hasil uji statistik dinyatakan dengan nilai koefisien korelasi (R). Koefisien ini menunjukkan bahwa adanya kekuatan hubungan linear antara variabel bebas dan terikat. Apabila nilai R lebih kecil dari 0,4 maka menunjukkan hubungan antar variabel yang lemah. Sedangkan apabila nilai R mendekati 1 atau R=1 maka menunjukkan hubungan antar variabel yang kuat. Hal ini juga didukung oleh

pernyataan Budiwati *et al*. (2010), apabila nilai koefisien korelasi lebih dari 0,5 atau lebih kecil dari –0,5 maka variabel-variabel yang ada menunjukkan korelasi yang kuat. Apabila koefisien korelasinya bernilai positif maka kenaikan (penurunan) nilai variabel bebas umumnya diikuti oleh kenaikan (penurunan) nilai variabel tak bebas atau terikat. Sedangkan jika koefisien korelasinya bernilai negatif maka kenaikan (penurunan) nilai variabel bebas umumnya diikuti oleh penurunan (kenaikan) nilai variabel terikat.

4.6.3 Hubungan Kadar Logam Berat terhadap Kadar Metallothionein pada Siput *Sulcospira testudinaria* (Stasiun 3)

Hasil analisis hubungan antara kadar logam berat (Pb, Cd, dan Hg) terhadap kadar metallothionein pada stasiun 3 dengan menggunakan regresi linear sederhana dapat dilihat pada **Gambar 15**.



Gambar 15. Grafik hubungan antara logam berat Pb (A), Cd (B), dan Hg (C) terhadap kadar metallothionein dalam keseluruhan organ *S.testudinaria* (Stasiun 3)

Berdasarkan Gambar 15, hasil analisis regresi pada stasiun 3 diperoleh bahwa kadar logam berat Pb terhadap kadar MT pada keseluruhan organ siput *Sulcospira testudinaria* memiliki nilai koefisiensi determinasi (R^2) sebesar 0,971 dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,985. Variabel Pb memberi pengaruh sebesar 97,1% terhadap kadar metallothionein dan 2,9% dipengaruhi oleh faktor lain. Hasil analisis regresi antara logam berat Cd dengan MT diperoleh nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,929 dengan koefisien korelasi (r) sebesar

0,964. Variabel Cd memberi pengaruh sebesar 92,9% terhadap kadar metallothionein dan 7,1% dipengaruhi oleh faktor lain. Sedangkan untuk hasil analisis regresi antara logam berat Hg dengan MT diperoleh nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,944 dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,972. Variabel Hg memberi pengaruh sebesar 94,4% terhadap kadar metallothionein dan 5,6% dipengaruhi oleh faktor lain.

Tabel 4. Uji standarisasi Z (Z-*score*) stasiun 3

Coefficients[a]

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	2.446E-16	.060		.000	1.000
	Zscore(Pb)	.985	.064	.985	15.359	.000

a. Dependent Variable: Zscore(MT)

Coefficients[a]

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	-2.022E-17	.095		.000	1.000
	Zscore(Cd)	.964	.101	.964	9.583	.000

a. Dependent Variable: Zscore(MT)

Coefficients[a]

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	2.810E-18	.084		.000	1.000
	Zscore(Hg)	.972	.090	.972	10.849	.000

a. Dependent Variable: Zscore(MT)

Berdasarkan uji standarisasi Z (Z-*score*) pada tabel 4 diketahui bahwa pengaruh antara logam berat Pb, Cd, dan Hg terhadap kadar metallothionein paling besar di stasiun 3 adalah logam berat Pb sebesar 0,985 dan nilai koefisien korelasi (r) untuk logam berat Pb, Cd, dan Hg pada stasiun 3 memiliki hubungan yang kuat sebagaimana pernyataan dari Sugiyono (2009), interval koefisien korelasi antara 0,6 – 0,799 menunjukkan tingkat hubungan yang kuat antar

variabel. Sedangkan jika interval koefisien korelasi antara 0,8 – 1 menunjukkan tingkat hubungan yang sangat kuat antar variabel. Menurut Ulumuddin *et al.* (2005), hasil uji statistik dinyatakan dengan nilai koefisien korelasi (R). Koefisien ini menunjukkan bahwa adanya kekuatan hubungan linear antara variabel bebas dan terikat. Apabila nilai R lebih kecil dari 0,4 maka menunjukkan hubungan antar variabel yang lemah. Sedangkan apabila nilai R mendekati 1 atau R=1 maka menunjukkan hubungan antar variabel yang kuat. Hal ini juga didukung oleh pernyataan Budiwati *et al*. (2010), apabila nilai koefisien korelasi lebih dari 0,5 atau lebih kecil dari –0,5 maka variabel-variabel yang ada menunjukkan korelasi yang kuat. Apabila koefisien korelasinya bernilai positif maka kenaikan (penurunan) nilai variabel bebas umumnya diikuti oleh kenaikan (penurunan) nilai variabel tak bebas atau terikat. Sedangkan jika koefisien korelasinya bernilai negatif maka kenaikan (penurunan) nilai variabel bebas umumnya diikuti oleh penurunan (kenaikan) nilai variabel terikat.

4.7 Parameter Kualitas Air

Kualitas air yang diukur dalam penelitian ini antara lain suhu, pH, dan oksigen terlarut. Pengukuran parameter kualitas air dilakukan secara insitu pada ketiga stasiun penelitian yaitu di Kecamatan Bangsal dan Kecamatan Mojoanyar Kabupaten Mojokerto, serta Kecamatan Karang Pilang Kota Surabaya. Setiap stasiun ditentukan 3 sub stasiun dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Adapun hasil pengukuran kualitas air pada ketiga stasiun penelitian dapat dilihat pada **Tabel 5.**

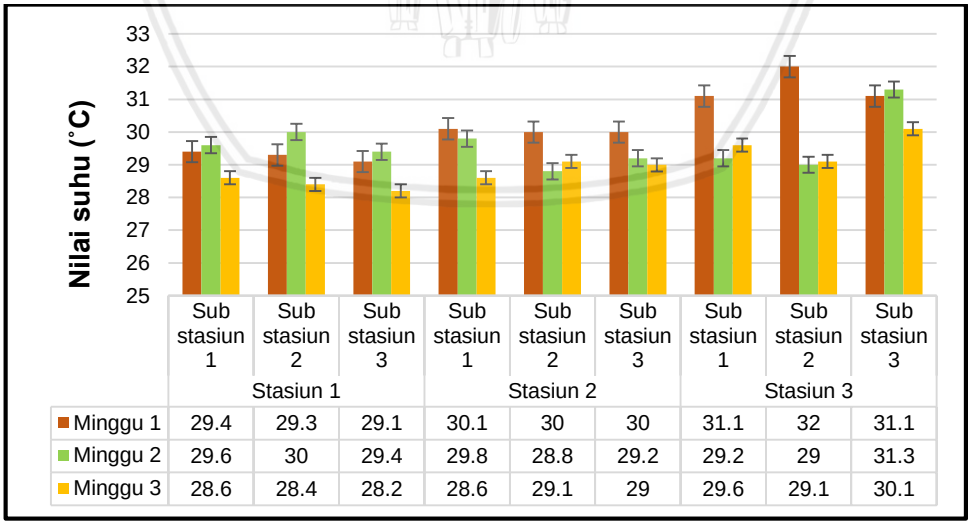
Tabel 5. Hasil pengukuran kualitas air

Parameter	Sub stasiun	Stasiun Penelitian									Standar Baku Mutu
		I			II			III			
		Minggu ke-									
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	
Suhu (^{O}C)	1	29.4	29.6	28.6	30.1	29.8	28.6	31.1	29.2	29.6	26–31^{O}C*)
	2	29.3	30	28.4	30	28.8	29.1	32	29	29.1	
	3	29.1	29.4	28.2	30	29.2	29	31.1	31.3	30.1	
pH	1	7.1	7.3	7.2	7.1	7.2	6.9	6.8	6.9	6.5	6 – 9**)
	2	7.1	7.4	7.2	6.9	7.4	6.9	6.9	6.7	6.4	
	3	7	7.3	6.9	7	7.1	6.8	6.7	6.8	6.4	
Oksigen terlarut (ppm)	1	8	7.2	8.1	7.7	6.9	5.4	5.9	6.7	6.6	≤ 4 ppm**)
	2	8.1	8.1	7.8	7.1	7.2	5.8	5.7	7.1	6.5	
	3	8	7.2	7.1	6.9	7.1	5.7	5.6	6.5	6.2	

Keterangan:
*)Hutabarat dan Evans (1985)
**)PP No.82 Tahun 2001

4.7.1 Suhu

Suhu merupakan salah satu faktor fisika yang berpengaruh terhadap kualitas perairan dan kelangsungan hidup organisme akuatik. Adapun hasil pengukuran suhu pada ketiga stasiun penelitian dapat dilihat pada **Gambar 16**.



