



**RESPON PROTEIN METALLOTHIONEIN PADA KEONG TUTUT
(*Filopaludina javanica* v.d Busch 1844) TERHADAP PENURUNAN KADAR
Pb DENGAN CARA PENGGELOMONTORAN**

TESIS



Oleh:

AMININ

156080100111015

**PROGRAM MAGISTER BUDIDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**RESPON PROTEIN METALLOTHIONEIN PADA KEONG TUTUT
(*Filopaludina javanica* v.d Busch 1844) TERHADAP PENURUNAN KADAR
Pb DENGAN CARA PENGGELOMONTORAN**

TESIS

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Magister**

Oleh:

AMININ

NIM: 156080100111015

**PROGRAM PASCASARJANA
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2018

TESIS

RESPON PROTEIN METALLOTHIONEIN PADA KEONG TUTUT

(*Filopaludina javanica* v.d Busch 1844) TERHADAP PENURUNAN KADAR

Pb DENGAN CARA PENGGELOMONGAN

Oleh :

AMININ

156080100111005

Telah dipertahankan di depan penguji
Pada tanggal : 04 April 2018
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui :

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. Dr. Ir. Diana Arfiati, MS
NIP. 19591230 1985032002

Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS
NIP. 196111061986019001

Mengetahui :

Dekan
Fakultas Perikanan dan Ilmu
Kelautan Universitas Brawijaya
Malang

Ketua
Program Magister

Prof. Dr. Ir. Happy Nursyam, MS
NIP. 196003191986011001

Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS
NIP. 196111061986019001

IDENTITAS TIM PENGUJI

JUDUL TESIS:

RESPON PROTEIN METALLOTHIONEIN PADA KEONG TUTUT (*Filopaludina javanica* v.d Busch 1844) TERHADAP PENURUNAN KADAR Pb DENGAN CARA PENGGELONTORAN

Nama Mahasiswa : Aminin

NIM : 156080100111015

Program Studi : Magister Budidaya Perairan

Minat : Lingkungan

KOMISI PEMBIMBING :

Ketua : Prof. Dr. Ir. Diana Arfiati, MS

Anggota : Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS

KOMISI PENGUJI :

Dosen Penguji 1 : Dr. Ir. Umi Zakiyah, MSi

Dosen Penguji 2 : Dr. Asus Maizar S.H, S.Pi,MP

Tanggal Ujian Tesis : 4 April 2017

SK Penguji : Universitas Brawijaya

PERNYATAAN ORISINALITAS TESIS

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang sepengetahuan saya, di dalam naskah Tesis ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu Perguruan Tinggi, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata di dalam naskah Tesis ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur PLAGIASI, saya bersedia Tesis ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh (MAGISTER) dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku.

Malang, 30 April 2018

Mahasiswa,

AMININ

156080100111015



Benci dan Cinta karena ALLAH

Karya ini saya persembahkan kepada

Kedua orang tua saya

Bapak Sholikhin dan Ibu Umi Atiyah

Istri tercinta Siti Mazroatul Magfiroh dan Anakku tercinta

Muhammad Nasa” Majhudy Fawwaz, Harun AR-Rosyid, Nusaibah Labiba

Romadhodiyah

RIWAYAT HIDUP



Aminin lahir di Lamongan pada tanggal 22 Desember 1981 dari pasangan suami-istri Bapak Sholikin dan Ibu Umi Atiyah, sebagai anak Kedua dari 4 bersaudara. Pendidikan Sekolah Dasar diselesaikan di SD Negeri

Soko pada tahun 1988 - 1994. Pendidikan Sekolah Menengah Pertama diselesaikan di SMP Negeri 4 Lamongan pada tahun 1994 - 1997. Pendidikan Sekolah Menengah Atas diselesaikan di MA. YKUI Maskumambang pada tahun 1997-2000. Pendidikan Strata 1 (S1) diselesaikan di Pogram Studi Budidaya Perikanan, Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Gresik pada tahun 2001 - 2006. Selanjutnya Pendidikan Strata (S2) diselesaikan di Program Magister Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang pada tahun 2015 - 2018.

Malang, 04 April 2018

Penulis

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadirat ALLAH S.W.T, atas terselesaikannya Laporan Tesis yang berjudul "Respon Protein Metallothionein Pada Keong Tutut (*Filopaludina javanica* v.d busch 1844) Terhadap Penurunan Kadar Pb Dengan Cara Penggelontoran. Tesis ini disusun atas bantuan dan dukungan dari banyak pihak.

Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih sebesar – besarnya kepada :

1. Kedua orang tua saya, Ibunda Umi Atiyah dan ayahanda Sholikin atas doa dan dukungan yang tiada henti-hentinya engkau berikan kepada ananda.
2. Istriku tercinta Siti Mazroataul Magfiroh S.Pd dan anakku yang soleh-solikhah Muhammad Nasa' Majhudy Fawwaz, Harun Ar – Rosyid dan Nusaibah Labibah Romadhoniah yang menjadi penyemangat Abi
3. Prof. Dr. Ir. Diana Arfiati, MS selaku Ketua Komisi Pembimbing dan Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS selaku Anggota Komisi Pembimbing yang telah banyak memberi masukan, arahan, nasehat dan bimbingan ilmu yang diberikan mulai dari penyusunan proposal hingga selesainya laporan tesis.
4. Bapak Dr. Asus Maizar S.H, S.Pi, MP dan Ibu Dr. Ir. Umi Zakiyah, MSi yang telah bersedia menjadi penguji dan memberikan arahan, masukan demi kelengkapan tesis.
5. Ibu Farikah S.Pi, M.Sc, Aditiya Putra Basir S.Pi, MP, dan Mas Andang Sebastian S.Pi, terima kasih atas dorongan semangat, dan arahan dalam penulisan Laporan tesis.
6. Teman – teman Angkatan 2015 dan 2016 yang tidak bisa disebut satu persatu Semoga kita semua diberikan kesuksesan dan semoga tali silaturahmi dan persaudaraan kita tetap terjalin dengan baik.

7. Semua pihak yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu, terimakasih banyak atas bantuan dan dukungannya.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari sempurna, untuk itu penulis berharap dengan segala kekurangan dengan selesainya penelitian ini dapat memberikan manfaat kepada banyak pihak. Semoga ALLAH SWT selalu melimpahkan Rahmat-Nya kepada semua pihak yang telah membantu pelaksanaan dan penyelesaian tesis ini .



RINGKASAN

AMININ. Respon Protein Metallothionein Pada Keong Tutut (*Filopaludina javanica* v.d Busch 1844) Terhadap Penurunan Kadar Pb Dengan Cara Penggelontoran, Di bawah bimbingan Prof. Dr. Ir. Diana Arfiati, MS dan Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS

Keong Tutut (*Filopaludina javanica* v.d Busch 1844) di sungai dan tambak jumlahnya mencapai 10 – 100 individu/ m² serta hampir bisa didapati sepanjang tahun. Keong tersebut dapat dimanfaatkan sebagai pakan tambahan bagi itik yang dipelihara serta dapat dikonsumsi manusia. Namun demikian dari hasil penelitian sebelumnya didapati bahwa pada tanah sawah di Kecamatan Glagah Kabupaten Lamongan mengandung kadar Pb : 0,67 mg/kg kadar ini paling tinggi dibandingkan dengan Pb beberapa kecamatan yang ada di Kabupaten Lamongan seperti kecamatan Laren (0,56 mg/kg), Karanggeneng (0,44 mg/kg) dan Kedungpring (0,19 mg/kg). Kadar Pb pada keong tutut di Kecamatan Glagah terukur paling tinggi sebesar 4.48 mg/kg.

Penelitian ini bertujuan untuk menurunkan kadar Pb pada Keong Tutut, Mendapatkan respon Metallothionein terhadap penurunan kadar Pb, menganalisa histologi “Whole organ” pada Keong Tutut sebelum dan sesudah proses depurasi, dengan metode penggelontoran, perendaman dan perendaman dengan ganti air. Penelitian disusun menggunakan metode eksperimen Rancangan Acak Lengkap dengan 4 perlakuan 3 ulangan, P1(penggelontoran 6 jam), P2 (penggelontoran 12 jam), P3 (penggelontoran 18 jam) dan P4 (Penggelontoran 24 jam).

Penggelontoran 24 jam menurunkan Pb terbanyak sebesar 53,2 % dari 2,65 ppm turun menjadi 1,24 ppm sedangkan penurunan terendah pada penggelontoran 6 jam dengan penurunan sebesar 7,2 %. Kadar Pb pada Keong sudah berada dibawah ambang batas yang ditetapkan BPOM (2009), Perikanan (DKP) No: Kep 20/Men/2004, SK Ditjen POM No. 03725/B/SK/VII/1989, batas cemaran logam berat dalam bahan pangan sebesar 1,5 ppm sehingga aman dimanfaatkan sebagai pakan itik dan dikonsumsi manusia.

Proses depurasi dengan metode penggelontoran menurunkan kadar Pb pada “Whole organ” keong dan meningkatkan Kadar Metallothionein. Kadar Metallothionein P1 sebesar (0,826 ng/m), P2 (1,035 ng/m), P3 (0,950 ng/m) dan P4 (1,376 ng/m). Hasil uji anova rerata kadar MT menunjukkan pengaruh tidak berbeda nyata. Penggelontoran selama 24 jam menyisakan kadar Pb pada daging keong sebesar 1,24 ppm sehingga menyebabkan kadar MT tinggi. Kadar logam selain Pb pada keong diduga bertambah dari air media yang digunakan untuk penggelontoran karena air tersebut mengandung Seng sebesar 0,05 ppm dan Fe 0,02 ppm sehingga kadar MT trennya terus mengalami peningkatan. Hasil skoring kerusakan jaringan sebelum dan sesudah penggelontoran menunjukkan kondisi histologi relative sama. Nilai kerusakan jaringan sangat rendah berkisar 0 – 6,1%. Hasil pengamatan kerusakan jaringan keong tutut berupa Edema, Hyperplasia dan Vakuolasi.

Kata kunci : Timbal Pb, Keong tutut, Gelontor, Perendaman

SUMMARY

AMININ. **Metallothionein Protein Response On Tutut Snail (*Filopaludina javanika* v.d Busch 1844) Against the Decreasing of Pb Content Utilizing Flushing Method**, Under the guidance of Prof. Dr. Ir. Diana Arfiati, MS and Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS

Tutut Snail (*Filopaludina javanika* v.d Busch 1844) in rivers and ponds reaches 10 - 100 individuals / m² and can almost be found all year long. The snail can be used as an additional feed for ducks and human consumption. However, previous research results found that paddy fields in Glagah District, Lamongan regency contains Pb level: 0.67 mg/kg which is the highest value compared to Pb in several district at Lamongan Regency such as Laren district (0.56 mg / kg), Karanggeneng (0.44 mg / kg) and Kedungpring (0.19 mg / kg). The highest level of Pb of Tutut Snail in Glagah District was 4.48 mg/kg.

The aim of this research is to decrease Pb concentration of Tutut Snail, to obtain *Metallothionein* response to decrease Pb level, to analyze histology of Tutut Snail "Whole organ" before and after depuration process, using rinsing method, soaking and immersion by replacing the water. The experiment was conducted using Completely Randomized Complete Design with 4 treatment repetition, P1 (6 hours flushing), P2 (12-hour flushing), P3 (18-hour flushing) and P4 (24-hour flushing).

The 24-hour flushing decreased the most Pb by 53.2% from 2.65 ppm to 1.24 ppm. The lowest value was obtained at 6-hour flushing with a decrease of 7.2%. The level of snail Pb is below the limit set by BPOM (2009), Fisheries (DKP) No: Kep 20 / Men / 2004, SK Ditjen POM No. 03725 / B / SK / VII / 1989, the limit of heavy metal contamination in foodstuff is 1.5 ppm. Therefore Tutut snail is safe to be used as duck feed and human consumption.

Depuration process was conducted through flushing method. It decreases the Pb level on the "Whole organ" of the snail and increases the *Metallothionein* content. *Metallothionein* levels were as follows: P1 (0.826 ng / m), P2 (1.035 ng / m), P3 (0.950 ng / m) and P4 (1.376 ng / m). The average ANOVA test result of MT content exhibits no significant difference. Flushing for 24 hours leaves Pb on the snail meat at 1.24 ppm causing high MT levels. The metal content other than Pb in the snail is supposedly increased due to water used in flushing process. The water contains Zinc at 0.05 ppm and Fe 0.02 ppm. Therefore MT content tend to increase. The scores of tissue damage before and after flushing showed similar histological conditions. The value of tissue damage is very low ranging from 0 to 6.1%. The results of the observation of tissue snail damage are in the form of Edema, Hyperplasia, and Vacuolation.

Keywords: Lead Pb, Tutut Snail, Flushing, Immersion

KATA PENGANTAR

Segala Puji hanya milik Allah Tuhan Alam Semesta yang telah memberikan nikmat iman, islam dan kesehatan sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan tesis. Shalawat beserta salam semoga tetap tercurahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW beserta keluarga dan para sahabatnya. Adapun judul tesis yang telah tersusun adalah : **Respon Protein Metallothionein Pada Keong Tutut (*Filopaludina javanica* v.d Busch 1844) Terhadap Penurunan Kadar Pb Dengan Cara Penggelontoran.**

Penulis mohon maaf yang sebesar - besarnya atas segala kekurangan dan sangat mengharapkan masukan dan kritik yang membangun. Dengan segala kerendahan hati, penulis berharap mudah mudahan tesis ini bisa bermanfaat bagi penulis khususnya dan bagi pembaca pada umumnya serta dapat memberikan sumbangan pemikiran bagi perkembangan ilmu di dunia perikanan. Akhir kata hanya kepada Allah SWT penulis memohon supaya apa yang telah dikerjakan selama ini menjadi amal yang bernilai ibadah.

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSYARATAN MAGISTER	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
HALAMAN IDENTITAS	iv
PERNYATAAN ORISINILITAS	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
RIWAYAT HIDUP	vii
UCAPAN TERIMA KASIH	viii
RINGKASAN	x
SUMMARY	xi
KATA PENGANTAR	xii
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Logam Timbal (Pb)	5
2.1.1 Karakteristik Logam Timbal (Pb)	5
2.1.2 Sumber dan Distribusi Timbal (Pb)	6
2.1.3 Bioakumulasi dan toksisitas timbal pada keong	7
2.2 Keong Tutut (<i>Filopaludina javanika</i> v.d Busch 1844)	9
2.2.1 Morfologi Keong Tutut <i>Family Viviparidae</i>	10
2.2.2 Habitat Dan Distribusi Keong Air Tawar	12
2.2.3 Cara Koleksi dan Pengawetan Untuk Penelitian	13
2.2.4 Pengaruh Logam Berat Terhadap Keong	15
2.2.5 Toksisitas Pb dalam Mahluk Hidup	16
2.3 Analisa Pb pada Keong Tutut	18
2.4 Upaya Pengurangan Logam berat pada Keong	21

2.5 Metallothionein	22
2.6 Pengikatan Logam Berat oleh Metallothionein	24
2.7 Pengamatan Metallothionein dengan metode ELISA	26
2.8 Histologi	27
III. KERANGKA KONSEP PENELITIAN	29
3.1 Landasan Teori	29
3.2 Hipotesis	32
3.3 Kerangka Operasional Penelitian	32
3.4 Kerangka Analisis	35
3.5 Kebaruan Penelitian	36
IV. METODE PENELITIAN	38
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian	38
4.2 Metode Penelitian	39
4.3 Alat dan Bahan Penelitian	39
4.4 Prosedur Penelitian	40
4.4.1 Penelitian pendahuluan	40
4.4.2 Penelitian Tahap 1	40
4.4.3 Penelitian Tahap 2	41
4.4.4 Teknik Pengambilan Sampel Air, Sedimen dan Keong	43
4.4.5 Teknik Pengukuran Kandungan Logam Berat Pb pada Air dan Keong	44
4.5 Prosedur Pengukuran Kadar Metallothionein	45
4.6 Histologi Whole Organ Keong Air Tawar	48
4.7 Metode Pengumpulan Data	49
4.8 Analisis Data	50
V. PEMBAHASAN	51
5.1 Keadaan Umum Lokasi Penelitian	51
5.2 Kadar Pb Pada Lokasi Penelitian	53
5.3 Hasil Penggelontoran Pb	54
5.4 Respon Metallothionein terhadap penurunan Pb	58
5.5 Histologi Keong Sebelum Dan Sesudah Depurasi	61
5.5.1 Kontrol	61
5.5.2 Gelontor 24 Jam	63
5.5.3 Perendaman 24 Jam	65
5.5.4 Perendaman 24 jam dengan Ganti Air Setiap 6 Jam	67
5.6 Kualitas Air Media	69
6. KESIMPULAN DAN SARAN	71
6.1 Kesimpulan	71
6.2 Saran	72
DAFTAR PUSTAKA	73

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Keong Tutut (<i>Filopaludina javanika</i> v.d Busch 1844)	9
2. Anatomi dasar cangkang	11
3. Anatomi dasar internal planorbid pulmonatus	12
4. Cara koleksi Keong Tutut	14
5. Sistem peralatan spektrofotometer serapan atom	19
6. Reaksi kimia MT beraksi dengan logam Pb pada tubuh bivalvia	26
7. Histologi Jaringan Normal (<i>digestive diverticula</i>)	28
8. Histologi Jaringan Normal Lambung Keong Tutut	29
9. Histologi Jaringan Normal Insang (<i>branchiaolis</i>)	29
10. Kerangka Konsep Penelitian	31
11. Kerangka Operasional Penelitian	34
12. Kerangka Analisis	35
13. Denah pengambilan sampel pada 4 stasiun	38
14. Kadar Pb pada 4 stasiun di Kecamatan Glagah	53
15. Kadar Pb pada "Whole organ" Setelah Penggelontoran	55
16. Hubungan kadar Pb pada "Whole organ" dengan Lama penggelontoran	57
17. Kadar Metallothionein pada "Whole Organ" setelah penggelontoran	59
18. Kondisi Histologi "Whole Organ" Sebelum Perlakuan	62
19. Kondisi Histologi "Whole Organ" setelah Gelontor 24 Jam	64
20. Kondisi Histologi "Whole Organ" setelah Perendaman 24 Jam	66
21. Kondisi Histologi "Whole Organ" setelah Rendam dan Ganti Air	68