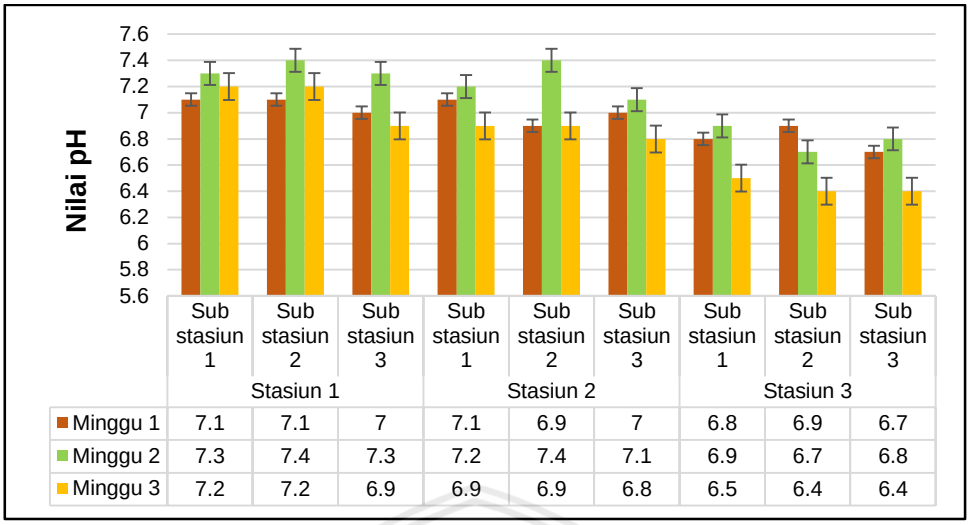
Gambar 16. Grafik pengukuran suhu

Berdasarkan Gambar 16, hasil pengukuran suhu pada ketiga stasiun penelitian antara lain yaitu stasiun 1 berkisar 28,2^{O}C–30^{O}C, stasiun 2 berkisar 28,6^{O}C –30,1^{O}C, dan stasiun 3 berkisar 29^{O}C –32^{O}C. Perbedaan hasil pengukuran suhu pada ketiga stasiun tersebut disebabkan oleh waktu pengukuran yang berbeda, namun fluktuasi suhu antar stasiun tidak terlalu besar dan kisaran tersebut masih dalam batas normal untuk kehidupan organisme perairan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Hutabarat dan Evans (1985) bahwa suhu untuk kehidupan organisme perairan memiliki kisaran antara 26^{O}C–31^{O}C.

Suhu dalam suatu ekosistem perairan dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti penetrasi cahaya, pertukaran panas antara air dan udara sekitarnya, dan ketinggian penutup vegetasi dari pepohonan yang berada di pinggiran perairan (Odum, 1998). Suhu berpengaruh terhadap daur hidup organisme dan menjadi faktor pembatas penyebaran suatu jenis dalam mempertahankan kelangsungan hidup, perkembangan, reproduksi, dan kompetisi. (Krebs, 1989). Perubahan suhu dapat menyebabkan perbedaan komposisi dan kelimpahan gastropoda (Hutabarat dan Evans, 1995). Gastropoda air tawar memiliki toleransi suhu untuk pertumbuhan dan kelangsungan hidupnya dengan kisaran antara 20^{o}C–30^{o}C (Hamidah, 2000). Perbedaan suhu juga akan mempengaruhi toksisitas logam berat di perairan. Selain meningkatkan metabolisme biota perairan, kenaikan suhu juga akan menyebabkan peningkatan toksisitas logam berat di perairan (Hutagalung, 1984).

4.7.2 Derajat keasaman (pH)

Derajat keasaman atau pH digunakan untuk menunjukkan tingkat keasaman atau kebasaan suatu larutan dan dinyatakan dalam konsentrasi ion hidrogen (H^{+}). pH merupakan salah satu faktor kimia yang berpengaruh terhadap kehidupan organisme perairan. Adapun hasil pengukuran pH pada ketiga stasiun penelitian dapat dilihat pada **Gambar 17**.



	Sub stasiun 1	Sub stasiun 2	Sub stasiun 3	Sub stasiun 1	Sub stasiun 2	Sub stasiun 3	Sub stasiun 1	Sub stasiun 2	Sub stasiun 3
	Stasiun 1			Stasiun 2			Stasiun 3		
Minggu 1	7.1	7.1	7	7.1	6.9	7	6.8	6.9	6.7
Minggu 2	7.3	7.4	7.3	7.2	7.4	7.1	6.9	6.7	6.8
Minggu 3	7.2	7.2	6.9	6.9	6.9	6.8	6.5	6.4	6.4

Gambar 17. Grafik pengukuran pH

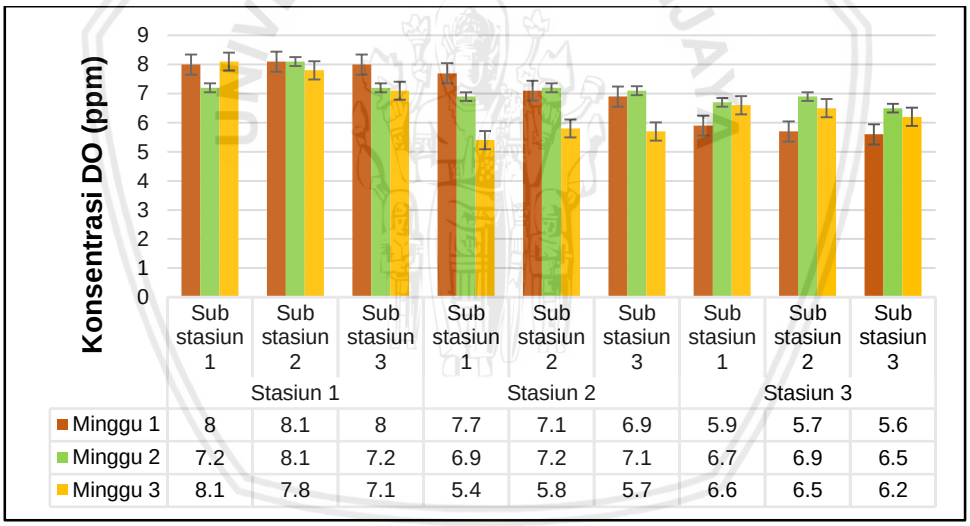
Berdasarkan Gambar 17, hasil pengukuran pH pada ketiga stasiun penelitian antara lain yaitu stasiun 1 berkisar 6,9 – 7,4, stasiun 2 berkisar 6,8 – 7,4, dan stasiun 3 berkisar 6,4 – 6,9. Perbedaan hasil pengukuran pH tersebut dikarenakan faktor cuaca saat penelitian. Nilai pH yang diperoleh pada ketiga stasiun penelitian masih dalam batas normal sesuai dengan PP No.82 Tahun 2001 tentang kriteria baku mutu air untuk kisaran pH adalah 6 – 9. Kisaran pH yang diperoleh masih layak untuk kehidupan organisme perairan sebagaimana pernyataan Manik (2003) bahwa perairan yang tercemar berat memiliki nilai pH kurang dari 5 atau lebih dari 9.