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Sifat-sifat Timbal	5
2. Empat Kategori kadar Pb dalam tubuh manusia	18
3. Alat dan Bahan	39
4. Hasil uji anova terhadap rerata kandungan Pb pada "Whole Organ" Keong setelah penggelontoran	56
5. Hasil uji BNT Kandungan Pb pada "Whole Organ" keong setelah penggelontoran	59
6. Rata – rata kualitas air selama penggelontoran.....	69



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Peta Lokasi Penelitian.....	82
2. Hasil Pengukuran Kualitas Selama Penggelontoran	83
3. Hasil uji anova terhadap rerata kandungan Pb pada “Whole Organ” Keong setelah penggelontoran	84
4. Hasil uji anova terhadap rerata kadar metallothionein Pada “Whole organ” Keong Tutut	87
5. Hubungan kadar Pb pada “Whole organ” Keong tutut dengan lama penggelontoran	88
6. Gambar Kerusakan Whole Organ Keong Tutut	89
7. Contoh perhitungan kerusakan “whole organ” Keong pada jaringan Insang dan dinding lambung	100
8. Kadar Pb pada daging pada penelitian..... pendahuluan dengan metode perendaman dan penggelontoran	101
9. Hasil analisa kadar Pb pada sumur di kecamatan Glagah	102
10. Hasil analisa kadar Pb pada beberapa stasiun penelitian.....	103
11. Hasil analisa Kadar MT pada “whole organ” setelah pengelontoran	104
12. Dokumentasi penelitian	105

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kecamatan Glagah adalah sebuah Kecamatan di Kabupaten Lamongan, Provinsi Jawa Timur, Indonesia. Sebagian besar mata pencaharian penduduk di Kecamatan ini adalah sebagai Petambak. Menurut (Badan Pusat Statistik Kabupaten Lamongan, 2007) Kecamatan Glagah termasuk daerah dataran rendah yang berada pada ketinggian 0 – 25 m. Wilayah Kabupaten Lamongan bagian Tengah – Utara ini terkenal dengan daratan Bonorowo, mulai dari Kecamatan Sekaran, Maduran, Laren, Karanggeneng, Kalitengah, Turi dan Karang Binangun.

Beberapa kecamatan di Kabupaten Lamongan dapat ditemukan Keong Tutut (*Filopaludina javanica* v.d Busch 1844). Keberadaan Keong Tutut di sungai dan tambak jumlahnya berkisar antara 10 – 100 individu /m² serta hampir dapat di temukan sepanjang tahun. Keong ini telah dimanfaatkan terutama telah dipergunakan untuk pakan itik dan sebagian kecil dikonsumsi manusia. Perlu diketahui bahwa pengambilan secara manual juga dilakukan oleh penduduk yang berada diluar kecamatan glagah seperti masyarakat kecamatan Turi dengan tujuan dijual kepada para peternak itik didaerah mereka tinggal (Anonim, 2007).

Masyarakat biasanya mengambil Keong Tutut (*Filopaludina javanica* v.d Busch 1844) dengan ukuran 25 – 27 mm yang diambil dari tambak dan sungai sehingga dapat dimanfaatkan secara langsung sebagai pakan itik tanpa mengambil cangkangnya terlebih dahulu.

Hasil penelitian Purbalisa dan Mulyadi (2013), pada tanah sawah di Kecamatan Glagah Kabupaten Lamongan mengandung Pb : 0,67 ppm. Kadar Pb tersebut tertinggi dibandingkan dengan beberapa kecamatan yang ada di Kabupaten Lamongan seperti Kecamatan Laren (0,56 ppm), Kecamatan

Karanggeneng (0,44 ppm) dan Kedungpring (0,22 ppm). Kadar Pb di Kecamatan Glagah Kabupaten Lamongan pada daging Keong Tutut pada penelitian tahap pertama terukur paling tinggi sebesar 4,48 ppm

Menurut Hutagalung (1991), bahwa Kandungan logam berat dalam daging organisme perairan biasanya lebih tinggi daripada kandungan logam berat pada perairannya, karena logam berat tersebut akan terakumulasi didalam dagingnya. Apabila keong telah mengandung Pb dikhawatirkan masuk kedalam daging ternak (itik) yang dipelihara karena diberi pakan keong tersebut. Daging itik yang mengandung Pb diduga akan masuk kedalam tubuh manusia sebagai konsumen tingkat teratas.

Logam berat Pb yang masuk pada daging Keong Tutut dapat menyebabkan keracunan bagi masyarakat yang mengkonsumsinya, karena logam berat tersebut termasuk jenis logam berat yang mempunyai toksisitas tinggi dan bersifat akumulatif pada tubuh manusia yang mengkonsumsinya. Menurut LeCoultré (2001), akibat keracunan logam berat timbal akan menyebabkan kerusakan paru-paru dan kerusakan syaraf. Oleh karena itu, perlu adanya suatu upaya untuk menurunkan kandungan logam berat pada Keong Tutut sehingga pengaruh negatif terhadap kesehatan masyarakat yang mengkonsumsinya dapat dicegah.

Siregar (2013), dalam penelitiannya tentang Keong Tutut family Viviparidae didapatkan kandungan logam berat timbal sangat tinggi didalam daging sehingga Keong tersebut tidak layak di konsumsi. Metallothionein (MT) merupakan senyawa biologis yang berinteraksi dengan logam secara alami.

Dengan demikian, *metallothionein* memegang peranan penting dalam pengelolaan mekanisme metabolisme dan transisi seluler materi logam didalam tubuh, terutama ion-ion logam berat (Binz 2000). MT dilaporkan terdapat pada vertebrata, termasuk banyak spesies ikan dan avertebrata air (Roesijadi, 1991)

terutama pada moluska (Couillard, *et al.*, 1995). Metallothionein yang terdapat pada keong dianggap sebagai biomarker yang baik terhadap paparan logam berat. Metallothionein (MT) juga penting terhadap pertahanan dan detoksifikasi logam nonesensial Seperti timbal (Pb), Kadmium (Cd) dan Merkuri (Hg) (Carpene *et al.*, 2007).

Upaya menjaga kualitas dan keamanan produk pangan dapat dilakukan dengan memberikan perlakuan khusus dengan menurunkan kadar Pb pada keong tersebut Brite *et al.*, (2006). Pelepasan Pb dapat dilakukan dengan metode penggelontoran atau dengan merendam dan mengaliri keong dengan air bersih secara terus menerus sebelum diberikan pada ternak dan dikonsumsi manusia (DKP, 2008). Begitu pula pencucian logam berat pada kerang – kerang dapat di turunkan dengan memindahkan dari perairan yang tercemar ke perairan bersih Chan *et al.* (1999).

Menurut Prihatini dan mulayati (2013), sesungguhnya proses depurasi yang dilakukan dengan perendaman atau penggelontoran memiliki peran yang baik untuk melakukan proses perbaikan jaringan organ tertentu dalam kerang – kerang. Perbaikan ini bisa di lihat dari Struktur histologis insang pada kerang yang diberi perlakuan ozon menunjukkan kondisi lebih baik, sedangkan kerang yang tidak diozonasi mengalami kerusakan berupa hiperplasia dan nekrosis, meskipun hasil yang diperoleh belum signifikan. Oleh karena itu menjadi sangat penting untuk melihat stuktur jaringan pada keong tutut (*Filopaludina javanika* v.d Busch 1844) yang terdeteksi logam berat dari perairan yang tercemar dan keong tutut yang telah mendapat perlakuan depurasi dengan cara penggelontoran. Pemeriksaan struktur jaringan dilakukan agar dapat diketahui bagaimana perubahan kerusakan jaringan keong yang tercemar dengan keong Tutut (*Filopaludina javanika* v.d Busch 1844) yang telah mendapatkan Penggelontoran.

Penurunan logam berat dengan cara penggelontoran dapat dideteksi melalui respon Metallothionein yang bersifat sensitif dan spesifik terhadap keberadaan logam berat. Berdasarkan pemaparan diatas perlu dilakukan penelitian tentang respon protein methallothionein pada keong Tutut terhadap penurunan kadar Pb dengan cara penggelontoran.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana tingkat penurunan kadar Pb pada Keong Tutut setelah perlakuan penggelontoran?
2. Adakah Respon Metallothionein terhadap penurunan kadar Pb dengan cara penggelontoran?
3. Bagaimana perbedaan kerusakan jaringan sebelum dan sesudah proses penurunan kadar Pb dengan cara Penggelontoran.

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun Tujuan dilaksanakannya penelitian ini adalah:

1. Menurunkan kadar Pb pada Keong Tutut agar layak dimanfaatkan.
2. Mendapatkan respon Metallothionein pada keong tutut terhadap penurunan kadar Pb dengan cara penggelontoran.
3. Menganalisa histologi "Whole organ" pada Keong Tutut sebelum dan sesudah proses depurasi dengan metode penggelontoran, perendaman dan perendaman dengan ganti air.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Memberikan rekomendasi mengenai kelayakan Keong Tutut sebagai pakan ternak dan konsumsi manusia.
2. Memberikan informasi terbaru mengenai pengaruh Penggelontoran terhadap perubahan histologi pada "Whole organ" Keong tutut.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Logam Timbal (Pb)

2.1.1 Karakteristik Logam Timbal (Pb)

Timbal atau sering disebut juga timah hitam dalam bahasa latin dikenal dengan nama plumbum, disingkat dengan Pb, pada tabel periodik terdapat pada golongan XIV P, periode VI, memiliki nomor atom 82 dengan berat atom 207,20 g/mol (Cotton dan Wilkinson, 1989). Timbal secara alamiah tersebar luas di batuan dan lapisan kerak bumi. Di laut, Pb terdapat dalam bentuk Pb^{2+} , $PbOH^+$, $PbHCO_3$, $PbSO_4$ dan $PbCO_3$ (Rohilan, 1992). Timbal mempunyai dua tingkat oksidasi, yaitu Pb^{2+} dan Pb^{4+} , namun yang paling mendominasi di lingkungan perairan adalah Pb^{2+} karena bentuk ini lebih stabil (GESAMP, 1985). Sifat – sifat timbal berdasarkan Darmono (1995) dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Sifat-sifat Timbal

Sifat Fisika Timbal	Keterangan
Nomor atom	82
Densitas (g/cm^3)	11,34
Titik lebur ($^{\circ}C$)	327,46
Titik didih ($^{\circ}C$)	1.749
Kalor peleburan (kJ/mol)	4,77
Kalor penguapan (kJ/mol)	209,5
Kapasitas pada $25^{\circ}C$ (J/mol.K)	26,65
Konduktivitas termal pada 300K (W/m K)	35,5
Ekspansi termal $25^{\circ}C$ ($\mu m/ m K$)	28,9
Kekerasan (skala Brinell=Mpa)	38,6

Timbal (Pb) memiliki titik lebur rendah, mudah dibentuk, memiliki sifat kimia yang aktif, sehingga bisa digunakan untuk melapisi logam agar tidak timbul perkaratan. Pb adalah logam lunak berwarna abu-abu kebiruan mengkilat serta

mudah dimurnikan dari pertambangan. Timbal meleleh pada suhu 328 °C; titik didih 2040°C; dan memiliki gravitasi 11,34 dengan berat atom 207,20 (Widowati *et al.* 2008). Salah satu logam berat yang banyak mencemari air sungai adalah timbal (Pb). Tercemarnya air sungai oleh limbah pabrik yang mengandung Pb menyebabkan tanaman konsumsi yang tumbuh di daerah sungai menjadi tercemar oleh Pb (Kohar *et al.* 2004). Timbal (Pb) merupakan salah satu pencemar yang dipermasalahakan karena bersifat sangat toksik dan tergolong sebagai bahan buangan beracun dan berbahaya (Purnomo dan Muchyiddin 2007).

Timbal (Pb) adalah logam yang bersifat toksik terhadap manusia, yang bisa berasal dari tindakan mengkonsumsi makanan, minuman, atau melalui inhalasi dari udara, debu yang tercemar Pb, kontak lewat kulit, mata, dan parenteral. Logam Pb bisa menghambat aktivitas enzim yang terlibat dalam pembentukan hemoglobin (Hb) di dalam tubuh manusia dan sebagian kecil Pb diekskresikan lewat urin atau feses karena sebagian terikat oleh protein, sedangkan sebagian lagi terakumulasi dalam ginjal, hati, kuku, jaringan lemak, dan rambut (Widowati *et al.* 2008).

2.1.2 Sumber dan Distribusi Timbal (Pb)

Logam memasuki hidrosfer dari beragam sumber baik secara alami atau disebabkan oleh manusia. Pada skala waktu geologi sumber alami seperti kerusakan secara kimiawi dan kegiatan gunung berapi merupakan mekanisme pelepasan yang tersebar dan bertanggung jawab terhadap susunan kimiawi pada ekosistem laut dan air tawar. Menurut Cornell dan Miller (1995), mengatakan bahwa dalam sistem air tawar, pelapukan kimiawi pada batuan-batuan dan tanah di dalam cekungan pengairan merupakan sumber paling penting dari kadar logam yang memasuki permukaan air. Timbal di atmosfer berdasarkan sumber

alamiahnya berasal dari: debu – debu dari kegiatan gunung berapi, erosi dan pelapukan tebing dan tanah, asap dari kebakaran hutan dan aerosol dan partikulat dari permukaan laut.

Menurut Saeni (1989) Logam timbal masuk ke perairan bisa melalui pengendapan, jatuhnya debu yang mengandung Pb yaitu dari hasil pembakaran bahan bakar mobil atau bensin yang mengandung timbal tetraetil, erosi dan limbah industri. Penggunaan dalam jumlah paling besar adalah untuk bahan produksi baterai pada kendaraan bermotor, elektroda dari aki, industri percetakan tinta, pelapis pipa-pipa sebagai anti korosi dan digunakan dalam campuran pembuat cat sebagai bahan pewarna karena daya larutnya yang rendah air. Selain itu sumber utama pemasukan logam berat timbal (Pb) berasal dari berbagai industri seperti industri pigmen, bahan peledak, pembungkus kabel, pateri, bearing metal (tiang pondasi), dan industri kimia yang menggunakan bahan pewarna (Darmono, 1995).

2.1.3 Bioakumulasi dan Toksisitas Timbal pada Keong

Palar (1994), menyatakan bahwa daya toksisitas logam berat terhadap makhluk hidup sangat bergantung pada spesies, lokasi, umur, daya tahan, dan kemampuan individu untuk menghindari diri dari pengaruh polusi. Toksisitas pada spesies biota dibedakan menurut kriteria sebagai berikut : biota air, biota darat dan biota laboratorium. Toksisitas menurut lokasi dibagi menurut kondisi tempat mereka hidup, yaitu daerah pencemaran berat, sedang dan daerah non polusi. Umur biota juga sangat berpengaruh terhadap daya toksisitas logam, yang umurnya mudah lebih peka. Menurut Wood (1979), Organisme hidup yang ada di air dapat mengabsorpsi dan mengakumulasi logam berat yang berasal dari lingkungannya. Akumulasi yang terjadi pada organisme melalui proses biologis disebut bioakumulasi (Hutagalung, 1984). Sifat akumulatif ini

disebabkan karena kebutuhan organisme terhadap unsur kelumit (unsur yang dibutuhkan dalam konsentrasi kecil) logam berat bersifat esensial dan karena logam tersebut yang cenderung membentuk ikatan kompleks dengan bahan organik, demikian pula dengan Pb.

Siregar (2013), dalam penelitiannya tentang Keong Tutut family Viviparidae didapatkan kandungan logam berat timbal sangat tinggi didalam dagingnya sehingga keberadaanya tidak layak di konsumsi. Hal ini membuktikan bahwa Keong Tutut tersebut dapat mengakumulasi logam timbal diperairan cukup tinggi. Menurut Darmono (1995) logam berat di air diserap oleh biota melalui insang dan saluran pencernaan. Jika hewan air tersebut tahan terhadap skandungan logam yang tinggi, maka logam tersebut dapat tertimbun di dalam jaringannya, terutama pada hati dan ginjal. Sedangkan menurut Buwono *et al.*, (2005), disampaikan bahwa pada kerang-kerangan logam berat masuk diserap secara langsung melalui air melewati membran insang atau melalui makanan dan sangat sedikit melalui kulit.

Logam masuk ke dalam pembuluh darah di dalam tubuh kerang, selanjutnya berikatan dengan protein darah yang kemudian didistribusikan ke seluruh jaringan tubuh. Akumulasi logam tertinggi biasanya dalam organ detoksikasi (hati), dan ekskresi (ginjal). Di dalam kedua jaringan tersebut biasanya logam juga berikatan dengan berbagai jenis protein baik enzim maupun protein lain yang disebut metallothionein. Kemampuan kerang dalam mengakumulasi logam Timbal (Pb) disebabkan karena adanya enzim yang terdapat dalam jaringan lunak kerang yaitu enzim Metallothionein. Metallothionein sebagai protein yang mengandung banyak sulfur yang mengikat logam dan menunjukkan hubungan yang erat dengan beberapa ion logam salah satunya adalah Pb. Biasanya kerusakan jaringan oleh logam terdapat pada beberapa lokasi baik tempat masuknya logam maupun tempat penimbunannya.

Akibat yang ditimbulkan dari toksisitas logam ini dapat berupa kerusakan fisik (erosi, degenerasi, nekrosis) dan dapat berupa gangguan fisiologik (gangguan fungsi enzim dan gangguan metabolisme) (Husnah *et al.*, 2012).

2.2. Keong Tutut (*Filopaludina javanika* v.d Busch 1844)

Keong Tutut (*Filopaludina javanika* v.d Busch 1844) termasuk dalam family Viviparidae (Dharma, 2005). Menurut Marwoto dan Nurinsiyah (2009) mengatakan dalam makalahnya bahwa ada problem taksonomi pada kelompok viviparidae ini belum terpecahkan, terutama pengelompokan dalam marga (Genus) yang belum mantap karena hanya berdasarkan ukuran, bentuk dan hiasan (*sculpture*) cangkang. Oleh karena itu, karakter morfologi dan anatomi yang lebih lengkap perlu diamati untuk melengkapi deskripsi jenis – jenis yang dijumpai di Indonesia dan memantapkan status taksonominya. Keong Tutut (*Filopaludina javanika* v.d Busch 1844) adalah salah satu jenis keong yang memiliki cangkang tunggal, termasuk dalam golongan binatang bertubuh lunak (moluska).



Gambar 1. Keong Tutut (*Filopaludina javanika* v.d Busch 1844)

Menurut Dharma, (2005) Keong Tutut (*Filopaludina javanika* v.d Busch

1844) diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom: Animalia

Phylum: Mollusca

Class: Gastropoda

Ordo Architaenioglossa

Superfamily: Viviparoidea

Family: Viviparidae

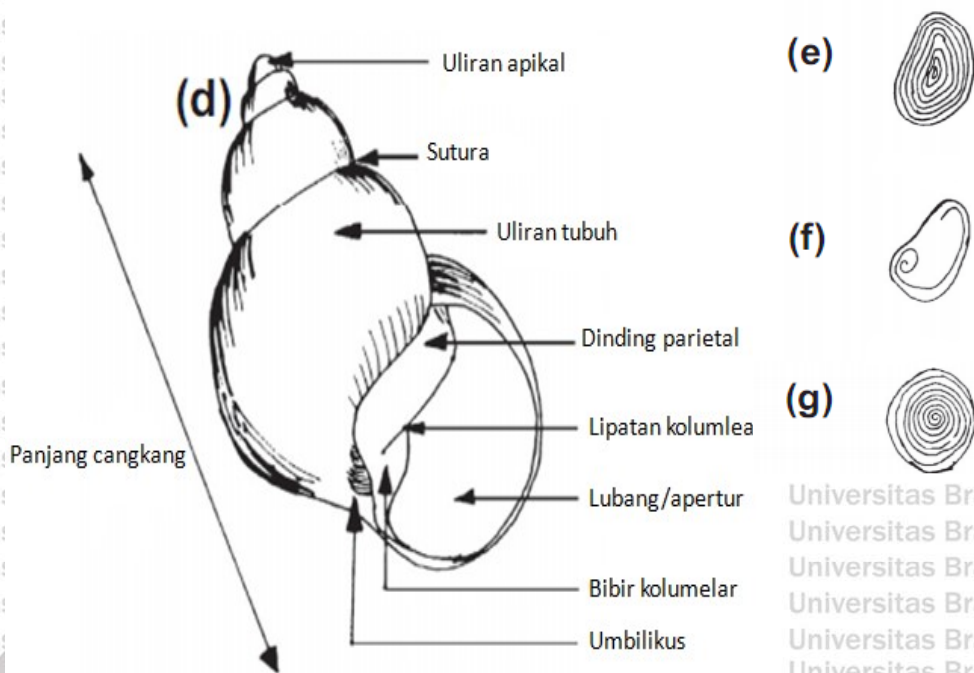
Genus *Filopaludina*

Species: ***Filopaludina javanika* v.d Busch 1844**

2.2.1 Morfologi Keong Tutut Family Viviparidea

Pyron dan Brown (2015), menyatakan bahwa seluruh Moluska dari Kelas Gastropoda memiliki cangkang tunggal, tetapi bentuknya sangat banyak variasi diantara kelompok familinya. Siput air tawar ada yang memiliki cangkang dengan bentuk kerucut sederhana dan gastropoda palnorbid memiliki cangkang planospiral yang sipralnya terulir pada satu bidang.

Bagian lubang cangkang (Aperture) seringkali nampak seperti membentuk bibir dalam Siput. Keberadaan bibir bagian dalam dan tubuh menghasilkan istilah Umbilikus atau Perforatus. Cangkang dapat memiliki Duri, Alur di sepanjang uliran yang disebut Carina, garis warna atau seperti tumbukan kecil di permukaan cangkang. Alur pada sudut kanan uliran disebut Costae dan alur kecil di sepanjang uliran disebut Lirae. Garis pertumbuhan pada operkulum digunakan dalam klasifikasi Caenogastropoda. Garis pertumbuhan yang terbentuk sempurna menghasilkan Operkulum Konsentris. Operkulum Paucispiral dan Multispiral memiliki garis yang tersusun Spiral (Pyron dan Brown, 2015).

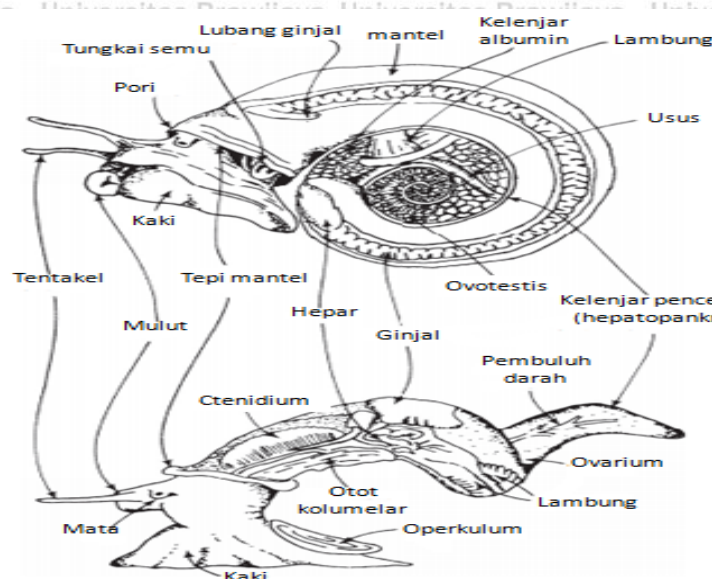


Gambar 2. Anatomi dasar cangkang, termasuk arsitektur cangkang (bentuk umum cangkang (d), dan tiga tipe operculum (e: konsentris; f: paucispiral; dan g: multispiral (Pyron dan Brown, 2015)

Moluska memiliki bagian lunak yang terdiri dari kepala, kaki, massa visceral dan mantel. Epidermis mantel mensekresikan protein, garam kalsium dan mukus, serta mengandung elemen saraf sensori (Rupert *et al.*, 2004).

Pulmonatus air dan caenogastropoda memiliki mata pada bagian basal tentakel, lain halnya dengan gastropoda tanah yang memiliki mata di ujung tentakelnya.

Kaki otot memiliki silia dan epitelium sekretori untuk mensekresikan mukus yang membantu pergerakan (lokomosi). Otot pedal membentuk gelombang kontraksi untuk mendorong siput bergerak maju. Punuk visceral tersusun atas sebagian besar organ pencernaan dan reproduksi. Mantel melindungi massa visceral dan terletak di bawah cangkang yang dihasilkan olehnya. Mantel anterior, di atas kepala, memiliki rongga mantel dimana terdapat di dalamnya insang atau ctenidium pada caenogastropoda. Gastropoda banyak ganglion yang menghubungkan saraf di tiap bagian tubuhnya.



Gambar 3. Anatomi dasar internal planorbid pulmonatus (atas) dan pleurocerid caenogastropoda (bawah) (Pyron dan Brown, 2015)

2.2.2 Habitat dan Distribusi Keong Tutut Family Viviparidae

Keong umumnya menyukai daerah yang terlindung. Beberapa catatan tentang habitat Keong Tutut selalu dikemukakan baik ketika mendeskripsi suatu jenis baru, maupun ketika mempelajari distribusi atau sebaran suatu jenis.

Substrat pada habitat keong sangat erat kaitannya dengan bentuk umum radula. Habitat yang umum adalah sungai, rawa, danau, sawah, kolam, aliran – aliran irigasi atau selokan, parit dan anak-anak sungai.

Beberapa jenis keong telah beradaptasi hingga mampu hidup di perairan dengan aliran air tenang atau deras, kedalaman mulai < 25 cm atau > 8 m.

Selain habitat, substrat tempat keong melekatkan dirinya juga salah satu hal yang penting untuk diketahui dan dipelajari. Berbagai jenis substrat seperti batu, kerikil, pasir, tumbuhan air, akar tumbuhan sangat erat kaitannya dengan perikehidupan keong seperti yang berkaitan dengan jenis pakan, tempat melekatkan telur atau melahirkan anakan – anaknya dan tempat sembunyi dari predator dan cahaya matahari (Marwoto *et al.*, 2011).

Siput tutut paling banyak ditemukan di sawah dengan keadaan air sawah yang berlumpur dan perairan yang jernih maupun keruh. Distribusi siput tutut berada di perairan dangkal yang berdasar lumpur serta tumbuh di rerumpunan air dengan aliran air yang langsung seperti sawah, rawa-rawa, pinggir danau dan pinggir sungai kecil. Siput umumnya menyukai daerah yang terlindung (Duria, 2001). Kepadatan siput tutut dikaitkan dengan kandungan bahan organik, karena pada umumnya gastropoda termasuk siput tutut merupakan *deposit feeder* yang memanfaatkan bahan organik yang mengendap di substrat dasar perairan sebagai makanannya. Menurut Siregar (2013), faktor ketersediaan makanan juga ikut berpengaruh dalam menunjang.

Menurut hasil penelitian Sari *et al.*, (2016) kualitas air normal pada organisme keong tutut family Viviparidae dengan nilai kisaran suhu sebesar 25,89 – 27,39 °C, Ph substrat dengan dua karakteristik yang berbeda yaitu 4,9 pada habitat lumpur mengalir dan 4,6 dengan karakteristik lumpur tidak mengalir, Ph substrat pada dua karakteristik yang berbeda tergolong asam karena nilai Ph dibawah 7. Sedangkan kecerahan didapati dengan dua karakter yang berbeda adalah 0,30 m pada karakteristik habitat lumpur mengalir dan 0,28 pada karakteristik lumpur tidak mengalir.

2.2.3 Cara Koleksi dan Pengawetan untuk Penelitian

Koleksi keong secara umum dilakukan pada beberapa bagian sungai, danau, rawa, anak sungai, kolam baik dibagian tepi, maupun bagian tengah. Beberapa jenis biasanya dijumpai menempel pada substrat batu, tumbuhan air atau akar – akar pohon yang terendam di sungai, bahkan juga pada batang-batang pohon, ranting – ranting atau serasah dedaunan yang terendam di sungai. Keong tutut (*Filopaludina javanika* v.d. bush 1844) biasanya melimpah di bawah naungan yang teduh, seperti di balik batu, akar, di bawah serasah

dedaunan, atau membenamkan cangkang di dalam pasir berlumpur. Habitat keong, waktu, nama tempat, nama daerah harus dicatat sebelum mengambil koleksi (sampel). Pengambilan gambar/foto habitat dan keong ketika masih hidup diperlukan untuk mengetahui warna tubuh lunaknya (Marwoto *et al.*, 2011).

Keong diambil dengan tangan, atau dengan alat berupa pinset, serokan atau ayakan, yang terbuat dari bambu, plastik atau logam. Keong yang diperoleh di simpan dalam wadah beserta keterangannya yang dapat dilengkapi dengan data GPS ketepatan lokasi pengambilan. Tambahkan awetan 70 % ethanol (alkohol) dan ditutup rapat.

Pengamatan Anatomi tubuh lunak keong sebaiknya dilakukan dengan cara mengelurkan tubuh lunak keong tanpa memecahkan cangkang, dianjurkan untuk merendam keong (10 – 20 ekor) dengan campuran air dan sedikit kristal menthol. Setelah keong mati lemas, biasanya bagian kepala agak menjulur keluar, pindahkan dalam botol yang berisi alkohol 70%, dan siap diamati. Pengamatan biasanya menggunakan “dissecting” mikroskop (Marwoto *et al.*, 2011).



Gambar 4. Cara koleksi Keong Tutut : Kiri, mengambil dengan tangan, tengah; mengambil dengan ayakan, kanan mengambil dengan pinset

2.2.4 Pengaruh Logam Berat Terhadap Keong Tutut (*Filopaludina javanica* v.d Busch 1844).

Logam berat biasanya menimbulkan efek khusus bagi makhluk hidup.

Dapat dikatakan semua logam berat dapat menjadi bahan racun yang akan meracuni tubuh makhluk hidup. Sebagai contoh adalah logam Hg, Cd dan Pb

(Palar, 1994). Logam masuk ke dalam jaringan tubuh makhluk hidup melalui beberapa jalan, yaitu melalui saluran pernafasan, pencernaan dan penetrasi melalui kulit. Absorpsi logam melalui saluran pernafasan biasanya cukup besar.

Baik pada hewan air yang masuk melalui insang maupun hewan darat (Darmono, 2001).

Banyaknya toksikan Pb di lingkungan masuk melalui rantai makanan dan diserap melalui saluran pencernaan hewan dan selanjutnya pada manusia. Proses absorpsi tersebut tidak menimbulkan efek toksik kecuali jika diserap oleh tubuh. Lambung merupakan tempat penyerapan yang baik untuk asam lemah dengan bentuk ion-ion yang larut dalam lemak. Untuk basa lemah yang mengion dan tidak larut dalam lemak tidak mudah diserap oleh lambung, pada umumnya diserap oleh usus. Sebaliknya untuk basa organik lebih banyak di serap di usus daripada di lambung.

Absorpsi toksikan pada saluran pernafasan kerang dapat melalui insang yang merupakan jalan masuknya oksigen dan bahan toksin dalam tubuh. Di dalam insang terdapat banyak kapiler untuk memastikan penyerapan oksigen yang memadai, karena itu bahan lipofilik dalam air sangat memungkinkan untuk masuk ke dalam tubuh ikan melalui Insang (Mukono, 2005). Bagian organ pernapasan (Insang) mengalami pembengkakan terjadi karena Cd^{2+} menghambat kerja senyawa α -antipirin yang berakibat meningkatnya toksisitas pada organ pernapasan (insang) (Widowati et al., 2008).

2.2.5 Toksisitas Pb dalam Makhluk Hidup

Pada hewan ruminansia gejala khas dari keracunan Pb ini ada tiga bentuk yaitu sebagai berikut:

- 1) Gastro-enteritis, hal ini disebabkan karena terjadi reaksi dari mukosa saluran pencernaan bila kontak dengan garam Pb, sehingga terjadi pembengkakan.
- 2) Anemia, di dalam darah timbal berikatan dengan sel darah merah sehingga sel darah merah mudah pecah. Bila sel darah merah pecah, terjadi gangguan terhadap sintesis Hb yang dapat menyebabkan anemia.
- 3) Ensepalopati, logam ini juga menyebabkan terjadinya kerusakan sel endotel dari kapiler darah otak, sehingga bentuk protein berukuran besar dapat menerobos masuk ke dalam otak.

Timbal dalam tubuh manusia terikat dalam gugus -SH dalam molekul protein dan hal ini menyebabkan hambatan pada aktivitas kerja sistem enzim. Timbal mengganggu sistem sintesis Hb dengan jalan menghambat konversi delta-ALA (delta aminolevulinik asid) menjadi forfobilinogen dan juga menghambat korporasi dari Fe ke dalam protoporphyrin IX untuk membentuk Hb, dengan jalan menghambat enzim delta-aminolevulinik asid-dehidrasi (delta-ALAD) dan ferokelatase. Hal ini menyebabkan meningkatnya ekskresi kopropin dalam urin dan delta-ALA serta menghambat sintesis Hb (Darmono, 2001).

Haeme akan bereaksi dengan Globin dan ion logam Fe^{2+} dan dengan bantuan enzim ferrokkelatase akan membentuk khelat haemoglobin.

Senyawa Pb yang terdapat dalam tubuh akan mengikat gugus aktif dan enzim ALAD. Ikatan yang terbentuk antara logam Pb dengan gugus ALAD tersebut akan mengakibatkan pembentukan intermediet porpholinogen dan kelanjutan dari proses reaksi ini tidak dapat berlanjut atau terputus

(Palar, 1994). Gejala keracunan akut Pb pada anak dimulai dengan hilangnya nafsu makan (anoreksia), kemudian diikuti dengan rasa sakit perut dan muntah, tidak berkeinginan untuk bermain, berjalan sempoyongan, sulit berkata-kata, ensepalopati dan akhirnya koma. Pada waktu 1-6 minggu setelah mengkonsumsi tidak terlihat gejala tetapi segera setelah 6 minggu timbul gejala seperti diatas (Darmono, 2001).