Salah satu faktor kimia yang mempengaruhi kualitas perairan adalah pH. Fluktuasi nilai pH dipengaruhi oleh masuknya buangan limbah organik dan anorganik ke dalam perairan (Yuliastuti, 2011). Setiap jenis organisme perairan memiliki toleransi yang berbeda terhadap nilai pH. Gastropoda air tawar memiliki toleransi terhadap nilai pH untuk kelangsungan hidupnya pada kisaran 6,8 – 8,5 (Gundo, 2010). Perairan yang tidak tercemar biasanya memiliki nilai pH yang mendekati netral atau mendekati pH 7 dan layak untuk kehidupan organisme perairan (Syofyan *et al*., 2011). Perubahan nilai pH dalam air berpengaruh terhadap toksisitas logam berat. Semakin rendah pH air atau tingkat keasamannya

semakin tinggi maka konsentrasi logam berat semakin tinggi. Hal ini disebabkan logam berat semakin larut dalam air (bentuk ion) dan mudah terakumulasi ke dalam tubuh organisme (Sitorus, 2004).

4.7.3 Oksigen Terlarut

Setiap organisme perairan membutuhkan oksigen terlarut untuk kelangsungan hidupnya. Oksigen terlarut atau *Dissolved Oxygen* (DO) merupakan jumlah oksigen yang terlarut dalam perairan yang bersumber dari proses fotosintesis fitoplankton dan difusi udara. Oksigen terlarut dimanfaatkan oleh organisme perairan untuk proses respirasi, metabolisme, dan dekomposisi. Adapun hasil pengukuran oksigen terlarut pada ketiga stasiun penelitian dapat dilihat pada **Gambar 18**.



Gambar 18. Grafik pengukuran oksigen terlarut

Berdasarkan Gambar 18, hasil pengukuran oksigen terlarut (*Dissolved Oxygen*/DO) pada ketiga stasiun penelitian antara lain yaitu stasiun 1 berkisar 7,1 – 8,1 ppm, stasiun 2 berkisar 5,4 – 7,7 ppm, dan stasiun 3 berkisar 5,6 – 6,9 ppm. Hasil dari pengukuran oksigen terlarut pada ketiga stasiun tersebut tergolong dalam batas normal sesuai dengan PP No. 82 Tahun 2001 Kelas II tentang kriteria baku mutu air untuk kisaran DO yaitu minimal 4 ppm. Effendie (2003) menjelaskan bahwa konsentrasi oksigen terlarut di perairan alami biasanya kurang dari 10 ppm.

Oksigen memiliki peranan penting sebagai indikator kualitas perairan. Hal ini disebabkan oksigen terlarut berperan dalam proses reduksi dan oksidasi bahan organik maupun anorganik. Proses oksidasi dan reduksi inilah yang dapat membantu mengurangi beban pencemaran di perairan secara alami (Salmin, 2005). Faktor yang dapat menyebabkan penurunan kandungan oksigen terlarut di perairan diantaranya yaitu aktivitas manusia seperti pertanian dan pembuangan limbah industri (Blume *et al*., 2010). Setiap organisme perairan memiliki kebutuhan oksigen terlarut yang berbeda-beda. Organisme gastropoda membutuhkan kadar oksigen dengan kisaran antara 1 – 3 ppm. Semakin tinggi kandungan oksigen dalam air, semakin baik pula untuk kelangsungan hidup organisme yang hidup di dalamnya (Syamsurial, 2011). Secara umum, air yang telah tercemar memiliki kelarutan oksigen yang sangat rendah. Semakin tinggi bahan buangan organik dalam air semakin rendah kandungan oksigen yang terlarut dalam air (Wardhana, 2004). Selain berpengaruh terhadap biota perairan, kandungan oksigen terlarut juga berpengaruh terhadap toksisitas logam berat. Semakin tinggi konsentrasi logam berat dalam perairan, maka kadar oksigen terlarut akan semakin rendah dan menyebabkan organisme akuatik menjadi menderita (Effendie, 2003).

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Kadar logam berat Pb, Cd, dan Hg dalam keseluruhan organ siput *Sulcospira testudinaria* dari ketiga stasiun diperoleh hasil rata-rata logam berat Pb stasiun 1 sebesar 0,0359 ppm, stasiun 2 sebesar sebesar 0,0391 ppm, dan stasiun 3 sebesar 0,0771 ppm. Hasil rata-rata logam berat Cd pada stasiun 1 sebesar 0,0159 ppm, stasiun 2 sebesar 0,0196 ppm, dan stasiun 3 sebesar 0,0271 ppm. hasil rata-rata logam berat Hg stasiun 1 sebesar 0,0214 ppm, stasiun 2 sebesar 0,0257 ppm, dan stasiun 3 sebesar 0,0462 ppm. Rata-rata yang diperoleh menunjukkan hasil yang tergolong aman menurut SNI 2009.
2. Kadar metallothionein dalam keseluruhan organ siput *Sulcospira testudinaria* dari ketiga stasiun diperoleh hasil rata-rata pada stasiun 1 sebesar 0,4405 ng/mL, stasiun 2 sebesar 0,4854 ng/mL, dan stasiun 3 sebesar 0,5815 ng/mL. Hasil rata-rata tertinggi terdapat pada stasiun 3.
3. Hasil analisis regresi menunjukkan bahwa hubungan antara kadar logam berat (Pb, Cd, dan Hg) dengan kadar metallothionein dalam keseluruhan organ siput *Sulcospira testudinaria* terdapat hubungan yang kuat.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa terdapat hubungan yang kuat antara kadar logam berat dengan kadar metallothionein dalam keseluruhan organ siput, sehingga hal tersebut dapat dijadikan sebagai biomarker dalam pencemaran perairan. Selain itu, dari hasil penelitian ini juga dapat dijadikan sebagai bahan evaluasi dalam pengelolaan dan pemanfaatan air sungai, diperlukan upaya *monitoring* secara berkala, konservasi, serta diperlukan penelitian lebih lanjut.

repository.ub.ac.id

DAFTAR PUSTAKA

Agustina, T. 2014. Kontaminasi Logam Berat Pada Makanan dan Dampaknya Pada Kesehatan. *TEKNOBUGA*. **1**(1): 53-65.

Agustiningsih, D., S. B. Sasongko, dan Sudarno. 2012. Analisis Kualitas Air dan Strategi Pengendalian Pencemaran Air Sungai Blukar Kabupaten Kendal. *Jurnal PRESIPITASI*. **9**(2): 64-71.

Alfian, Z. 2006. Merkuri: Antara Manfaat dan Efek Penggunaannya Bagi Kesehatan Manusia dan Lingkungan. USU Repository. Medan.

Amiard, J.C., C.A. Triquet, S. Barka, J. Pellerin, dan P.S. Rainbow. 2006. Metallothioneins in aquatic invertebrates: their role in metal detoxification and their use as biomarkers. *Aquatic Toxicology*. **76**: 160-202.

Anwar, Y. 2009. Isolation and Characterization of Cdna Fragment of Gene Encoding Metallothionein Type 2 From *Glycine max* L. IPB: Bogor.

Arfiati, D. 1984. Diktat Avertebrata Air. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang.

Ariasih. 2008. Studi Tentang Pencemaran Air Pencucian Kacang Koro (*Vigna unguiculata* L) di Saluran Irigasi Timuhun Desa Nyanglan Kabupaten Klungkung Sumatera Utara. Universitas Sumatera Utara. Medan.

Barnes, R. D. 1980. Invertebrate Zoology. Fourth Edition. Saunders Company. Philadelphia.

Barnes, R. D. 1987. Invertebrate Zoology. Fifth Edition W.B. Saunders Company. Philadelphia. *Proc Malae Soc London*. **41**: 589-600.

Barus, T.A. 2002. Limnologi. Universitas Sumatera Utara. Medan.