Pada keracunan kronis Pb dilaporkan oleh Molina *et al.* (1983) dalam Darmono (2001), terjadi pada keluarga pembuat kerajinan tembikar di daerah Meksiko. Peneliti tersebut membandingkan kecerdasan diantara anak yang Pb-nya dalam darah rendah dan kandungan logam berat Timbal (Pb) dalam darah tinggi. Dari hasil penelitian didapatkan bahwa tingkat kecerdasan (IQ) pada anak yang kadar Pb-nya rendah ($<40 \mu \text{g/dl}$) lebih tinggi daripada pada anak yang kandungan Pb-nya tinggi ($>40 \mu \text{g/dl}$).

Kadar Pb yang tinggi di dalam darah tersebut ternyata juga berpengaruh terhadap orang dewasa, terutama pada ibu hamil dan menyusui. Dietrich *et al.* (1987), melaporkan bahwa anak yang lahir dari ibu yang berkadar Pb-nya tinggi dalam darah menyebabkan bobot bayi yang dilahirkan lebih rendah daripada yang normal.

Untuk dapat melakukan evaluasi terhadap keterpaparan oleh logam berat Timbal (Pb) perlu diketahui batas normal dari konsentrasi kandungan Pb dalam jaringan-jaringan dan cairan tubuh. Bila manusia terpapar logam berat timbal (Pb) dalam batas normal atau dalam batas toleransi, maka daya racun yang dimiliki oleh Pb tidak akan bekerja dan tidak akan menimbulkan pengaruh apa-apa. Tetapi jika jumlah yang diserap telah mencapai dan atau bahkan melebihi batas ambang, maka individu yang terpapar akan memperlihatkan gejala keracunan logam berat Timbal (Pb). Ada empat katagori kadar Logam berat timbal (Pb) dalam tubuh manusia dapat di lihat dalam Tabel 2.

Tabel 2. Empat Kategori kadar Pb dalam tubuh manusia (Palar, 1994).

Kategori	$\mu/100 \mu\text{g pl}$ Darah	Deskripsi
Normal	< 40	Tidak terkena paparan atau tingkat paparan normal
Dapat ditoleransi	40 – 80	Pertambahan penyerapan dari keadaan terpapar tetapi masih bisa ditoleransi
Berlebih	80 – 120	Kenaikan penyerapan dari keterpaparan yang banyak dan mulai memperlihatkan tanda – tanda keracunan
Bahaya	>120	Penyerapan mencapai tingkat bahaya dengan tanda – tanda keracunan ringan sampai berat

2.3 Analisa Pb pada Keong Tutut

Ada tidaknya Pb dalam Keong Tutut (*Filopaludina javanica v.d Busch* 1844) atau sampel dapat diuji dengan analisa kualitatif dan analisa kuantitatif.

Sebelum dilakukan pengujian logam Pb, sampel diabukan terlebih dahulu. Abu adalah zat organik sisa hasil pembakaran suatu bahan organik. Setelah dilakukan pengabuan ditambah HNO_3 65% sampai larut kemudian ditambah aquades dengan volume tertentu dan disaring. Filtrat dianalisis secara kualitatif dan kuantitatif.

1. Prosedur Analisa Kualitatif

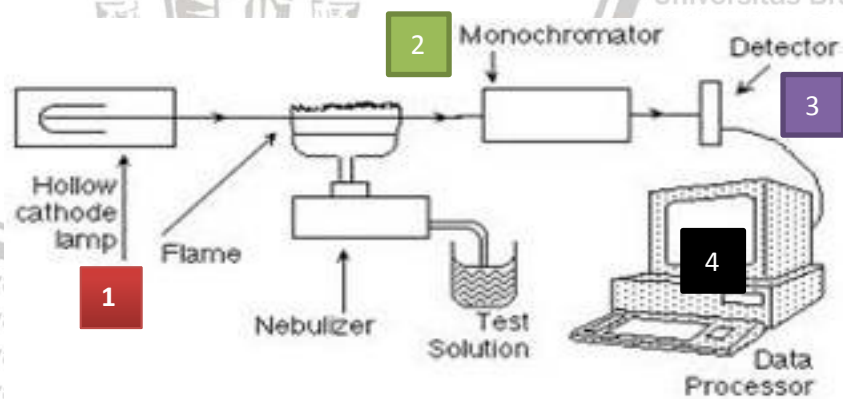
- Sampel + HCl pekat akan terjadi endapan putih
- Sampel + Na_2S dalam suasana netral atau asam encer terjadi endapan hitam timbal sulfida
- Sampel + larutan KI akan terjadi endapan kuning timbal Iodida
- Sampel + larutan K_2CrO_4 terjadi endapan kuning timbal Iodida
- Filtrat + H_2SO_4 pekat akan terjadi endapan putih

2. Prosedur Analisa Kuantitatif

- a. Spektrofotometri serapan atom didasarkan pada penyerapan energi sinar oleh atom-atom netral, dan sinar yang diserap biasanya sinar tampak atau ultraviolet. Dalam garis besarnya prinsip spektrofotometri serapan atom sama saja dengan spektrofotometri sinar tampak dan ultraviolet. Perbedaan terletak pada bentuk spektrum, cara pengerjaan sampel dan peralatannya (Rohman, 2007). Metode spektrofotometri serapan atom (SSA), berprinsip pada absorbansi cahaya oleh atom. Atom-atom menyerap cahaya tersebut pada panjang gelombang tertentu, tergantung pada sifat unsurnya. Cahaya pada panjang gelombang tersebut memiliki energi yang cukup untuk mengubah tingkat energi elektronik suatu atom. Dengan absorpsi energi, berarti memperoleh lebih banyak energi, suatu atom pada keadaan dasar dinaikkan tingkat energinya ke tingkat eksitasi.

- b. Instrumentasi SSA

Gambar di bawah ini menunjukkan bentuk bagan komponen penting dari spektrofotometer serapan atom.



Gambar 5. Sistem peralatan spektrofotometer serapan atom.

Keterangan:

1. Sumber sinar Sumber sinar yang lazim dipakai adalah lampu katoda berongga (*hollow cathoda lamp*). Lampu ini terdiri atas tabung kaca tertutup yang mengandung suatu katoda dan anoda. Katoda sendiri berbentuk silinder

berongga yang terbuat dari logam atau dilapisi dengan logam tertentu.

Tabung logam ini diisi dengan gas mulia (neon atau argon). Bila antara anoda dan katoda diberi selisih tegangan yang tinggi (600 volt), maka katoda akan memancarkan berkas-berkas elektron yang bergerak menuju anoda yang mana kecepatannya dan energinya sangat tinggi. Elektron-elektron dengan energi tinggi ini dalam perjalanannya menuju anoda akan bertabrakan dengan gas-gas mulia yang diisi tadi. Akibat dari tabrakan-tabrakan ini membuat unsur-unsur gas mulia akan kehilangan elektron dan menjadi bermuatan positif. Ion-ion gas mulia yang bermuatan positif ini selanjutnya akan bergerak ke katoda dengan kecepatan dan energi yang tinggi pula. Sebagaimana disebutkan di atas, pada katoda terdapat unsur-unsur yang sesuai dengan unsur yang dianalisis. Unsur-unsur ini akan ditabrak oleh ion-ion positif gas mulia. Akibat tabrakan ini, unsur-unsur akan terlempar keluar dari permukaan katoda. Atom-atom unsur dari katoda ini mungkin akan mengalami eksitasi ke tingkat energi-energi elektron yang lebih tinggi dan akan memancarkan spektrum pancaran dari unsur yang sama dengan unsur yang akan dianalisis.

2. Monokromator dimaksudkan untuk memisahkan dan memilih panjang gelombang. Dalam monokromator terdapat chopper (pemecah sinar), suatu alat yang berputar dengan frekuensi atau kecepatan perputaran tertentu.
3. Detektor digunakan mengukur intensitas cahaya yang melalui tempat pengamatan. Biasanya digunakan tabung penggandaan foton (*photomultiplier tube*)
4. Readout merupakan suatu alat penunjuk atau dapat juga diartikan sebagai sistem pencatatan hasil. Hasil pembacaan dapat berupa angka atau berupa kurva yang menggambarkan absorbansi atau intensitas emisi (Rohman, 2007).

2.4 Upaya Pengurangan Logam Berat Pb Pada Keong

Menurut Trilaksani dan Riyanto (2004), bahwa *rewatering procedure*.

Merupakan mekanisme operasional pengolahan moluska yang sangat penting dan tidak dapat diabaikan untuk mendapatkan produk akhir yang berkualitas adapun tujuannya antara lain:

- Mengkondisikan moluska untuk *recovery* dari stres akibat pemanenan
- Menciptakan 2–3 *buffer stock* untuk kelangsungan produksi dalam kasus ada cuaca buruk (*bad weather*.)
- Dapat digunakan untuk pembersihan moluska terhadap akumulasi kotoran seperti pasir, grit, dan silt
- sistem ini juga dapat digunakan sebagai stasiun depurasi bila diperlukan.

Depurasi atau purifikasi terkendali merupakan hal yang umum dilakukan dalam proses kerang-kerangan (DHHS dan FDA 1995, diacu dalam Zhu *et al.* 1999). Depurasi adalah suatu proses penanganan pasca panen yang bertujuan untuk membersihkan kerang-kerangan dari bahan-bahan pencemar dan beracun yang terdapat di dalam daging dan cangkang kerang. Cara sederhana dengan merendam kerang di dalam air bersih dalam kondisi terkontrol, atau dapat juga dengan cara mengalirkan air dengan kondisi kerang terendam di dalam air (DKP 2008).

Sistem yang paling baik untuk revitalisasi *muschel* yang telah diidentifikasi adalah *Vertical Rewatering Method* (VRM). Metode ini menjamin suplai air dan oksigen secara merata ke seluruh lapisan kerang di dalam *container* dan kerang akan selalu terendam di dalamnya. Ukuran tempat (*container*) sangat bervariasi dari 1–10 m³, dari bahan plastik sampai *stainless steel* (Gorski 1999, diacu dalam Trilaksani dan Riyanto 2004). Kerang-kerangan membersihkan diri selama depurasi dengan cara menekskresikan kotoran mereka. Sistem mengalir (*flow-through system*) biasanya berpangkalan di darat dan diterapkan dengan

pasokan kualitas air yang tetap. Sistem sirkulasi (*recirculating system*) dapat dibangun di pedalaman, memiliki keuntungan wilayah yang tidak terbatas, lebih efisien, dan akses kapal lebih mudah (Zhu *et al.* 1999).

Seperti halnya produk perikanan lain, Keong Tutut sering menghadapi masalah dengan pencemaran oleh logam berat. Kandungan logam berat yang tinggi di temukan pada jenis keong karena organisme ini merupakan organisme invertebrata *filter feeder* dan hidup menetap. Kandungan logam berat dalam daging organisme perairan biasanya lebih tinggi daripada kandungan logam Berat pada perairannya, karena logam berat tersebut akan terakumulasi didalam dagingnya (Hutagalung, 1991).

Pencemaran Pb pada perairan merupakan salah satu pencemaran yang dapat membahayakan baik bagi organisme yang hidup didalamnya maupun manusia yang mengkonsumsi organisme yang tercemar. Departemen kesehatan Republik Indonesia membatasi Pb maksimum dalam makanan sebesar 4 ppm, sedangkan FAO sebesar 2 ppm (Nurjanah dan Widiastuti 1997), tetapi FDA (2000), diacu dalam ATSDR (2007) menetapkan kadar Pb pada produk yang ditujukan bagi bayi dan anak-anak adalah 0,5 ppm sedangkan menurut Setiawan (2007), didalam baku mutu Uni Eropa (2001), bahwa baku mutu yang sesuai sesuai dengan *Foods Specified in Regulation no 466/2001/EC*, sebesar 0,1 ppm.

2.5 Metallothionein

Metallothionein adalah sejenis protein non-enzim yang mengandung ikatan logam baik logam esensial maupun non esensial. *Metallothionein* ditemukan pertama kali pada tahun 1957 oleh Margoshes dan Valle. Keduanya melakukan identifikasi terhadap unsur yang bertanggung jawab terhadap mekanisme akumulasi kadmium secara alami pada jaringan korteks ginjal kuda. Unsur tersebut diketahui kemudian terdiri dari logam kadmium dan protein

(*thionein*) yang berikatan membentuk suatu struktur kompleks *metallothionein* (Carpene, Andreani dan Isani 2007). Selain kadmium, *metallothionein* juga dapat berikatan dengan logam lain seperti Seng (Zn), Nikel (Ni), Timbal (Pb) dan Tembaga (Cu). *Metallothionein* umumnya dapat berikatan dengan semua jenis logam. Meskipun demikian, interaksi *metallothionein* dengan golongan logam berat umumnya mendapat perhatian lebih terkait dengan toksisitas yang ditimbulkan.

Metallothionein (MT) merupakan materi yang termasuk dalam golongan persenyawaan protein atau polipeptida. Vasak dan Meloni dalam *Metallothionein in Biochemistry and Pathology* mendefinisikan *metallothionein* adalah “a superfamily of low molecular-mass cysteine and metal-rich proteins or polypeptides conserved through evolution and present in all eukaryotes and certain prokaryotes” (Zatta 2008). Interaksi antara logam dan protein tersebut akan membentuk gugus-gugus spesifik yang disebut *metal-thiolate clusters*. Sejauh ini, *metallothionein* merupakan satu-satunya senyawa biologis yang berinteraksi dengan logam secara alami.

Metallothionein memegang peranan penting dalam pengelolaan mekanisme metabolisme dan transisi seluler materi logam didalam tubuh, terutama ion-ion logam berat (Binz 2000). Jenis logam dan asam amino pembentuk *metallothionein* yang bervariasi menuntut adanya penggolongan secara ilmiah. Secara umum, *metallothionein* memiliki struktur dasar berupa unsur logam dan asam amino penyusun badan proteinnya. Berat molekul *metallothionein* pada mamalia adalah 6000-7000 Da, dengan struktur *metallothionein* mengandung 60-68 residu asam amino tanpa asam amino aromatik. Dua puluh asam amino diantaranya merupakan asam amino *Sistein* (Cys) yang mengikat 7 ion logam ekuivalen maupun bivalen pada setiap molekul *metallothionein*. Sejauh ini *metallothionein* ikan *teleostei* diketahui memiliki 60-

61 residu asam amino. Semua asam amino *Sistein* berada dalam keadaan tereduksi dan terkoordinasi dengan ion logam melalui ikatan *mercaptida*, sehingga menimbulkan sifat khusus *spektroskopik* gugus *metalthiolate*. Berdasarkan rekomendasi *The Committe of the Nomenclature of Metallothionein*, segala macam protein atau polipeptida dengan struktur interaksi dan fungsi menyerupai *metallothionein* seperti yang terdapat pada mamalia dapat diklasifikasikan sebagai *metallothionein* (Binz, 2000).

Metallothionein (MT) dapat berfungsi sebagai biomarker untuk monitoring adanya paparan dan toksisitas logam di perairan laut, juga memiliki peran penting dan unik dalam homeostasis logam esensial (misalnya seng dan tembaga) dan detoksifikasi logam beracun misalnya (Kadmium dan Merkuri). Ekspresi *Metallothionein* umumnya meningkat dengan adanya paparan logam Zn, Cu, Cd, Hg dan Ag (Viarengo, Burlando, Ceratto, dan Panfoli 2000). Toksisitas selular bisa terjadi jika kecepatan masuknya logam kedalam sel melebihi kecepatan sintesis *metallothionein*. Program pemantauan (biomonitoring) perairan untuk mengetahui adanya paparan logam sering menggunakan organisme yang berasal dari lingkungan perairan asin, seperti laut, muara dan zona pasang surut (Legras, Mouneyrac, Amiard, dan Rainbow 2000).

2.6 Pengikatan Logam berat oleh *Metallothionein*

Metallothionein (MT) merupakan polipeptida yang memiliki banyak ikatan *cystein* (cys) yang disandikan oleh gen, memiliki berat molekul yang rendah, dan berfungsi sebagai peptida pengikat logam (*metal binding peptides*). Sebagai konsekuensi dari banyaknya kandungan asam amino Cys maka protein ini mengandung kelompok *thiol* (*sulfidril*, *-SH*) dalam jumlah yang besar.

Kelompok *thiol* mengikat logam-logam berat dengan sangat kuat dan efisien, termasuk zink, merkuri, tembaga, dan kadmium. Residu *Sulfidril* dari Cys mampu mengikat logam dimana satu ion logam diikat oleh tiga residu -SH atau satu ion logam dengan 2 residu -SH. Koordinasi pengikatan dari setiap ion logam melalui residu -SH yang ada pada Cys, membentuk struktur *tetrahedral tetrathiolate* (Zatta, 2008).

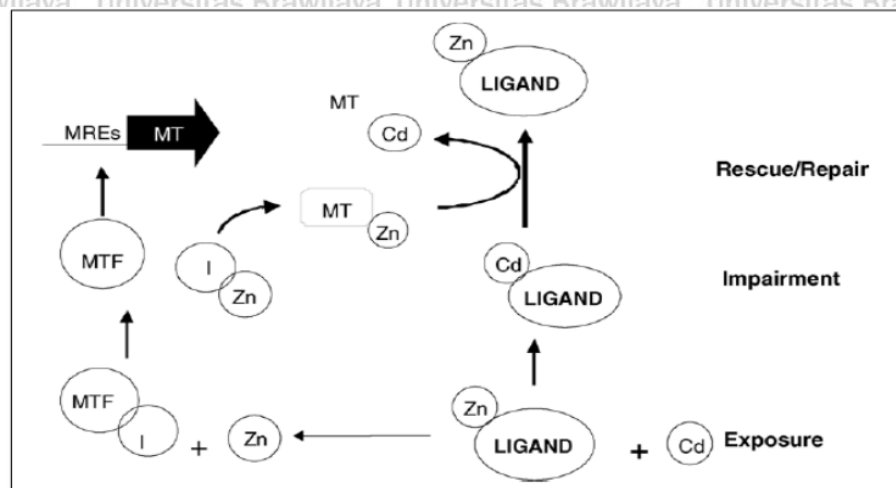
Berbagai penelitian menyatakan bahwa MT berperan sebagai biomarker pada pencemaran lingkungan oleh logam berat yang mempengaruhi fisiologi pada hewan yang hidup bebas di alam (Knapen, Reynders, Bervoets dan Verheyen 2007). Secara umum telah diterima bahwa MT memainkan peran penting dalam detoksifikasi ion logam berat seperti kadmium karena MT akan mengikat 7 mol kadmium atau seng dalam tubuh (Klassen, Liu dan Choudhuri 1999, Geffard, Amiard-Triquet, Amiard dan Mouneyrac 2001).