Bebianno, M. J., Cravo, A., Miguel, C., and Morais, S. 2003. Metallothionein Concentrations in A Population of *Patella aspersa*: Variation with Size. *Sci. Total Environ*. **301**:151–161.

Blume, K.K., J.C. Macedo, A. Meneguzzi, L.B. Silva, D.M. Quevedo, and M.A.S. Rodrigues. 2010. Water Quality Assessment of the Sinos River, Southern Brazil. *Journal of Biology.* **70**. 1185-1193.

Budiastuti, P., M. Raharjo, N.A.Y. Dewanti. 2016. Analisis Pencemaran Logam Berat Timbal di Badan Sungai Babon Kecamatan genuk Semarang. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. **4**(5): 119-125.

Budiwati, T., A. Budiyono, W. Setyawati, dan A. Indrawati. 2010. Analisis Korelasi Pearson Untuk Unsur-Unsur Kimia Air Hujan di Bandung. *Jurnal Sains Dirgantara*. **7**(2): 100-112.

Butcher, S. S., J. C. Robert., H. O. Gordon, and V. W. Gordon. 1994. Global Biogeochemical Cycles. Academic Press. San Diego. California.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Carpene, E., G. Andreani, dan G. Isnani. 2007. Metallothionein functions and structural characteristics. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. **21**(1): 35-39.

Clark, M.F. and A.N. Adams. 1977. Characteristics of the Microplate Method of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Detection of Plant Viruses. *J.gen.Virol*. **34**: 475-483.

Clarkson, W.T. 1976. The Three Faces of mercury. *Enviromental Health Prospectives*. Vol.10.

Conner, D.W. and Miller, G.J. 1984. Chemistry an Ecotoxicology of Pollution. New York: John Wiley and Sons.

Cousins, R.J. 1985. Absorption, Transport, and Hepatic Metabolism of Copper and Zinc: Special Reference to Metallothionein and Ceruloplasmin. *American Physiological Society*. **65**(2): 238-309.

D'Autreaux, B. and M.B. Toledano. 2007. ROS as signaling molecules: mechanisms that generate specifity in ROS homeostatis. *Mollecular Cell Biology*. **8**: 813-824.

Dallinger, R., M. Chabicovsky, B. Lagg, R. Schipflinger, H.G. Weirich, and B. Berger. 2004. Isoform-Specific Quantification of Metallothionein in the Terrestrial Gastropod *Helix pomatia* II A differential Biomarker Approach Under Laboratory and Field Conditions. *Environmental Toxicology and Chemistry*. **23**(4): 902-910.

Darmono, 1995. Logam Dalam Sistem Biologi Makhluk Hidup. UI Press. Jakarta.

Darmono. 2001. Lingkungan Hidup dan Pencemaran, Hubungannya dengan Toksikologi Senyawa Logam. UI Press. Jakarta.

Das, S. and B.B. Jana. 2003. In situ cadmium reclamation by freshwater bivalve *Lamellidens marginalis* from an industrial pollutant-fed river canal. *Chemosphere*. **52**: 161-173.

Den Broeck, H.V., H. de Wolf, T. Backeljau, and R. Blust. 2010. Effect of metal accumulation on metallothionein level and condition of the periwinkle *Littorina littorea* along the Scheldt estuary (the Netherlands). *Environmental Pollution*. **158**: 1791-1799.

Desouky, M.M.A. 2012. Metallothionein is up-regulated in molluscan responses to cadmium, but not aluminum, exposure. *The Journal of Basic and Applied Zoology*. **65**: 139-143.

Dewi, N. K., Purwanto, dan H. R. Sunoko. 2014. Metallothionein Pada Hati Ikan Sebagai Biomarker Pencemaran Kadmium (Cd) di Perairan Kaligarang Semarang. *Jurnal Manusia dan Lingkungan*. **21**(3): 304-309.

Dharma, B. 1988. Siput dan Kerang Indonesia I. Jakarta: PT. Sarana Graha.

Djuangsih, N., A. K. Benito, dan H. Salim. 1982. Aspek Toksikologi Lingkungan, Laporan Analisis Dampak Lingkungan, Lembaga Ekologi Universitas Padjadjaran Bandung.

Du, L.N., X.Y. Chen, and J.X. Yang. 2016. Morphological redescription and neotype designation of *Sulcospira paludiformis* (Yen, 1939) from Hainan, China. *Molluscan Research*. Taylor and French Group.

Effendie, H. 2003. Telaah Kualitas Air. Kanisius. Yogyakarta.

Ernanto, R., F. Agustriani, dan R. Aryawati. 2010. Struktur Komunitas Gastropoda pada Ekosistem Mangrove di Muara Sungai Batang Ogan Komering Ilir Sumatera Selatan. *Maspari Journal*. **10**(1): 73-78.

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

Gbaruko, B.C. and O.U. Friday. 2007. Bioaccumulation of Heavy Metals in Some Fauna and Flora. *International Journal Environment*. **4**(2): 197-202.

Gundo, M.T. 2010. Kerapatan, Keanekaragaman dan Pola Penyebaran Gastropoda Air Tawar di Perairan Danau Poso*. Media Litbang Sulteng*. **3**(2): 137-143.

Gupta, S.K., M. Chabukdhara, P. Kumar, J. Singh, and F. Bux. 2014. Evaluation of ecological risk of metal contamination in river Gomti, India: A biomonitoring approach. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. **110**: 49-55.

Halida, L.S. 2002. Toksisitas Merkuri dan Penanganannya. USU Digitalized Library. Medan.

Hamer, D.H. 1986. Metallothionein. *Biochemistry*. **55**: 913-951.

Hamidah, A. 2000. Keragaman dan Kelimpahan Komunitas Moluska di Bagian Utara Danau Kerinci Jambi. *Tesis*. Program Studi Biologi Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Herman, D.Z. 2006. Tinjauan terhadap Tailing Mengandung Unsur Pencemar Arsen (As), Merkuri (Hg), Timbal (Pb), dan Kadmium (Cd) dari Sisa Pengolahan Bijih Logam. *Jurnal Geologi Indonesia*. **1**(1): 31-36.

Hermawati, W. S. A., R. Kusdarwati, S. Sigit, dan A. S. Mubarak. 2009. Pengaruh Konsentrasi Kadmium Terhadap Perubahan Warna dan Persentase Jenis Kelamin Jantan Anakan *Daphnia magna*. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan.* **1**(1): 43-50.

Hewings, A.D. and C.J. D'Arcy. 1984. Maximizing the detection capability of a beet western yellows virus ELISA system. *Journal of Virological Methods*. **9**: 131-142.

Hitalessy, R. B., A. S. Leksono, dan E. Y. Herawati. 2015. Struktur Komunitas dan Asosiasi Gastropoda dengan Tumbuhan Lamun di Perairan Pesisir Lamongan Jawa Timur. *J-PAL*. **6**(1): 64-73.

Hutabarat, S dan S.M. Evans. 1985. Pengantar Oseanografi. Jakarta: Universitas Indonesia Press.

Hutagalung, H.P. 1984. Logam Berat dalam Lingkungan Laut. *Oseana*. **9**(1): 11-20.

Kepmen Pekerjaan Umum Nomor 286/KPTS/M/2010 tentang Pola Pengelolaan Sumberdaya Air Wilayah Sungai Brantas.

Klaassen, C.D., J. Liu, and S. Choudhuri. 1999. Metallothionein: An Intracellular Protein to Protect Against Cadmium Toxicity. *Pharmacol Toxicol*. **39**: 267-294.

Krebs, C.J. 1989. Ecology The Experimental Analysis of Distribution and Abundance 3rd edition. Harper and Row Publisers. New York. 776 p.

Kurniawan, D. 2008. Regresi Linear. Development Core Team. ISBN 3-900051-07-0.

Lasut, M. T. 2002. Metallothionein Suatu Parameter Kunci yang Penting dalam Penetapan Baku Mutu Air Laut (BMAL) Indonesia. *Jurnal Ekoton*. **2**(1): 61-68.

Lecoeur, S., B. Videmann, and Ph. Berny. 2004. Evaluation of metallothionein as a biomarker of single and combined Cd/Cu exposure in *Dreissena polymorpha*. *Environmental Research*. **94**: 184-191.

Leng, S.X., J.E. McElhaney, J.D. Walston, D. Xie, N.S. Fedarko, and G.A. Kuchel. 2008. ELISA and multiplex technologies for cytokine measurement in inflammation and aging research. *Journal of Gerontology*. **63A**(8): 879-884.

Leung, K.M.Y. and R.W. Furness. 1999. Effects of animal size on concentrations of metallothionein and metals in periwinkles *Littorina littorea* collected from the firth of clyde, Scotland. *Marine Pollution Bulletin*. **39**(1): 126-136.

Linde, A.R. and E. Garcia-Vazquez. 2006. A Simple Assay to Quantify Metallothionein Helps to Learn About Bioindicator and Environmental Health. *Biochemistry and Moleculer Biology Education*. **34**(5): 360-363.

Manik, K. 2003. Pengelolaan Lingkungan Hidup. Penerbit Djambatan. Jakarta.

Marwoto, R.M. dan N.R. Isnaningsih. 2012. The Freshwater Snail Genus *Sulcospira* Troschel, 1857 From Java, With Description of a New Species From Tasikmalaya, West Java, Indonesia (Mollusca: Gastropoda: Pachychilidae). *The Raffles Bulletin of Zoology*. **60**(1): 1-10.

Morissan. 2012. Metode Penelitian Survei. Kencana. Jakarta.

Nashaat, M.R., M.N. Al-Azzawi, D.S. Ahmed. 2016. Concentrations of copper and zinc in benthic invertebrates collected from the Tigris River at Baghdad City. *J.Int. Environmental Application and Science.* **11**(1): 8-17.

Nazir, M. 2003. Metode Penelitian. Ghalia Indonesia. Jakarta.

Nontji, A. 2005. Laut Nusantara. Djambatan. Jakarta.

Nybakken, J. W. 1988. Biologi Laut, Suatu Pendekatan Ekologi. Gramedia Jakarta. 459 hal.

Odum, E.P. 1998. Dasar-Dasar Ekologi. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.

Oemarjati, N. dan W. Wardana. 1990. Taksonomi Avertebrata. UI Press. Jakarta.

Oostingh, C.H. 1923. Recent Shells from Java. Bibliothek Der Landbouw Hoogeschool.

Palar, H. 1994. Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat. PT Rineka Cipta. Jakarta.

Pasaribu, S.M. dan K. Suradisastra. 2010. Harmonisasi Kelembagaan Pengelolaan DAS. Pusat Analisis Sosial Ekonomi dan Kebijakan Pertanian Bogor.

Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 82 Tahun 2001 Tentang Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air.

Prawoto, A.T.B.N. 2016. Analisis Regresi Dalam Penelitian Ekonomi dan Bisnis: Dilengkapi Aplikasi SPSS dan Eviews. PT Raja Grafindo Persada. Jakarta.

Rakhmawati, A. 2006. Biosorpsi Ion Logam Kadmium Oleh *Aspergillus flavus*. Seminar Nasional MIPA. Yogyakarta.

Ratih, I., W. Prihanta, dan R.E. Susetyarini. 2015. Inventarisasi Keanekaragaman Makrozoobentos di Daerah Aliran Sungai Brantas Kecamatan Ngoro Mojokerto Sebagai Sumber Belajar Biologi SMA Kelas X. *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia*. **1**(2): 158-168.

Reilly, C. 1991. Metal Contamination Food. Second Edition. Elsevier Science Publisher LTD. London and New York.

Rochyantun, E., T. Kaisupy, dan A. Rozak. 2006. Distribusi Logam Berat dalam Air dan Sedimen di Perairan Muara Sungai Cisadane. *Jurnal Makara*. **10**(1): 35-40.

Rohilan, I. 1992. Keadaan Sifat Fisika dan Kimia Perairan di Pantai Zona Industri Krakatau Steel Cilegon. *Skripsi*. FPIK IPB. Bogor.

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

Russo, A.J. 2009. Anti-metallothionein IgG and levels of metallothionein in autistic children with GI disease.

Rusyana, A. 2013. Zoologi Invertebrata. Bandung: Alfabeta.

Salmin. 2005. Oksigen Terlarut (DO) dan Kebutuhan Oksigen Biologi (BOD) Sebagai Salah Satu Indikator Untuk Menentukan Kualitas Perairan. *Oseana*. **30**(3): 21-26.

Sanusi, H.S. 2006. Proses Fisik Kimia dan Interaksinya dengan Lingkungan. Kimia Laut. IPB. 188 hlm.

Setiawan, I.M. 2007. Pemeriksaan *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) untuk Diagnosis Leptospirosis. *Jurnal Ebbers Papyrus*. **13**(3): 46-60.

Shouval, R.S., and Z. Elazar. 2007. ROS, mitochondria and the regulation of autophagy. *Trends in Cell Biology*. **17**(9): 422-427.

Siahaan, R., A. Indawan, D. Soedharma, dan L.B. Prasetyo. 2011. Kualitas Air Sungai Cisadane, Jawa Barat – Banten. *Jurnal Ilmiah Sains.* **11**. 268-273.

Sitorus, H. 2004. Analisis beberapa Karakteristik Lingkungan Perairan yang Mempengaruhi Akumulasi Logam Berat Timbal dalam Tubuh Kerang Darah di Perairan Pesisir Timur Sumatera Utara. *Jurnal Ilmu-ilmu Perairan dan Perikanan Indonesia*. **11**(1): 53-60.

Situmorang, S. H., I. Muda, D. M. J. Dalimunthe, Fadli, dan F. Syarief. 2010. Analisis Data: Untuk Riset Manajemen dan Bisnis. USU Press: Medan.

SNI. 2004. Air dan Limbah Bagian11: Cara Uji Derajat Keasaman (pH) Dengan Menggunakan Alat pH Meter. Badan Standarisasi Nasional.

SNI. 2009. Batas Maksimum Cemaran Logam Berat dalam Pangan. Badan Standarisasi Nasional.

Sudarwin. 2008. Analisis Spasial Pencemaran Logam Berat Pb dan Cd pada Sedimen Aliran Sungai dari Tempat Pembuangan Akhir (TPA) Sampah Jatibarang Semarang. *Thesis*. UNDIP. Semarang.

Sugiyono. 2009. Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif, dan R&D. Bandung: IKAPI.

Supardjo. 2013. Distribusi dan Kelimpahan Gastropoda pada Hutan Mangrove Teluk Awur Jepara. *Journal of Management Aquatic Resources*. UNDIP Semarang.

Susanti, R., D. Mustikaningtyas, dan F.A. Sasi. 2014. Analisis Kadar Logam Berat Pada Sungai di Jawa Tengah. *Sainteknol*. **12**(1): 35-40.

Sutamihardja, R.T.M., K. Adnan, dan Sanusi. 1982. Perairan Teluk Jakarta Ditinjau dari Tingkat Pencemarannya. *Thesis*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Syamsurial. 2011. Studi Beberapa Indeks Komunitas Makrozoobentos di Hutan Mangrove Kelurahan Coppo Kabupaten Baru. *Skripsi.* Program Studi Perikanan Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanudin. Makassar.

Syofyan, I., Usman, dan P. Nasution. 2011. Studi Kualitas Air Untuk Kesehatan Ikan dalam Budidaya Perikanan pada Aliran Sungai Kampar Kiri. *Jurnal Perikanan dan Kelautan.* **16:** 64-70.

Thomann, R.T. 1987. Principles of Surface Water Quality Modeling and Control, Harper and Row. Publishers. New York.

Trachootham, D., J. Alexandre, and P. Huang. 2009. Targeting cancer cells by ROS-mediated mechanisms: a radical therapeutic approach. *Drug Discovery*. **8**: 579-591.