Metallothionein juga memiliki peran penting sebagai buffer dalam sel yang dapat mengikat logam seperti Cu dan Zn (Marr, Lipton, Cacela dan Hansen 1996). Ada hubungan positif antara MT dan polutan logam berat. Kontaminan logam berat dapat mengakibatkan kerusakan sistemik suatu organisme dan mengakibatkan kelebihan produksi MT (Ringwood, Hogue, Keppler dan Gielazyn 2004).

Banyak spesies mensintesis *metallothionein* dan dapat dilakukan uji toksisitas logam melalui pengukuran *metallothionein*. Berdasarkan hasil pengukuran *metallothionein*, ikan dan kerang menunjukkan tingkat akumulasi logam kadmium yang tinggi dibandingkan biota air lainnya (Regoli, Pellegrini, Winston dan Gorbi 2002 and Kavun, Shulkin dan Khristoforova 2002).

Ekspresi dan peran MT pada ikan sebagian besar telah banyak dipelajari pada organ-organ yang memainkan peran sentral dalam penyerapan dan akumulasi logam seperti hati, ginjal dan insang (Van Campenhout, Infante,

Adams dan Blust 2004). Metallothionein memiliki peran penting dalam detoksifikasi ion logam. MT memiliki berat molekul rendah dan berisi sistein kaya residu serta mampu dalam mengikat ion logam (Suharsono *et al.*, 2009). Reaksi kimia MT beraksi dengan logam Pb pada tubuh bivalvia dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Model pasangan MT yang menginduksi dan memperbaiki ligan target dalam pengikatan logam. (MT, metallothionein; MRE, metal regulatory element; MTF, metal transcription factor; MTI, metal transcription inhibitor) (Roesijadi 1996 dalam Amiard *et al.*, 2006).

2.7 Pengamatan Metallothionein (MT) dengan Metode ELISA

Enzim-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) atau disebut sebagai uji penentuan kadar imunisorben taut-enzim merupakan teknik pengujian serologi yang didasarkan pada prinsip interaksi antara antibodi dan antigen. Pada awalnya teknik ELISA hanya digunakan dalam bidang imunologi untuk mendeteksi keberadaan antigen maupun antibodi dalam suatu sampel seperti dalam pendeteksian antibodi IgM, IgG dan IgA pada saat terjadi infeksi (khususnya pada tubuh manusia). Namun seiring berkembangnya ilmu pengetahuan, teknik ini juga dapat digunakan dalam menganalisis kadar hormon yang terdapat dalam suatu organisme (Farabi, 2012).

ELISA adalah tes serologis yang umumnya dilakukan dalam berbagai bentuk pada tipe antigen dan reagen yang digunakan pada saat melakukan tes.

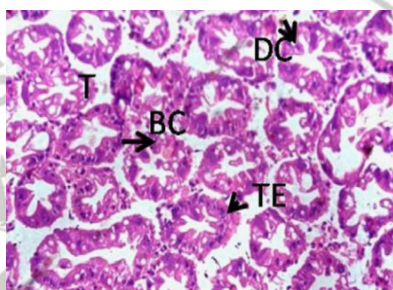
Teknik tes ELISA hanya dapat mendeteksi antibodi spesifik genus dan tidak dapat digunakan untuk mengidentifikasi serogrup atau serovar. Prinsip teknik ELISA secara umum adalah antibodi yang terdapat didalam serum dimasukkan kedalam antigen yang sudah difiksasi pada penyangga padat (*plat mikrotiter*), yang kemudian dilakukan inkubasi selama waktu tertentu, dan dicuci untuk menghilangkan antibodi yang berlebihan. Selanjutnya ditambahkan anti bodi anti-spesies yang dikonjugasi dengan enzim (Setiawan, 2007).

ELISA adalah metode yang biasanya sering digunakan untuk mendeteksi protein target berdasarkan antigen dan antibodi spesifik. Kemudian ditambahkan konjugasi antibodi dengan enzim tertentu untuk memvisualisasikan interaksi antigen-antibodi dengan substrat enzim dan pengukuran terhadap kode yang dihasilkan. Metode ELISA telah diterapkan dalam penentuan MT pada sejumlah sampel termasuk sel hepatitis, sel sertoli tikus yang terpapar kadmium dan urin anak-anak yang berada di lingkungan tercemar (Ryvolova et al., 2011).

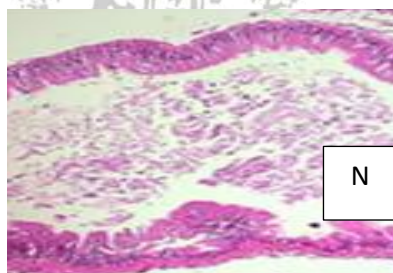
2.8 Histologi

Histologi berasal dari bahasa Yunani yaitu *histos* yang berarti jaringan dan *logos* yang berarti ilmu. Jadi histologi berarti suatu ilmu yang menguraikan struktur dari hewan secara terperinci dan hubungan antara struktur pengorganisasian sel dan jaringan serta fungsi-fungsi yang mereka lakukan. Jaringan merupakan sekumpulan sel yang tersimpan dalam suatu kerangka struktur atau matriks yang mempunyai suatu kesatuan organisasi yang mampu mempertahankan keutuhan dan penyesuaian terhadap lingkungan diluar batas dirinya. Histologi dapat dilakukan dengan mengambil sampel jaringan atau dengan mengamati jaringan setelah kematian terjadi (Hosseini, 2011).

Menurut Purivirojkul (2012), menyatakan bahwa kelebihan pemeriksaan histopatologi dalam mendiagnosa penyakit infeksi adalah untuk mengetahui penyebab infeksi, klasifikasi penyakit berdasarkan waktu dan distribusi penyakit serta terdeteksinya penyakit infeksi pada ikan-ikan yang tidak menunjukkan gejala klinis. Oleh karena itu gambaran histologi dapat digunakan untuk membandingkan kondisi jaringan sehat terhadap jaringan sampel dapat diketahui apakah suatu penyakit yang diduga benar-benar menyerang atau tidak (Hossein, 2011). Berikut ini beberapa gambaran histologi Normal pada jaringan *digestive diverticul*, Insang, dan Lambung.



Gambar 7. Histologi jaringan *digestive diverticula* lambung kerang hijau yang Normal dan sel sel penyusunnya (Vasanthi, 2012).



Gambar 8. Histologi jaringan Lambung Keog Tutut (*Bellamya sp.*) (Gitarama 2016)



Gambar 9. Histologi jaringan Insang pada *branchialis* (Sunarto 2007)

III. KERANGKA KONSEP PENELITIAN

3.1 Landasan Teori

Menurut Alaerts (1984), air tawar yang mengandung logam yang berasal dari buangan air limbah, erosi, dan dari udara secara langsung. Air tawar mengandung material anorganik dan organik yang lebih banyak daripada air laut., sehingga pencemaran logam pada air tawar lebih mudah terjadi. Keracunan logam berat bersifat kronis, dan dampaknya baru terlihat setelah beberapa tahun.

Logam berat bersifat akumulatif pada tubuh organisme dan konsentrasi mengalami peningkatan (biomagnifikasi) dalam rantai makanan.

Penelitian terdahulu yang dilaksanakan tahun 2009 menyebutkan kadar Pb pada tanah sawah di Kabupaten Lamongan bagian utara yang terkenal dengan daratan Bonorowo terdeteksi kandungan Pb pada 9 kecamatan antara 0,20 - 2,94 ppm. Termasuk tanah sawah Desa Dukuh Tunggal Kecamatan Glagah terdeteksi dengan kadar Pb 0,67 ppm (Purbalisa dan Mulyadi, 2013). Keong Tutut (*Filopaludina javanica* v.d Busch 1844) keberadaanya di sungai dan tambak jumlahnya cukup melimpah serta hampir dapat di temukan sepanjang tahun. Melimpahnya keong ini perlu di dimanfaatkan terutama telah dipergunakan untuk pakan itik dan sebagian kecil dikonsumsi manusia.

Keong Tutut (*Filopaludina javanica* v.d Busch 1844) merupakan salah satu jenis biota yang memiliki sifat sebagai organisme "filter feeder" atau organisme yang cara mendapatkan makanannya dengan cara menyaring air disekitar tempat hidupnya untuk mendapatkkan makanan. Kebiasaan cara makan seperti ini diduga menyebabkan keong mengakumulasi Pb tersebut didalam tubuhnya sehingga dari kemampuan tersebut berakibat negatif apabila keong tersebut dimanfaatkan untuk pakan itik bahkan di konsumsi manusia (Nurtoni,1984). Keong Tutut (*Filopaludina javanica* v.d Busch 1844) yang hidup

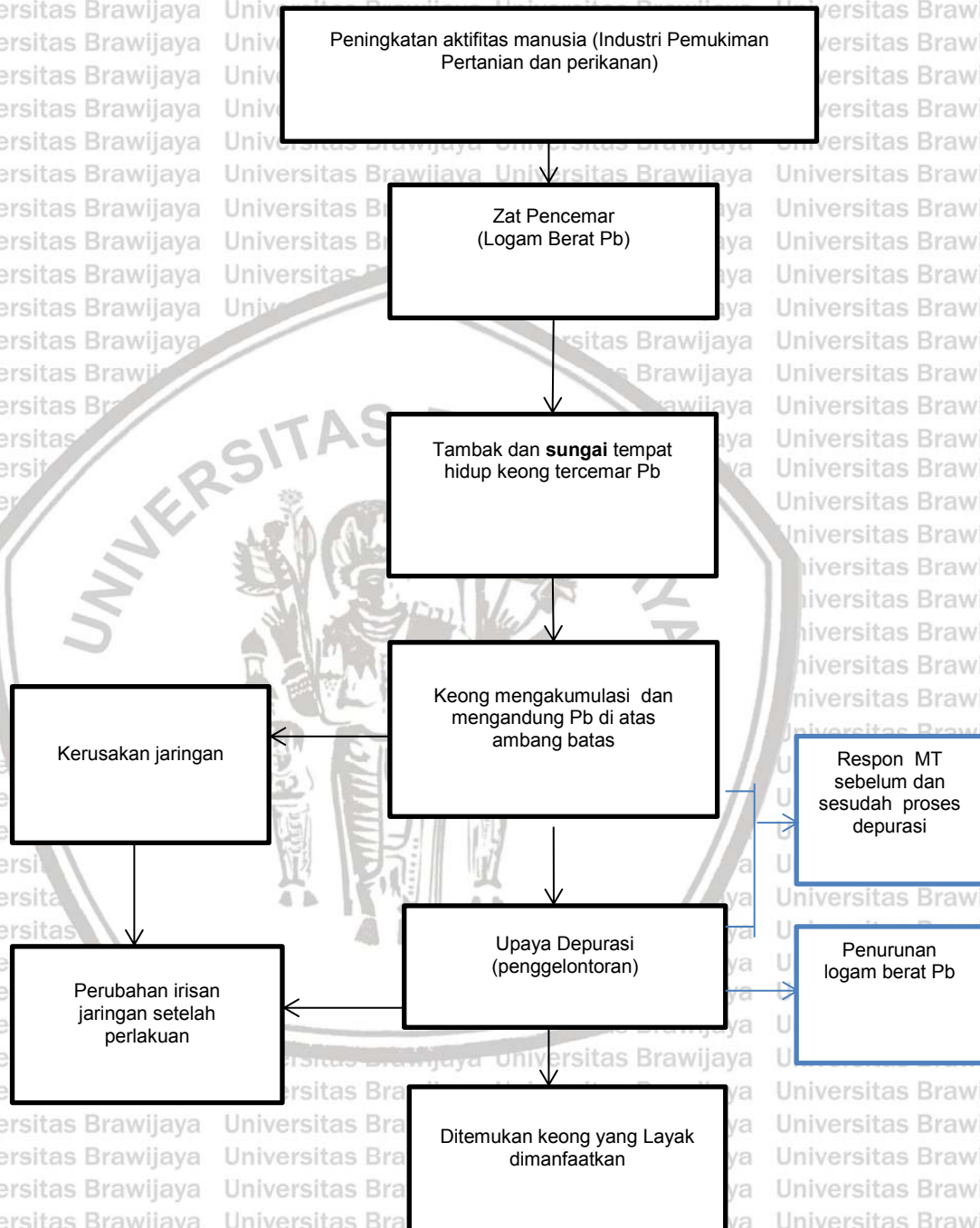
pada dasar perairan tanah tambak yang mengandung Pb diduga mengakumulasi logam tersebut namun, keberadaannya masih dapat dimanfaatkan secara maksimal dengan cara mengurangi kandungan kadar Pb pada keong tersebut dengan cara depurasi. Depurasi merupakan metode yang digunakan untuk mengurangi bakteri dan logam pencemar pada daging kerang dengan proses pencucian dengan sendirinya dengan media air steril (Peranginangin *et al.*, 1984).

Menurut Prihatini dan mulayati (2013), sesungguhnya proses depurasi dengan cara perendaman atau penggelontoran memiliki perang yang baik untuk melakukan proses perbaikan jaringan organ tertentu dalam kerang – kerangan, ini bisa di lihat dari Struktur histologis insang pada kerang yang diberi perlakuan menunjukkan kondisi lebih baik, sedangkan kerang yang tidak diozonasi mengalami kerusakan berupa hiperplasia dan nekrosis Meskipun hasil yang diperoleh belum signifikan. Oleh karena itu menjadi sangat penting untuk melihat stuktur jaringan pada keong tutut yang terdeteksi logam berat dari perairan yang tercemar dan keong tutut yang telah mendapat perlakuan depurasi dengan cara penggelontoran. Hal ini dilakukan agar dapat diketahui bagaimana perubahan kerusakan jaringan keong yang tercemar dengan keong yang telah mendapatkan perlakuan dengan cara Penggelontoran.

Menurut Knapen *et al.*, (2007), Metallothionein merupakan salah satu penanda biologis/biomarker yang mampu mendeteksi keberadaan logam berat tertentu pada organisme perairan yang terpapar logam berat. Sehingga diduga penurunan logam berat Pb pada proses depurasi dapat diamati melalui respon MT karena metallothionein dapat menunjukkan adanya pajanan logam tertentu.

(Larsson, Grahn, Landner dan Lindesjö 2000, Hanson 2008). Berdasarkan pemaparan diatas maka perlu dilakukan penelitian tentang respon protein Metallothionein pada Keong Tutut (*Filopaludina javanica* V.D Busch 1844)

terhadap penurunan Kadar Pb dengan cara penggelontoran. Agar lebih jelas tentang gambaran kerangka konsep dapat dilihat pada gambar 10.



Gambar 10. Kerangka Konsep Penelitian

3.2 Hipotesis

1. Penggelontoran berpengaruh terhadap penurunan kadar Pb pada Keong.
2. Adanya respon metallothionein pada keong tutut terhadap penurunan kadar Pb dengan cara penggelontoran.
3. Adanya perubahan kerusakan jaringan sebelum dan sesudah perlakuan penurunan kadar Pb pada keong Tutut dengan cara penggelontoran.