Ulumuddin, Y., E. Sulistyawati, D.M. Hakim, dan A.B. Harto. 2005. Korelasi Stok Karbon Dengan Karakteristik Spektral Citra Landsat: Studi Kasus Gunung Papandayan. *Pertemuan Ilmiah Tahunan MAPIN XIV*. Hal 1-12.

Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 32 Tahun 2009 tentang Perlindungan dan Pengelolaan Lingkungan Hidup.

Urena, R., M.J. Bebianno, J. del Ramo, and A. Torreblanca. 2010. Metallothionein in the freshwater gastropod *Melanopsis dufouri* chronically exposed to cadmium: A methodological approach. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* **73**:779-787.

Voller, A., A. Bartlett, and D.E. Bidwell. 1978. Enzyme immunoassays with special reference to ELISA techniques. *Journal of Clinical Pathology*. **31**: 507-520.

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.

Waldichuk, M. 1974. Some biological concerns in heavy metal pollution. In: Vemberg, F. J., Vemberg, W. B. (ed) Pollution and physiology of marine organism. Academic Press. New York. *p* 1-57.

Wardhana, W.A. 2004. Dampak Pencemaran Lingkungan. Yogyakarta: Penerbit Andi.

Wibowo, Y., M. S. Ma'arif, A. M. Fauzi, dan L. Adrianto. 2011. Strategi Pengembangan Klaster Industri Rumput Laut yang Berkelanjutan. *Agritek*. **12**(1): 85-98.

Widyaningrum, Miskiyah, dan Suismono. 2007. Bahaya Kontaminasi Logam Berat dalam Sayuran dan Alternatif Pencegahan Pencemarannya. *Bulletin Teknologi Pasca Panen Pertanian*. **3**: 16-27.

Yudiaatmaja, F. 2013. Analisis Regresi dengan menggunakan Aplikasi Komputer Statistik SPSS. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.

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.

Yuliastuti, E. 2011. Kajian Kualitas Air Sungai Ngringo Karanganyar dalam Upaya Pengendalian Pencemaran Air. *Tesis*. Program Pascasarjana Universitas Diponegoro. Semarang.

Yusuf, A.M. 2016. Metode Penelitian: Kuantitaif, Kualitatif, dan Penelitian Gabungan. Kencana. Jakarta.

Yusuf, G. 2008. Bioremediasi Limbah Rumah Tangga Dengan Sistem Simulasi Tanaman Air. *Jurnal Bumi Lestari*. **8**(2): 136-144.

Zhou, Q., j. Zhang, J. Fu, J. Shi, and G. Jiang. Biomonitoring: An appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. *Analytica Chimica Acta*. **606**: 135-150.

repository.ub.ac.id

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian

Prosedur	Alat	Bahan
Pengukuran Suhu	• DO meter	• Tisu • Aquades • Air sampel
Pengukuran pH	• pH meter	• Air sampel • Larutan buffer • Aquades • Tisu
Pengukuran Oksigen terlarut	• DO meter	• Air sampel • Aquades • Tisu
Pengambilan sampel keseluruhan organ siput	• Sectio set • Palu • Nampan • Timbangan digital	• Siput (*S. testudinaria*) • NaCl • Plastik klip • Kertas label • Tisu
Pengujian kadar metallothionein siput	• Inkubator • Plate ELISA • Homogenizer • Sentrifuge • Freezer • Mortar dan Alu • Mikro pipet • Microtube • ELISA reader • Shaker mixer	• Siput (*S. testudinaria*) • PMSF (*Phenyl Methyl Sulfonyl Fluoride*) lysis buffer • PBS (*Phospate Buffer Saline*) tween 0,2% • HCl 1N • TMB (*Tetra Methyl Benzadine*) • Antibodi primer MT • Antibodi sekunder IgG biotin • Larutan SAHRP (*Streptavidin Horseradish Peroxidase*) Conjugate • Kertas label • Tisu • Aluminium foil

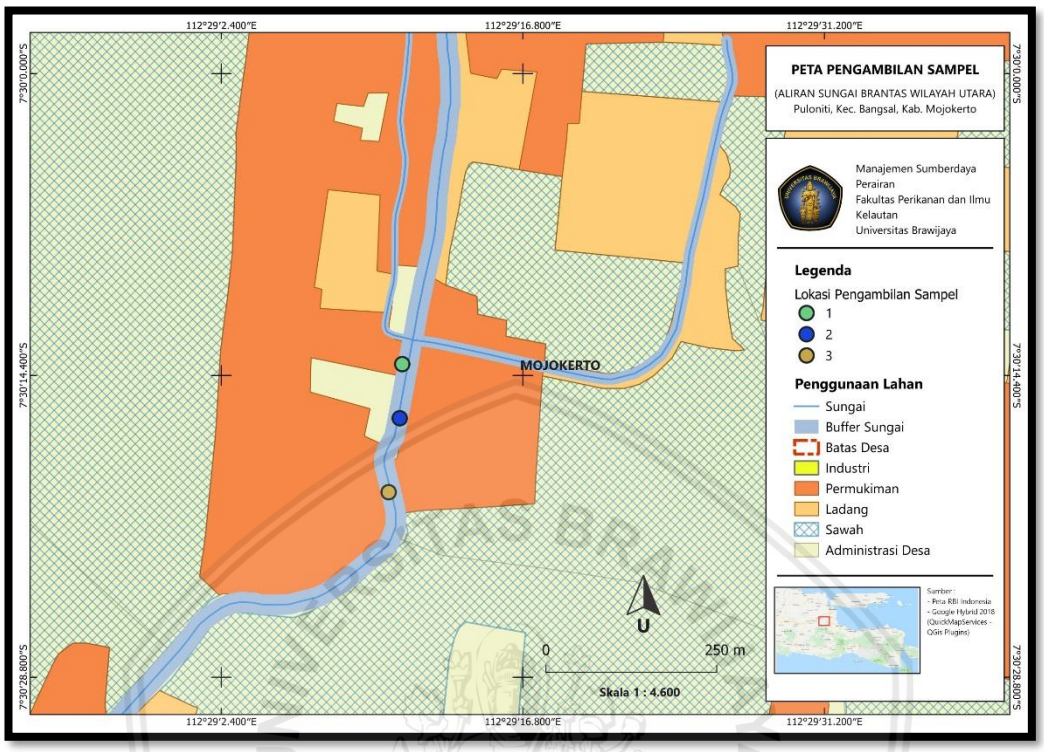
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Lampiran 1. Lanjutan

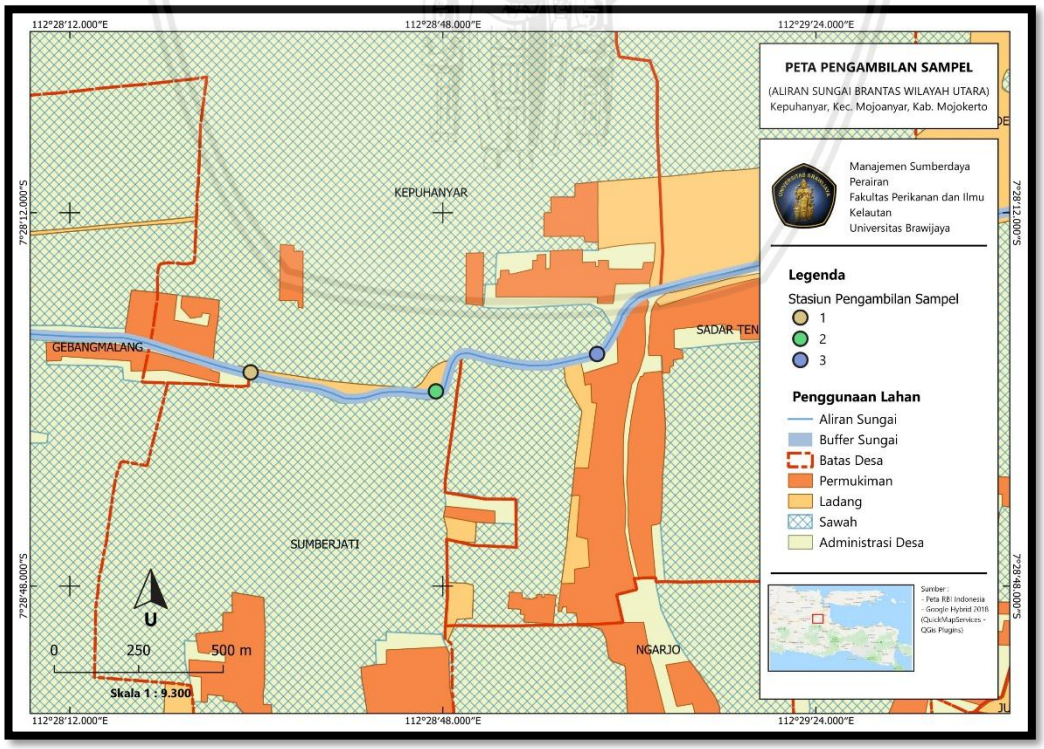
Prosedur	Alat	Bahan
Pengukuran kadar logam berat (Pb, Cd, dan Hg)	• Spektrofotometer AAS tipe AA-6200 • Lampu katoda Pb, Cd, dan Hg • Pipet Volume 50 ml • Hot plate • Cawan Porselen • Erlenmeyer 100 ml • Spatula kaca	• Siput (*S. testudinaria*) • Aquades • HNO_3 2,5 N • Aquaregia • Kertas saring • Kertas label

Lampiran 2. Peta lokasi penelitian

- Stasiun 1 (Kecamatan Bangsal, Kabupaten Mojokerto, Jawa Timur)

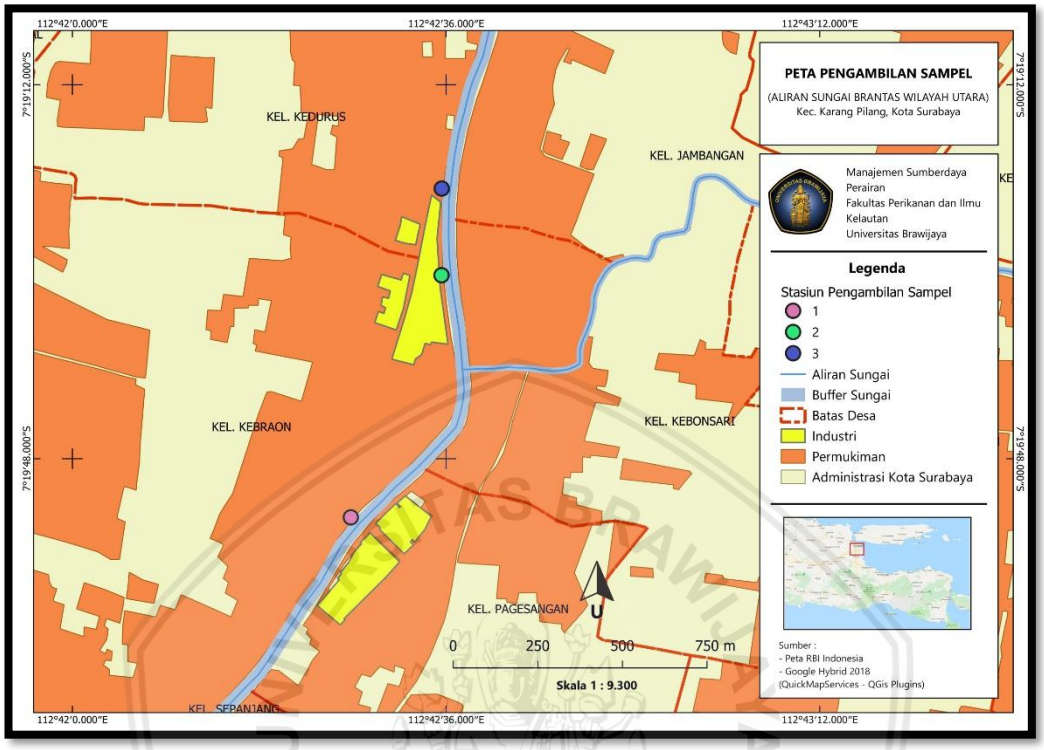


- Stasiun 2 (Kecamatan Mojoanyar, Kabupaten Mojokerto, Jawa Timur)



Lampiran 2. Lanjutan

- Stasiun 3 (Kecamatan Karang Pilang, Kota Surabaya, Jawa Timur)



Lampiran 3. Data hasil logam berat pada keseluruhan organ siput *S. testudinaria*

a. Stasiun 1

Sub stasiun	Minggu ke-	Logam Berat (ppm)		
		Pb	Cd	Hg
1	1	0.0437	0.0245	0.0240
	2	0.0285	0.0118	0.0147
	3	0.0464	0.0214	0.0289
Rata-rata		0.0395	0.0192	0.0225
Standar Deviasi		0.01	0.01	0.01
2	1	0.0228	0.0098	0.0130
	2	0.0331	0.0133	0.0164
	3	0.0418	0.0174	0.0244
Rata-rata		0.0326	0.0135	0.0179
Standar Deviasi		0.01	0.00	0.01
3	1	0.0335	0.0148	0.0270
	2	0.0290	0.0154	0.0220
	3	0.0441	0.0149	0.0226
Rata-rata		0.0355	0.0150	0.0239
Standar Deviasi		0.01	0.00	0.00

b. Stasiun 2

Sub stasiun	Minggu ke-	Logam Berat (ppm)		
		Pb	Cd	Hg
1	1	0.0435	0.0166	0.0174
	2	0.0454	0.0130	0.0261
	3	0.0589	0.0422	0.0389
Rata-rata		0.0493	0.0239	0.0275
Standar Deviasi		0.01	0.02	0.01
2	1	0.0145	0.0054	0.0121
	2	0.0496	0.0148	0.0208
	3	0.0576	0.0184	0.0331
Rata-rata		0.0406	0.0129	0.0220
Standar Deviasi		0.02	0.01	0.01
3	1	0.0236	0.0093	0.0143
	2	0.0402	0.0113	0.0266
	3	0.0620	0.0377	0.0498
Rata-rata		0.0419	0.0194	0.0302
Standar Deviasi		0.02	0.02	0.02

Lampiran 3. Lanjutan

c. Stasiun 3

Sub stasiun	Minggu ke-	Logam Berat (ppm)		
		Pb	Cd	Hg
1	1	0.0358	0.0191	0.0194
	2	0.0641	0.0236	0.0325
	3	0.1240	0.0478	0.0898
Rata-rata		0.0746	0.0302	0.0472
Standar Deviasi		0.05	0.02	0.04
2	1	0.0487	0.0169	0.0324
	2	0.0558	0.0149	0.0284
	3	0.1092	0.0408	0.0644
Rata-rata		0.0712	0.0242	0.0417
Standar Deviasi		0.03	0.01	0.02
3	1	0.0650	0.0205	0.0400
	2	0.0714	0.0174	0.0424
	3	0.1204	0.0429	0.0667
Rata-rata		0.0856	0.0269	0.0497
Standar Deviasi		0.03	0.01	0.01

Lampiran 4. Kadar metallothionein pada keseluruhan organ siput *S.testudinaria*

a. Stasiun 1

Sub stasiun	Minggu ke-	Metallothionein	
		Absorban	Kadar (ng/mL)
1	1	0.3579	0.5558
	2	0.2434	0.2883
	3	0.3592	0.5589
Rata-rata			0.4677
Standar Deviasi			0.16
2	1	0.2264	0.2486
	2	0.2735	0.3586
	3	0.3501	0.5376
Rata-rata			0.3816
Standar Deviasi			0.15
3	1	0.3056	0.4336
	2	0.3286	0.4874
	3	0.3322	0.4958
Rata-rata			0.4723
Standar Deviasi			0.03

b. Stasiun 2

Sub stasiun	Minggu ke-	Metallothionein	
		Absorban	Kadar (ng/mL)
1	1	0.3066	0.4360
	2	0.3477	0.5320
	3	0.4015	0.6577
Rata-rata			0.5419
Standar Deviasi			0.11
2	1	0.2256	0.2467
	2	0.3398	0.5136
	3	0.3319	0.4951
Rata-rata			0.4185
Standar Deviasi			0.15
3	1	0.2680	0.3458
	2	0.3035	0.4287
	3	0.4253	0.7133
Rata-rata			0.4959
Standar Deviasi			0.19