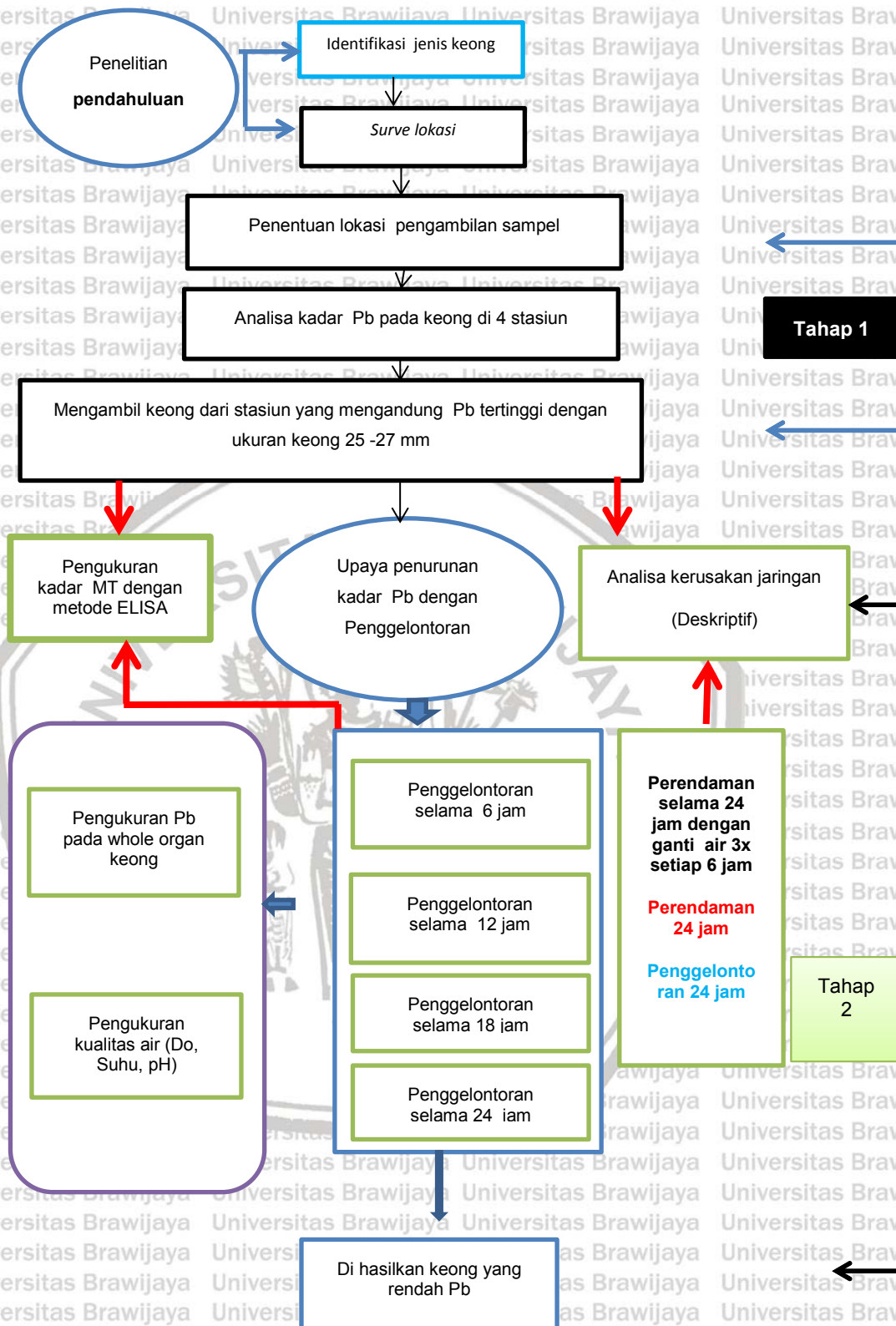
3.3. Kerangka Operasional Penelitian

Penelitian ini dimulai dengan mengambil dan menganalisa keong untuk diketahui klasifikasinya. Proses identifikasi dilakukan dengan mengirim sampel ke Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (Bidang Zoologi Jl. Raya Jakarta-Bogor KM-46 Cibiniong, Bogor, Jawa Barat). Penelitian selanjutnya dilakukan survei lokasi untuk menentukan titik-titik pengamatan pada daerah penelitian atau lokasi keberadaan keong tutut dengan pertimbangan tertentu seperti kepadatan, pencemaran dan pemanfaatannya. Keong Tutut (*Filopaludina javanika* v.d Busch 1844), diambil dari 4 stasiun yang berbeda kemudian dibawa ke Laboratorium Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya agar diketahui nilai kandungan Pb.

Penelitian tahap kedua mengambil Keong Tutut di stasiun yang mengandung kadar Pb tertinggi untuk dilakukan penelitian secara eksperimental dengan maksud menurunkan kadar Pb pada Keong Tutut sehingga layak dimanfaatkan. Upaya penurunan kadar Pb pada Keong Tutut (*Filopaludina javanika* v.d Busch 1844) dilakukan dengan cara penggelontoran 4 perlakuan dan 1 kontrol. Perlakuan pertama penggelontoran selama 6 jam, Perlakuan kedua penggelontoran 12 jam, Perlakuan ketiga penggelontoran selama 18 jam dan Perlakuan Ketiga 24 jam.

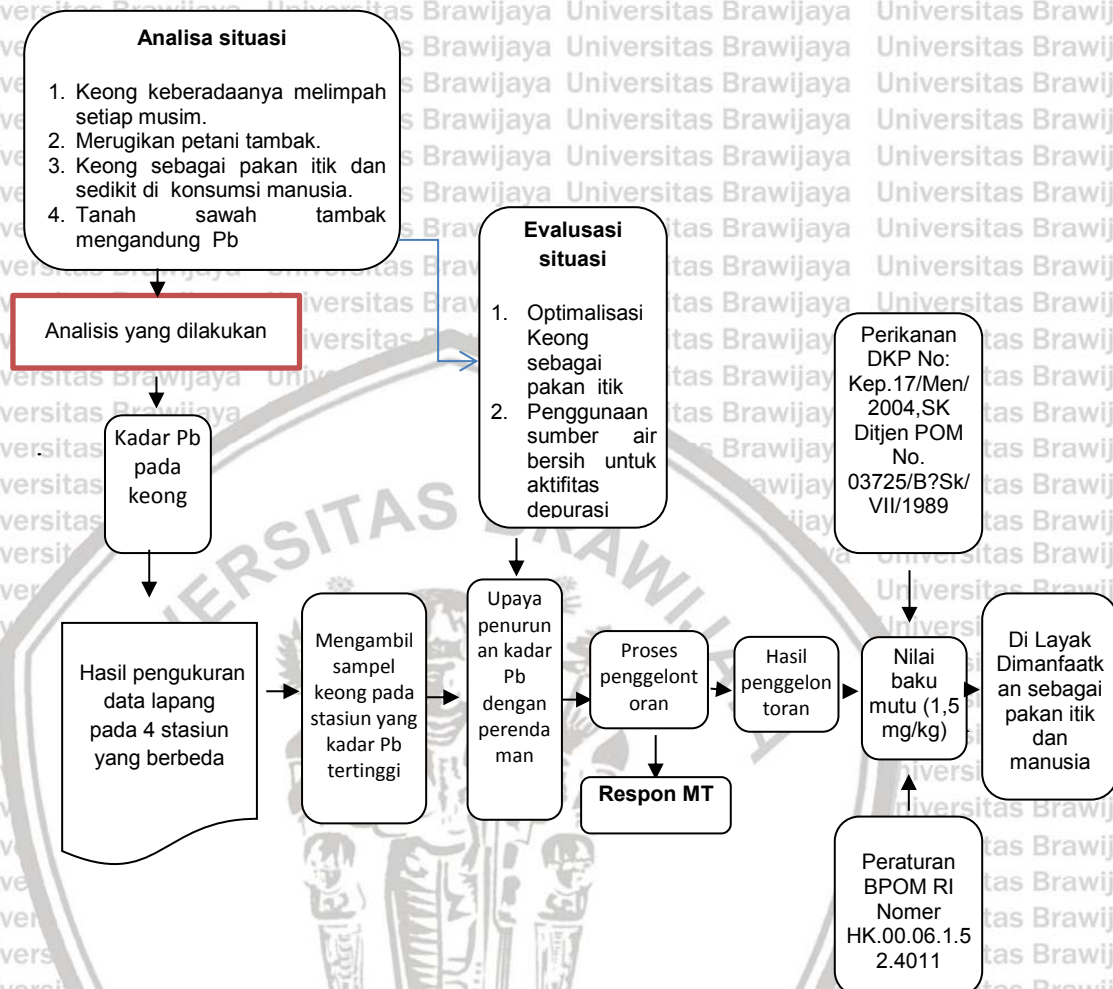
Eksperimental pada perlakuan diharapkan mendapatkan keong yang rendah kadar Pb yang memenuhi baku mutu Badan Standarisasi Nasional dan mendapatkan respon kadar MT pada saat proses penurunan logam berat dengan cara penggelontoran. Pengamatan dalam eksperimen ini meliputi pengamatan kualitas air, pengamatan Pb pada keong, pengamatan Pb pada air sisa hasil penggelontoran, pengamatan Kadar Metallothionein sebelum dan sesudah perlakuan. Sedangkan pada pengamatan histologi penelitian ini menggunakan metode deskriptif untuk membandingkan kerusakan jaringan sebelum dan sesudah perlakuan (perendaman 24 dengan 3x ganti air setiap 6 jam, perlakuan perendaman 24 jam dan perlakuan penggelontoran selama 24 jam) Agar lebih jelas dapat dilihat pada kerangka operasional penelitian pada gambar 11.





Gambar 11. Kerangka Operasional Penelitian

3.4 Kerangka Analisis Upaya Penurunan kadar Pb pada Keong Tutut (*Filopaludina javanica* v.d Busch 1844) dengan cara Penggelontoran



Gambar 12. Kerangka Analisis Upaya Penurunan kadar Pb pada Keong Tutut (*Filopaludina javanica* v.d Busch 1844) dengan cara penggelontoran.

Proses analisis pada penelitian ini meliputi analisis memahami situasi lingkungan dengan menggali informasi secara keseluruhan terhadap fakta-fakta yang ada sehingga diketahui permasalahan yang terjadi kemudian dilanjutkan memutuskan tindakan apa yang akan segera dilakukan untuk memecahkan masalah tersebut. Menurut Boulton (1984) dalam Rangkuti (2001), proses melaksanakan analisis suatu kasus dapat diketahui sebagai berikut :

1. Memahami situasi dan informasi yang ada
2. Memahami permasalahan yang terjadi. Baik masalah yang bersifat umum maupun spesifik
3. Menciptakan berbagai alternative dan memberikan alternatif pemecahan masalah
4. Evaluasi pilihan alternative dan pilihan alternative yang terbaik.

Hasil Informasi yang didapatkan dari permasalahan yang ada perlu dilakukan analisis lanjutan. Hal ini dilakukan untuk memastikan keberadaan masalah tersebut untuk dicarikan solusinya. Pertama memastikan keberadaan logam berat Pb yang terdapat dalam "Whole organ" Keong. Kedua mencari lokasi yang memiliki kadar Pb tertinggi dari beberapa stasiun pada kecamatan Glagah kabupaten Lamongan. Ketiga memutuskan langkah yang harus diambil agar keberadaan keong tersebut dapat optimalkan penggunaannya sebagai pakan itik bahkan bisa aman dikonsumsi manusia dan Keempat upaya menurunkan logam berat pada "Whole Organ" Keong dengan cara penggelontoran.

3.5 Kebaruan Penelitian

Penelitian ini berjudul Respon protein metallothionein pada keong tutut (*Filopaludina javanica* v.d Busch 1844) terhadap penurunan kadar Pb dengan cara penggelontoran pada sungai dan tambak di kecamatan Glagah Kabupaten Lamongan. Penelitian tentang Respon protein metallothionein pada keong tutut (*Filopaludina javanica* v.d Busch 1844) terhadap penurunan kadar Pb dengan cara penggelontoran merupakan pengembangan dari penelitian yang dilakukan oleh Purbalisa dan Mulyadi pada tahun 2009 yang berjudul "Pb Dan Cu Pada Badan Air Dan Tanah Sawah Sub-Das Solo Hilir Kabupaten Lamongan.

Parameter uji pada penelitian tersebut meliputi Kadar Pb pada Air, Pb Pada

tanah Sawah dan Kualitas air (pH, DHL, BOD dan COD), sedangkan dalam penelitian tentang Respon protein metallothionein pada keong tutut (*Filopaludina javanica* v.d Busch 1844) terhadap penurunan kadar Pb dengan cara penggelontoran menggunakan parameter uji Kadar Pb pada organisme hidup (keong tutut) yang hidup dari sungai dan tambak di Kecamatan Glagah Kabupaten Lamongan.

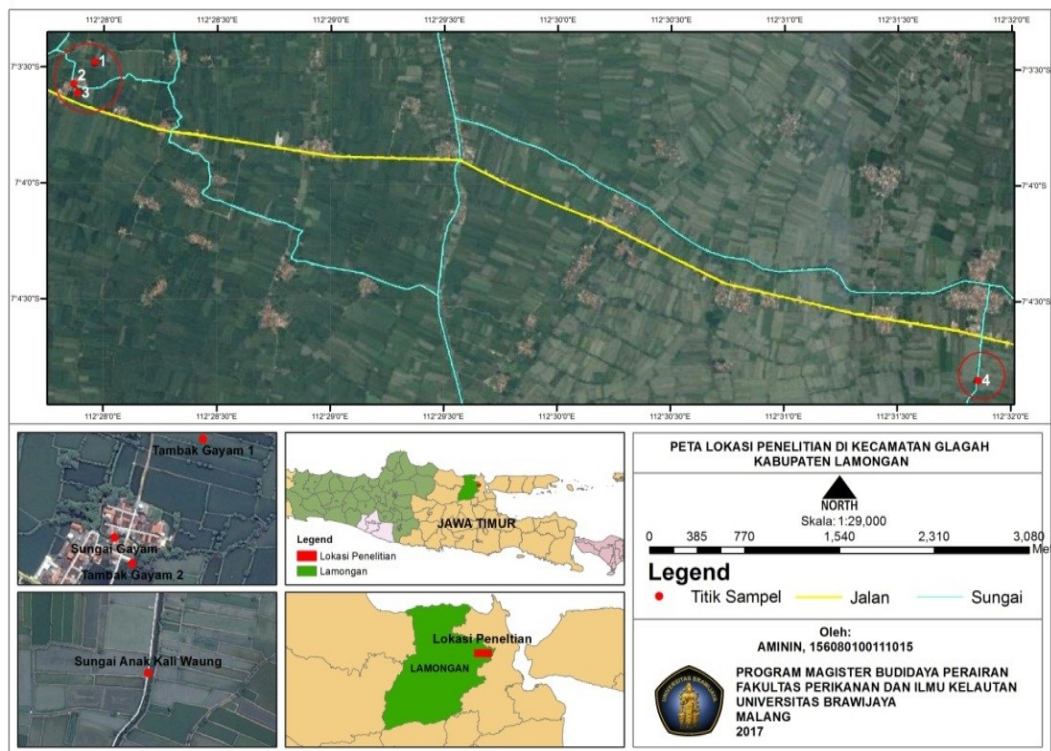
Kebaruan dalam Penelitian ini ada tiga hal diantaranya adalah didapatkannya informasi tentang kadar Pb pada keong pada Kecamatan Glagah, sedangkan yang kedua dihasilkan keong yang rendah Pb setelah aktifitas penggelontoran. Pada sisi yang lain penelitian ini juga melakukan pengamatan kadar Metallothionein pada "Whole organ" Keong. Jadi penelitian ini sangat bermanfaat untuk memberikan informasi tentang kadar Pb pada keong dan bagaimana cara menurunkan kadar Pb pada keong serta bagaimana respon Metallothionein terhadap penurunan kadar Pb pada Keong dengan cara penggelontoran.



IV. METODE PENELITIAN

4.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Keong Tutut (*Filopaludina javanica* v.d Busch 1844) diambil dari Tambak dan Sungai pada Kecamatan Glagah Kabupaten Lamongan. Kegiatan penggelontoran dan pengamatan parameter kualitas air dilaksanakan di Laboratorium lapang di Dusun Gayam, Desa Soko, Kecamatan Glagah Kabupaten Lamongan. Peta lokasi dapat dilihat pada (Gambar 10). Pengujian logam berat Pb di Laboratorium Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya, analisa kadar Metallothionein (MT) di Laboratorium Fisiologi (FAAL) Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan pengamatan Histologi pada "Whole organ" Keong di analisa di Laboratorium Anatomi-Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya. Adapun waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Juli – Agustus 2017.



Gambar 13. Denah pengambilan sampel 4 stasiun. Angka 1 (Tambak Gayam 1), Angka 2 (Sungai Gayam), Angka 3 (Tambak Gayam 2) angka 4 (Anak sungai Waung)

4.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode Eksperimen yang bertujuan untuk menyelidiki kemungkinan sebab akibat dengan cara mengenakan kepada suatu atau lebih kondisi perlakuan dan membandingkan hasilnya dengan sesuatu yang telah distandarkan (Suryana, 2010). Bentuk dari penelitian eksperimental adalah melakukan proses depurasi Keong Tutut dengan cara penggelontoran selama 6, 12, 18 dan 24 jam dengan menggunakan air tawar yang bebas dari kandungan logam berat dengan tujuan menurunkan kadar Pb pada Keong Tutut.

4.3 Alat dan Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah Keong Tutut yang diambil dari sungai atau tambak dalam kondisi hidup. Alat dan bahan yang digunakan untuk melakukan pengamatan dan pengukuran adalah sebagai berikut :

Tabel 3. Alat dan Bahan

No	Parameter	Alat/Bahan/Metode	Keterangan
1.	DO (mg/l)	DO Meter, aquades	<i>Insitu</i>
2.	pH	pH Meter	<i>Insitu</i>
3.	Suhu	Termometer Digital	<i>Insitu</i>
4.	Logam Timbal (ppm)	Botol sampel, HNO ₃ , Spektrofotometer, Water Sampler	Laboratorium
5.	Sedimen	Grap sampel	Laboratorium
6.	Metallothionein	- Battle" tipis, Botol film, Sectio set - Toples plastic, Jangka sorong, PBS (<i>Phospate Buffer saline</i>), Es Batu - Mortar (Sukrosa 0,5 M, Tris-HCl buffer 20 Mm, pH 8,6 mengandung 0,01% β-mercaptoethanol, Aliquot 3 ml)	Laboratorium

Lanjutan

No	Parameter	Alat/Bahan/Metode	Keterangan
6	Metallothionein	• Sentrifus (Supernatan, Formalin) • Pengerin, (Penyangga) (87:1:12) Tris-HCl 5 mM, EDTA 1 mM, pH 7)	Laboratorium
7	Histologi	• Obyek glass, Mikrotome, mikroskop	Laboratorium

4.4. Prosedur Penelitian

4.4.1 Penelitian Pendahuluan

Pelaksanaan penelitian ini diawali dengan mengambil sampel keong dari sungai dan tambak di kecamatan Glagah, Kabupaten Lamongan. Keong tutut kemudian diidentifikasi jenis dengan mengirim sampel ke Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (Bidang Zoologi Jl. Raya Jakarta- Bogor KM-46 Cibinong, Bogor).

4.4.2 Penelitian Tahap 1

Pengambilan sampel, hasil survey ditentukan sebanyak 4 stasiun yang dipilih atas dasar keberadaan dan aktifitas penangkapan keong di Sungai dan Tambak dengan menggunakan metode sampling purposive yaitu teknik penentuan sampel dengan pertimbangan tertentu (Sugiyono, 2007). Penentuan stasiun pada penelitian ini dapat dilihat sebagai berikut :

Stasiun 1. Tambak Gayam 1 merupakan tambak yang ada aktifitas penangkapan dan pemanfaatan keong. Keberadaannya dekat dengan pemukiman penduduk. Air limbah rumah tangga biasa dimanfaatkan sebagai media budidaya.

- Stasiun 2. Sungai Gayam merupakan Sungai yang memiliki kepadatan keong yang cukup melimpah sebesar 10 – 100 individu/m² sehingga dimanfaatkan warga sebagai pakan itik. Sungai tersebut keberadaannya 4 – 20 meter dari pemukiman penduduk dan pada musim kemarau menampung buangan limbah rumah tangga.
- Stasiun 3. Tambak Gayam 2 merupakan Tambak terdapat aktifitas penangkapan dan pemanfaatan keong yang keberadaannya hanya 5 meter dari pemukiman penduduk.
- Stasiun 4. Anak Sungai Waung atau sering disebut (Kali Tengah) adalah sungai yang terdapat aktifitas penangkapan dan pemanfaatan keong yang keberadaannya 2 – 4 meter dari tempat pembuangan sampah, terdapat pasar dan serta dekat dengan pemukiman penduduk.

Parameter yang diamati pada tahap pertama adalah analisa kadar Pb pada Keong Tutut. Keong Tutut (*Filopaludina javanika* v.d Busch 1844) diambil 25 ekor dengan ukuran panjang cangkang 25 – 27 mm di sesuaikan dengan kebutuhan kebiasaan makan makanan yang diberikan pada itik yang dipelihara. Pengambilan sampel sebanyak 25 individu/m² pada tiap stasiun berdasarkan kelimpahan rata-rata keong pada Sungai dan Tambak. Pengamatan dan pengukuran Keong Tutut (*Filopaludina javanika* v.d Busch 1844) dilakukan di Laboratorium Lapang, di Dusun Gayam, Desa Soko, Kecamatan Glagah, Kabupaten Lamongan.

4.4.3 Penelitian Tahap II

Keong sebanyak 144 ekor dengan ukuran 25 – 27 mm diambil dari sungai atau tambak pada stasiun yang telah ditentukan. Lokasi pengambilan sampel keong dipastikan mengandung kadar Pb diatas ambang batas yang telah ditentukan baku mutu BSN (1,5 mg/kg), DKP (1,5 mg/kg), *Food Spesified in*

Regulation no 466/2001/EC (0,1 ppm) dan Depkes (2 mg/kg). Keong di ambil dalam kondisi segar tidak loyo dan aktif untuk diberi perlakuan penggelontoran.

Penggelontoran dilaksanakan di laboratorium lapang di kecamatan Glagah, agar sesuai dengan habitat aslinya.

Upaya penurunan logam berat pada keong menggunakan air yang bebas dari kandungan logam berat. Menurut DKP (2008), bahwa untuk memebersihkan organisme dari bahan-bahan pencemar yang beracun dapat dilakukan cara sederhana yaitu dengan mengalirkan air atau merendam organisme tersebut

kedalam air bersih. Pada penelitian upaya penurunan logam berat pada "Whole organ" keong dengan metode penggelontoran menggunakan air sumur Bor dengan kedalaman rata – rata 50 – 70 meter.

Bak percobaan yang digunakan adalah bak yang terbuat dari plastik berbentuk lingkaran dengan diameter 38 cm dan tinggi 30 cm. Bak sebanyak 12 dipersiapkan dan diisi air dengan ketinggian 20 cm. Sebelum digunakan bak – bak percobaan dibersihkan terlebih dahulu dengan sabun, kemudian dibilas sampai bersih sehingga bau sabun hilang kemudian dikeringkan selama 1 hari.

Bak yang telah siap diisi dengan air sumur yang telah tersedia.

Penelitian disusun menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap) yang terdiri dari 4 perlakuan 3 kali pengulangan, sedangkan kontrol digunakan Keong tanpa di gelontor. Adapun perlakuan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

Perlakuan A : 12 ekor Keong Tutut dengan ukuran cangkang sedang $\pm 25 - 27$ mm direndam dalam bak dengan air sumur tawar pada ketinggian 20 cm dialiri air selama 6 jam.

Perlakuan B : 12 ekor Keong Tutut dengan ukuran cangkang sedang $\pm 25 - 27$ mm direndam dengan tinggi 20 cm dialiri air selama 12 jam.

Perlakuan C : 12 ekor Keong Tutut dengan ukuran cangkang sedang $\pm 25 - 27$ mm direndam dengan tinggi 20 cm dialiri air selama 18 jam.

Perlakuan D : 12 ekor Keong Tutut dengan ukuran cangkang sedang $\pm 25 - 27$ mm direndam dengan tinggi 20 cm dialiri air selama 24 jam.

Keong tutut yang digunakan dalam proses penelitian eksperimental berjumlah 12 ekor/Bak dengan ketinggian air 20 cm ditetapkan dan digunakan dalam perlakuan berdasarkan jumlah rata – rata kelimpahan keong di perairan kecamatan glagah baik di sungai dan tambak yang berjumlah 10 – 100 Individu /m². Upaya penurunan logam berat pada Keong Tutut dengan cara penggelontoran merupakan modifikasi dari penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Nuriyani (2016), bahwa upaya penurunan logam berat pada kerang-kerangan dapat dilakukan dengan perendaman.

Hasil penelitian Nuriyani (2016), tentang perendaman tiram tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap penurunan logam berat Hg, Pb dan Cd karena tidak ada pergantian air selama perendaman. Maka penelitian ini dilakukan yaitu dengan mengaliri air selama 6,12,18 dan 24 jam. Proses pengaliran air dilakukan dengan Kecepatan 0,43 m/detik menyesuaikan dengan habitat aslinya. Penggelontoran tersebut diperkuat lagi oleh Ahmad (2012), yang memberikan aliran air pada kijing air tawar (*Anodonta woodina*) dengan kecepatan air 0,43 m/detik selama 3 minggu, ternyata kadar Pb pada cangkang berkurang dari 1,19 ppm menjadi 0,45 ppm atau turun sebesar 62,18%.

4.4.4 Teknik Pengambilan Sampel Air dan Keong

1. Teknik Pengambilan Sampel Air

Sampel air diambil dengan menggunakan Gayung yang terbuat dari plastik dan dimasukkan kedalam botol aqua sebanyak 500 ml. Sampel air yang terdapat dalam botol aqua diberikan asam nitrat (HNO₃) sebanyak 1 ml atau 65% kedalam 500 ml air sampel sehingga pH mencapai 1,5. Masukkan sampel kedalam *cool box*.

2. Teknik Pengambilan Sampel Keong

Menurut Marwoto *et al.*, (2011), Pengambilan sampel Keong Tutut (*Filopaludina javanica* v.d Busch 1844) dapat menggunakan tangan dengan bantuan alat berupa serokan atau ayakan yang terbuat dari bambu. Pengambilan dilakukan pada dasar perairan atau pada kayu yang menancap disekitar sungai dan kolam kemudian keong tutut dimasukkan kedalam botol dan di pertahankan dalam kondisi hidup. Pada tahap penelitian pertama keong diambil dari 4 stasiun yang berbeda sebanyak 25 ekor/stasiun untuk dianalisa kandungan Pb nya.

Pada penelitian tahap yang kedua Keong Tutut (*Filopaludina javanica* v.d Busch 1844) diambil dari stasiun yang mengandung kadar Pb tertinggi sebanyak 144 ekor diberi perlakuan penggelontoran. Keong yang diambil sebagai sampel eksperimen berukuran 25 – 27 mm dengan berat total rata-rata 3-4 gram/ekor.

4.4.5 Pengukuran Kandungan Logam Berat Pb Pada Air, Dan Keong

1. Analisis Pb Pada Sampel Air

Analisis Pb pada sampel air dapat dilakukan dengan metode *Atomic Absorption Spectrophotometer* (AAS) berdasarkan acuan Greenberg *et al.* (1985) dengan cara sebagai berikut :

- Sampel air tawar yang diambil dari lokasi penelitian dikocok, kemudian diambil sebanyak 25 ml dengan menggunakan pipet tetes.
- Memasukkan air sampel kedalam beaker gelas 100 ml kemudian ditambahkan 5 ml HNO₃ pekat.
- Memanaskan dengan Hot Plate dalam lemari asam dan menambahkan aquades sampai volume menjadi 100 ml, kemudian endapkan.
- Mensaring larutan dengan kertas saring ukuran 0,45 µm untuk memisahkan zat padat terlarut dan zat padat tersuspensi kedalam labu ukur 50 ml.
- Larutan yang diperoleh siap untuk dianalisis dengan menggunakan Grafis-

2. Analisis Pb Pada Keong Tutut

Sampel keong dibersihkan terlebih dahulu dengan membersihkan lumpur dan organisme yang menempel pada keong kemudian mengambil "Whole organ"

sebanyak 5 gram dan langsung dikeringkan dalam oven 105 °C selama 12 jam.

Pada tahap berikutnya sampel dihaluskan sampai menjadi serbuk kemudian ditimbang sebanyak 5 grm. Selanjutnya sampel dimasukkan ke dalam *Furnance*

Oven dengan suhu 450 °C sampai kering dan berwarna putih (abu). Analisa Pb pada Keong Tutut menggunakan metode *Atomic Absorption Spectrophotometer*

(AAS) dengan prosedur sebagai berikut :

1. Memasukkan Abu sebanyak 2 gram yang berwarna putih (abu) ke dalam beaker gelas.
2. Menambahkan 10 ml HNO₃ pada beker gelas yang terisi sampel dan lengkapi dengan magnet pengaduk.
3. Mepanaskan dalam *Hot Plate* di dalam kamar asam, sampai semua larut.
4. Memindahkan sampel kedalam labu takar ukuran 25 ml kemudian diencerkan dengan aquades sampai tanda batas.
5. Mengukur filtrate dengan Metode AAS.

4.5. Prosedur Pengukuran Kadar Metallothionein

Menurut Linde and Vazquez (2006), tahapan yang dilakukan untuk menentukan kadar metallothionein secara kuantitatif adalah sebagai berikut :

1. Tahap Pengambilan Sampel

- Sampel keong dibuka bagian cangkang dan diambil bagian seluruh badan keong menggunakan penjepit atau *sectio set*.
- Memasukan sampel ke dalam kantong plastik dengan diberi es batu (maksimum 4 jam untuk proses homogenasi).

- Memasukkan sampel pada suhu -20°C apabila sampel akan dihomogenasikan lebih dari 4 jam.

2. Tahap Homogenasi

- Menggerus jaringan yang sudah didinginkan dalam mortar dan menambahkan 3 ml buffer homogenisasi (0,5 M sukrosa, 20 mM Tris-HCL buffer, pH 8,6, mengandung 0,01 % β -mercaptoethanol) dalam plastik atau tabung kaca.

- Menghomogenasi jaringan dengan menggunakan homogenizer jaringan.
- Menambahkan Aliquot (larutan induk) (3 ml) ke dalam homogenate.
- Sebagai kontrol, jumlah yang diketahui dari standar metallothionein untuk mengkalibrasi hasil sampel yang diperoleh. Aliquot dapat disimpan pada suhu -20°C .

3. Tahap Ekstraksi

- Mensentrifugasi homogenate pada 30.000 g atau 10351 rpm selama 20 menit untuk mendapatkan supernatant yang mengandung metallothionein.
- Menambahkan 1,05 ml etanol absolute dingin (-20°C) dan 80 ml kloroform per 1 ml supernatan yang dihasilkan.
- Mensentrifugasi sampel dingin (pada $0-4^{\circ}\text{C}$) pada 6000 g atau 4269 rpm selama 10 menit.
- Menambahkan 3 ml etanol dingin pada supernatant yang dihasilkan dan disimpan pada suhu -20°C selama 1 jam.

- Langkah analisis bisa berhenti saat ini.

4. Tahap Pemurnian dan Kuantifikasi Metallothionein

- Mensentrifugasi supernatant pada 6000 g atau 4269 rpm selama 10 menit.

- Mencuci pelet yang dihasilkan dengan (87 ml) etanol : (1 ml) kloroform : (12 ml) homogenisasi penyangga.
 - Mensentrifugasi lagi pada 6000 g atau 4269 rpm selama 10 menit.
 - Mengeringkan di bawah aliran gas nitrogen untuk menyelesaikan penguapan.
 - Meresuspended pelet kering dalam 300 ml dari 5 mM Tris-HCL, 1 mM EDTA, pH 7.
 - Mensuspensikan fraksi metallothionein menjadi 4,2 ml 0,43 mM 5,5 dithiobis (asam nitrobenzoic) dalam buffer fosfat 0,2 M, pH 8.
 - Mendiamkan selama 30 menit pada suhu kamar untuk mengurangi konsentrasi sulfhidril.
5. Tahap Estimasi Kadar Metallothionein dengan Metode ELISA
- Tahap estimasi kadar metallothionein dengan metode ELISA menurut Suwarno *et al.*, (2010) adalah sebagai berikut:
- Menambahkan larutan standart 50 µl pada lubang - lubang microtiter standart dengan baik.
 - Menambahkan sampel 40 µl pada lubang - lubang microtiter sampel dan menambahkan 10 µl antibody Anti fish MT pada lubang - lubang microtiter sampel, lalu menambahkan 50 µl streptavidin-HRP ke lubang - lubang microtiter sampel dan lubang - lubang microtiter standart. menutupi *plate* dengan sealer kemudian mengkocok dengan lembut untuk mencampurnya dan inkubasi 60 menit pada 37°C.
 - Mencuci dengan PBS Tween 0,2 % sebanyak 200 µl dan diulang 5 kali.
 - Menambahkan 50 µl Substrat solution A pada masing-masing lubang - lubang microtiter substrat kemudian menambahkan 50 µl substrat solution B ke masing - masing lubang - lubang microtiter. Selanjutnya dinkubasi

10 menit pada ruang gelap. Jika terjadi reaksi antara antigen dengan antibody maka akan berubah menjadi biru

- Menambahkan 50 μ l *stop solution* ke masing-masing lubang - lubang microtiter substrat. Pada tahap ini larutan warna biru berubah menjadi kuning
- Membaca dengan ELISA reader dengan panjang gelombang 450 nm. Hasil absorbansi dikonversi dengan kurva standart dan diketahui nilai MT.

4.6 Histopatologi “Whole organ” Keong Air Tawar (*Filopaludina javanica*)

Prosedur yang dilakukan dalam pembuatan irisan jaringan “Whole organ” keong untuk preparat histologi menurut Laboratorium Patologi dan Anatomi (2020), adalah sebagai berikut:

a. Proses Pemotongan Jaringan Berupa Makross

1. Mengambil seluruh organ Keong dan mengawetkannya dengan menggunakan formalin 10%.
2. Memotong jaringan pada “Whole organ” keong dengan ketebalan 2-3 milimeter.
3. Memasukkan ke dalam kaset dan memberikan label
4. Mencuci dengan air mengalir sebelum diproses/memasukkan ke dalam alat Tissue Tex Prosesor.
5. Menggunakan alat Automatic Tissue Tex Prosesor (automatic processing) untuk memotong jaringan.

b. Proses Pengeblokan dan Pemotongan Jaringan

1. Mengangkat jaringan dari mesin Tissue Tex Prosesor.
2. Memblok jaringan dengan parafin sesuai kode jaringan.
3. Memotong jaringan dengan alat Microtome dengan ketebalan 3-5 mikron.
4. Menempelkan potongan sampel pada obyek glass

c. Proses Deparafinasi.

1. Memasukkan hasil potongan jaringan ke dalam Oven selama 30 menit dengan suhu 70-80 °C.
2. Merendam preparat dalam larutan xylol 1 selama 15 menit dan larutan xylol 2 selama 5 menit
3. Merehidrasi preparat dengan alcohol dari tinggi ke rendah selama 3 menit (100%, 96%, 80%, 70% ,50% dan 30%) kemudian cuci dengan air mengalir selama 15 menit.

d. Proses pewarnaan HE (Auto Staining)

1. Merendam dengan pewarna utama Hematoksilin selama 10-15 menit.
2. Mencuci dengan air mengalir selama 15 menit.
3. Mencelupkan ke dalam alkohol 1% sebanyak 2-5 celupan.
4. Mencelupkan ke dalam ammonia cair sebanyak 3-5 celupan.
5. Merendam dengan pewarna pembanding Eosin 1% selama 10-15 menit.
6. Mendehidrasi dengan alkohol 70%, 80%, 96%, dan Absolut masing-masing selama 3 menit.
7. Menjernihkan (clearing) dengan Xylol selama 2 x 60 menit.
8. Memounting dengan cara meneteskan bahan mounting (DPX, entelan dan Canada balsam) sesuai kebutuhan dan ditutup dengan *coverglass*, mencegah supaya jangan sampai terbentuk gelembung udara.

4.7 Metode Pengumpulan Data

Ada dua jenis data yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain:

1. Data Primer

Data Primer adalah data dalam bentuk verbal atau kata - kata yang diucapkan secara lisan, gerak -gerik atau perilaku yang dilakukan oleh subjek yang dapat dipercaya, yakni subjek penelitian atau informan yang

berkenaan dengan variabel yang diteliti atau data yang diperoleh dari responden secara langsung (Arikunto, 2010). Dalam penelitian ini data primer yang digunakan berupa pengukuran Kadar Pb, Kadar Metallothionein (MT), kerusakan jaringan pada "Whole organ" Keong serta kualitas air yang meliputi pH, DO, dan Suhu.