Lampiran 4. Lanjutan

c. Stasiun 3

Sub stasiun	Minggu ke-	Metallothionein	
		Absorban	Kadar (ng/mL)
1	1	0.2309	0.2591
	2	0.3297	0.4900
	3	0.5718	1.0566
Rata-rata			0.6019
Standar Deviasi			0.41
2	1	0.2866	0.3893
	2	0.2833	0.3815
	3	0.4736	0.8262
Rata-rata			0.5323
Standar Deviasi			0.25
3	1	0.2914	0.4005
	2	0.3285	0.4871
	3	0.5240	0.9439
Rata-rata			0.6105
Standar Deviasi			0.29

Lampiran 5. Output analisis regresi linear

a. Hubungan kadar logam berat (Pb, Cd, Hg) terhadap kadar metallothionein (MT) pada keseluruhan organ siput *Sulcospira testudinaria* di stasiun 1

- Hubungan kadar logam berat Pb dengan kadar MT

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.862[a]	.743	.706	.063173

a. Predictors: (Constant), Pb

ANOVA[b]

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	.081	1	.081	20.249	.003[a]
	Residual	.028	7	.004		
	Total	.109	8			

a. Predictors: (Constant), Pb

b. Dependent Variable: MT

Coefficients[a]

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	.010	.098		.100	.923
	Pb	12.005	2.668	.862	4.500	.003

a. Dependent Variable: MT

- Hubungan kadar logam berat Cd dengan kadar MT

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.867[a]	.752	.716	.06209

a. Predictors: (Constant), Cd

ANOVA[b]

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	.082	1	.082	21.209	.002[a]
	Residual	.027	7	.004		
	Total	.109	8			

a. Predictors: (Constant), Cd

b. Dependent Variable: MT

Coefficients[a]

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	.091	.079		1.157	.285
	Cd	21.950	4.766	.867	4.605	.002

a. Dependent Variable: MT

- Hubungan kadar logam berat Hg dengan kadar MT

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.885[a]	.784	.753	.05792

a. Predictors: (Constant), Hg

ANOVA[b]

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	.085	1	.085	25.419	.001[a]
	Residual	.023	7	.003		
	Total	.109	8			

a. Predictors: (Constant), Hg

b. Dependent Variable: MT

Coefficients[a]

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	.041	.082		.502	.631
	Hg	18.632	3.696	.885	5.042	.001

a. Dependent Variable: MT

b. Hubungan kadar logam berat (Pb, Cd, Hg) terhadap kadar metallothionein (MT) pada keseluruhan organ siput *Sulcospira testudinaria* di stasiun 2

- Hubungan kadar logam berat Pb dengan kadar MT

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.924[a]	.854	.833	.05895

a. Predictors: (Constant), Pb

ANOVA[b]

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	.142	1	.142	40.995	.000[a]
	Residual	.024	7	.003		
	Total	.167	8			

a. Predictors: (Constant), Pb

b. Dependent Variable: MT

Coefficients[a]

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	.121	.060		2.001	.085
	Pb	8.306	1.297	.924	6.403	.000

a. Dependent Variable: MT

- Hubungan kadar logam berat Cd dengan kadar MT

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.889[a]	.789	.759	.07083

a. Predictors: (Constant), Cd

ANOVA[b]

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	.132	1	.132	26.252	.001[a]
	Residual	.035	7	.005		
	Total	.167	8			

a. Predictors: (Constant), Cd

b. Dependent Variable: MT

Coefficients[a]

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	.296	.044		6.734	.000
	Cd	10.122	1.975	.889	5.124	.001

a. Dependent Variable: MT

- Hubungan kadar logam berat Hg dengan kadar MT

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.908[a]	.825	.800	.06454

a. Predictors: (Constant), Hg

ANOVA[b]

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	.138	1	.138	33.046	.001[a]
	Residual	.029	7	.004		
	Total	.167	8			

a. Predictors: (Constant), Hg

b. Dependent Variable: MT

Coefficients[a]

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	.202	.054		3.764	.007
	Hg	10.658	1.854	.908	5.749	.001

a. Dependent Variable: MT

c. Hubungan kadar logam berat (Pb, Cd, Hg) terhadap kadar metallothionein (MT) pada keseluruhan organ siput *Sulcospira testudinaria* di stasiun 3

- Hubungan kadar logam berat Pb dengan kadar MT

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.985[a]	.971	.967	.05165

a. Predictors: (Constant), Pb

ANOVA[b]

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	.629	1	.629	235.893	.000[a]
	Residual	.019	7	.003		
	Total	.648	8			

a. Predictors: (Constant), Pb

b. Dependent Variable: MT

Coefficients[a]

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	-.085	.047		-1.829	.110
	Pb	8.645	.563	.985	15.359	.000

a. Dependent Variable: MT

- Hubungan kadar logam berat Cd dengan kadar MT

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.964[a]	.929	.919	.08096

a. Predictors: (Constant), Cd

ANOVA[b]

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	.602	1	.602	91.842	.000[a]
	Residual	.046	7	.007		
	Total	.648	8			

a. Predictors: (Constant), Cd

b. Dependent Variable: MT

Coefficients[a]

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	.006	.066		.085	.935
	Cd	21.254	2.218	.964	9.583	.000

a. Dependent Variable: MT

- Hubungan kadar logam berat Hg dengan kadar MT

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.972[a]	.944	.936	.07208

a. Predictors: (Constant), Hg

ANOVA[b]

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	.611	1	.611	117.706	.000[a]
	Residual	.036	7	.005		
	Total	.648	8			

a. Predictors: (Constant), Hg

b. Dependent Variable: MT

Coefficients[a]

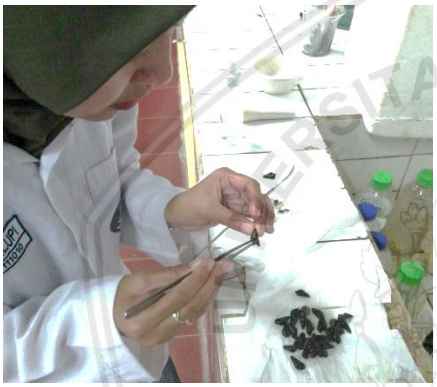
Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	.018	.057		.321	.758
	Hg	12.185	1.123	.972	10.849	.000

a. Dependent Variable: MT

Lampiran 6. Dokumentasi penelitian

Pengambilan sampel siput

Pengukuran kualitas air



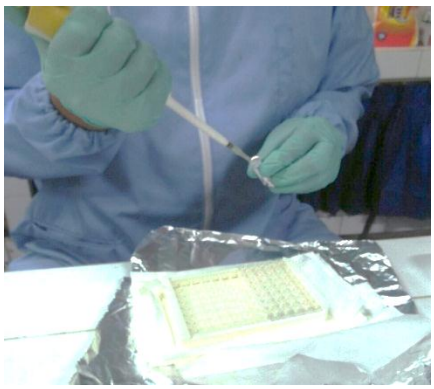
Pembedahan siput

Penggerusan keseluruhan organ

Penimbangan keseluruhan organ siput

Proses ekstraksi sampel

Lampiran 7. Lanjutan

Sampel	 Pemindahan sampel ke plate ELISA
Inkubasi sampel	Perlakuan akhir sebelum pembacaan
Pengukuran MT pada ELISA reader	ELISA reader