2. Data sekunder

Data sekunder adalah data tambahan yang didapatkan oleh peneliti melalui literature maupun informasi yang didapatkan dari daerah setempat seperti kelompok petani tambak, kantor kelurahan, kantor kecamatan. Artinya teknik pengumpulan datanya dapat menunjang data primer (Arikunto, 2010).

4.8 Analisis Data

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Kemudian data pengaruh penggelontoran terhadap penurunan Pb dan respon MT diuji menggunakan analisis One Way Anova untuk mengetahui apakah perlakuan memiliki pengaruh beda nyata atau tidak. Jika berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil). Pengujian tersebut dilakukan untuk mengetahui perbedaan yang terjadi antar perlakuan. Semua analisis statistik dikerjakan dengan menggunakan Software program SPSS 16.0 (*Statistical Product and Service Solution*) dan Microsoft Excel 2010. Data Kadar Pb dan Respon MT dianalisa menggunakan grafik batang untuk mengetahui perbedaan sebelum dan sesudah perlakuan penggelontoran.

V. HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Keadaan Umum Lokasi Penelitian

Kabupaten Dati II Lamongan merupakan salah satu dari 29 kabupaten di samping 9 kotamadya di propinsi Daerah Tingkat I Jawa Timur. Secara Geografis

Kabupaten Lamongan terletak antara $6^{\circ} 31' 6''$ sampai dengan $7^{\circ} 23' 6''$ LS dan terletak antara $119^{\circ} 4' 4''$ sampai dengan $119^{\circ} 33' 12''$ BT. Kabupaten

Lamongan memiliki luas 1.812,80 km atau setara dengan 181.280 Ha yang terbagi menjadi 27 kecamatan dengan jumlah desa/kelurahan adalah sebanyak 474 desa/kelurahan (462 desa dan 12 kelurahan). Jumlah dusun sebanyak 1.486 dusun dan Rukun Tetangga (RT) sebanyak 6.843 RT.

Secara administratif Kabupaten Lamongan memiliki batas sebelah timur adalah Kabupaten Gresik, sebelah Barat adalah Kabupaten Bojonegoro dan Tuban, sebelah Selatan adalah Kabupaten Jombang dan Mojokerto, sebelah utara adalah Laut Jawa (BPS Kabupaten Lamongan, 2007). Kecamatan Glagah adalah sebuah Kecamatan di Kabupaten Lamongan, yang posisinya paling timur dan berbatasan dengan kabupaten gresik. Sebagian besar mata pencaharian penduduk di Kecamatan ini adalah sebagai petani tambak.

Menurut (Badan Pusat Statistik Kabupaten Lamongan, 2007) Kecamatan Glagah termasuk daerah dataran rendah yang berada pada ketinggian 0 – 25 (Mdpl) yang merupakan wilayah Kabupaten Lamongan bagian Tengah – Utara dan terkenal dengan daratan Bonorowo, mulai dari Kecamatan Sekaran, Maduran, Laren, Karanggeneng, Kalitengah, Turi dan Karang Binangun. Pada musim penghujan hampir setiap tahun mengalami banjir yang merendam sawah tambak dan sebagian kecil perkampungan. Daerah ini adalah sawah tambak artinya dapat ditanami padi dan juga digunakan untuk tambak ikan atau udang secara bergantian. Penelitian ini dilakukan di Sungai dan Tambak dari

Kecamatan Glagah kabupaten Lamongan, dengan 4 titik stasiun berdasarkan aktifitas yang ada sekitarnya :

- Stasiun 1 (Tambak Gayam 1) dengan titik koordinat 7° 03'27.93" LS dan 112° 27' 56.01" BT, merupakan tambak yang ada aktifitas penangkapan dan pemanfaatan keong. Keberadaannya dekat dengan pemukiman penduduk. Air limbah rumah tangga yang biasa dimanfaatkan sebagai media budidaya.

- Stasiun 2 (Sungai Gayam) dengan titik koordinat 7° 03'33.81" LS dan 112° 27' 51.26" BT, merupakan Sungai yang memiliki kepadatan Keong Tutut (*Filopaludina javanika* v.d Busch 1844) yang cukup melimpah sehingga dimanfaatkan warga sebagai pakan itik, ayam dan campuran pakan udang. Sungai tersebut keberadaannya dekat dengan pemukiman penduduk dan pada musim kemarau menampung buangan limbah rumah tangga.

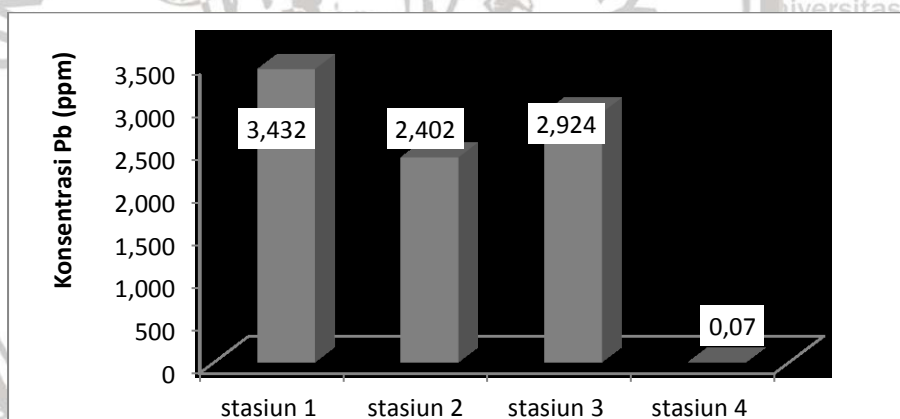
- Stasiun 3. Tambak Gayam 2 dengan titik koordinat 7° 03'35.34" LS dan 112° 27' 52.16" BT, merupakan Tambak terdapat aktifitas penangkapan dan pemanfaatan Keong Tutut (*Filopaludina javanika* v.d Busch 1844) yang keberadaannya hanya 5 meter dari pemukiman penduduk.

- Stasiun 4 (Anak Sungai Waung/ Kali Tengah) dengan titik koordinat 7° 03'35.34" LS dan 112° 27' 52.16" BT, adalah sungai yang terdapat aktifitas penangkapan dan pemanfaatan keong yang keberadaannya dekat tempat pembuangan sampah, terdapat pasar, dekat dengan pemukiman penduduk serta lokasinya berbatasan dengan kabupaten Gresik. Wilayah ini merupakan wilayah Kabupaten Lamongan sebelah timur ini tidak pernah mengalami banjir sehingga kepadatan Keong tutut relatif stabil.

5.2 Kadar Pb Pada “Whole Organ” Keong dari Sungai dan Tambak di Kecamatan Glagah, Kabupaten Lamongan.

Konsentrasi logam berat timbal (Pb) pada “Whole organ” Keong tertinggi berada pada stasiun 1 sebesar 3,432 ppm disusul stasiun 3 sebesar 2,924 ppm kemudian stasiun 2 sebesar 2,402 ppm dan terendah pada stasiun 4 sebesar 0,07 ppm. (Gambar 14). Menurut Keputusan Menteri Kelautan Dan Perikanan (DKP) No : Kep 20/Men/2004, dan Badan Standardisasi Nasional (2009), bahwa batas maksimum cemaran logam berat timbal Pb sebesar 1,5 ppm.

Berdasarkan batas baku mutu tersebut maka Keong Tutut dari stasiun 1, 2, 3 sudah mengandung kadar Pb diatas ambang batas sedangkan stasiun 4 dibawah ambang batas. Adapun hasil pengukuran kadar Pb pada tiap perlakuan dapat dilihat pada Gambar 14.



Gambar 14. Kadar Pb pada “Whole organ” Keong Tutut di Stasiun 1 (Tambak Gayam 1), Stasiun 2 (Sungai Gayam 1), Stasiun 3 (Tambak Gayam 2), Stasiun 4 (Anak Sungai Waung)

Penelitian pendahuluan (tahap pertama) didapatkan kadar Pb tertinggi pada stasiun 4 sebesar 4,48 ppm menurun pada penelitian pendahuluan tahap kedua (Gambar 14) menjadi 0,07 ppm. Penurunan konsentrasi kadar Pb pada “Whole organ” keong tersebut terjadi karena kondisi arus sungai anak kali waung mengalami peningkatan kecepatan dari 0.5 m/detik pada bulan januari 2017

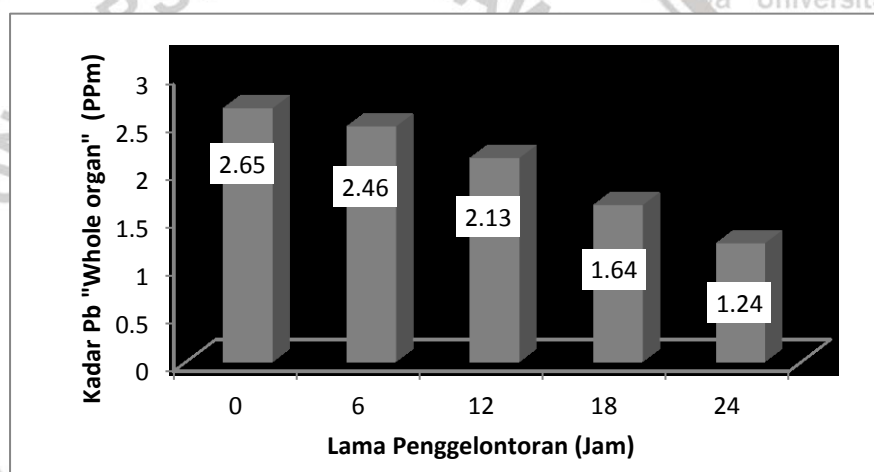
menjadi 1 m/detik rata-rata pada bulan Pebruari sampai Juli 2017 sehingga mengakibatkan Pb dalam tubuh keong luruh. Selain itu aktifitas pembuangan lumpur dari sawah tambak ke sungai yang mengandung Pb sangat berkurang karena belum masa panen. Pada waktu masa panen dan masa pengeringan tambak, para petani akan membuang air dan lumpur ke sungai yang mengakibatkan terjadinya endapan lumpur yang mengandung Pb disepanjang sungai sehingga kondisi tersebut direspon keong tutut dengan mengakumulasi logam Pb kedalam tubuhnya.

Menurut Purbalisa dan Mulyadi (2013), kandungan logam berat Pb pada tanah sawah tambak pada kecamatan Glagah kabupaten Lamongan diduga berasal dari pupuk fosfat sebagai unsur ikutan (*impurities*). Pupuk fosfat mengandung unsur P_2O_5 juga mengandung unsur hara sekunder Ca, Mg dan unsur mikro Fe, Mn, Cu, Zn dan logam berat dalam jumlah yang bervariasi yaitu Cd (0,1-200 ppm) Cr (66-245 ppm) dan Pb (40 – 2000 ppm), (Setyorini,2003).

5.3 Hasil Penggelontoran Pb

Hasil penelitian (Gambar 15), didapatkan data bahwa semakin lama waktu penggelontoran maka semakin banyak ion – ion logam yang luruh atau larut dari tubuh keong sehingga mengakibatkan kadar Pb pada Keong semakin rendah. Penggelontoran 6 jam menurunkan kadar Pb sebesar 7,2 %. Pada penggelontoran 12 jam mengalami penurunan 19,6% sisa Pb menjadi 2,13 ppm kemudian pada penggelontoran 18 jam menurunkan Pb 38,1% sisanya Pb menjadi 1,64 ppm dan pada penggelontoran 24 jam menurunkan Pb terbanyak 53,2% dari 2,65 ppm turun menjadi 1,24 ppm. Menurut keputusan BPOM (2009), batas maksimum cemaran logam berat dalam bahan pangan untuk Pb sebesar 1,5 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa kadar logam berat Timbal Pb masih di bawah ambang batas dan Keong Tutut tersebut masih boleh dikonsumsi.

Suprijanto et al. (1997) menyatakan bahwa depurasi dapat menyebabkan penurunan konsentrasi Pb dalam tubuh organisme, hal ini dimungkinkan karena tidak ada penambahan logam berat dari luar. Penurunan kadar Pb pada keong tutut dengan penggelontoran diduga merupakan akibat terlepasnya ion logam dari struktur protein Keong tutut yang terlarut (*Leaching*) dari daging sebagai penyeimbang konsentarsi dalam dagingnya. Secara alamiah, laju pertukaran ion logam dengan lingkungannya sangat mudah terutama ion logam yang berikatan dalam Metalloprotein karena ikatan logam ini sangat labil (Wahyuni dan Widiyanti, 2004). Adapun hasil pengukuran kadar Pb pada tiap perlakuan dapat dilihat pada gambar 15.



Gambar 15. Kadar Pb pada "Whole organ" Keong Tutut setelah perlakuan penggelontoran

Hasil uji ANOVA (tabel 4) terhadap rata-rata kadar Pb setelah perlakuan Penggelontoran menunjukkan pengaruh nyata ($p < 0.05$) sehingga dapat dikatakan bahwa metode penggelontoran sangat efektif digunakan untuk menurunkan logam berat Pb pada keong karena mekanisme pencuciannya selalu mengalami pergantian air terus menerus sehingga logam berat yang dikeluarkan oleh tubuh keong tidak dimanfaatkan kembali. Hasil analisa tersebut sesuai dengan pendapat Riyadi (2016), bahwa kerang darah dalam kondisi

hidup dapat mengeluarkan logam berat dari tubuhnya kemudian diluruhkan melalui mekanisme pencucian dengan sendirinya dengan sirkulasi air secara terus menerus. Menurut Zhu et al., (1999) upaya pencucian jenis kerang – kerangan sudah banyak dilakukan di darat dengan pasokan air yang stabil dengan menggunakan sistem mengalir (*flow-through*). Setelah diketahui hasil kandungan logam Pb pada keong tutut, langkah selanjutnya adalah melakukan uji kuantitatif berupa data statistik uji anova dengan menggunakan program Microsoft Exel 2010 dan hasilnya dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Uji ANOVA terhadap rerata kandungan Pb pada “Whole organ” Keong setelah perlakuan penggelontoran

Sumber						
Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	2.620733	0.87357764	48.439249**	4.07	7.59
Acak	8	0.14428	0.0180345			
Total	11					

** = sangat berbeda nyata (F hitung > Ftab 5% dan Ftab 1%)

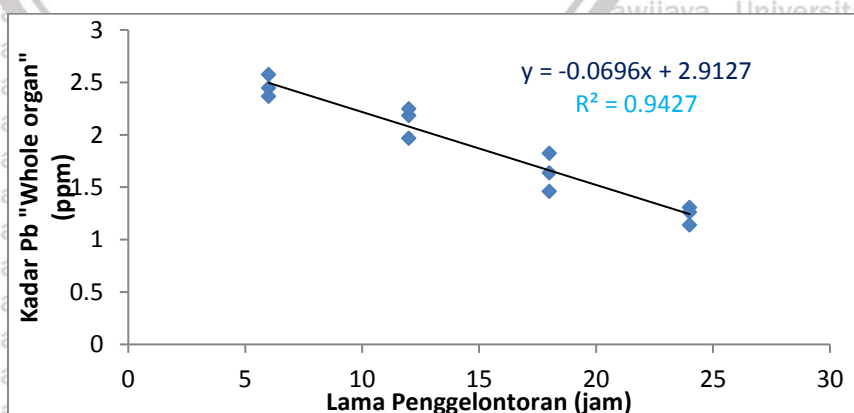
Hasil perhitungan pada tabel 4 dapat ditafsirkan bahwa perlakuan penggelontoran dengan nilai F hitung (48.439249) lebih besar dari F tabel 5% (4.07) dan F tabel 1% (7.59) artinya perlakuan penggelontoran memberikan pengaruh sangat nyata terhadap kandungan logam berat pada “Whole organ” keong. Selanjutnya analisa sesudah Anova didapatkan hasil uji BNT taraf 5% pada (tabel 5) menunjukkan bahwa Kandungan Logam berat pada setiap perlakuan penggelontoran 6,12,18 dan 24 jam memberikan pengaruh yang sangat berbeda nyata, hal ini ditunjukkan dengan notasi a,b,c dan d pada setiap perlakuan penggelontoran, untuk, lebih jelasnya dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Uji BNT Kandungan Pb pada "Whole organ" Keong setelah penggelontoran

Perlakuan (Jam)	Rerata	1.24	1.64	2.13	2.46	Notasi
24	1.24	—				a
18	1.64	0.4000 **	—			b
12	2.13	0.8900 **	0.4900**	—		c
6	2.46	1.2200**	0.8200**	0.3300*	—	d

* =berbeda nyata, ** = sangat berbeda nyata

Hubungan kadar logam berat Timbal (Pb) pada "Whole organ" (yang dinotasikan sebagai Y) dengan variabel tidak terikat seperti lama perlakuan penggelontoran (yang dinotasikan sebagai X) dapat diketahui dengan menggunakan analisis regresi. Dalam anaisis regresi dikenal 2 jenis peubah, yaitu peubah yang bersifat bebas (*independen*) yang dinotasikan sebagai X, serta peubah yang bersifat tidak bebas (*dependen*) yang dinotasikan sebagai Y (Sungkawa, 2013). Umumnya kadar Pb pada kerang – kerangan dapat diturunkan dengan perlakuan dengan depurasi dengan metode perendaman atau penggelontoran. Proses penurunan tersebut seiring dengan lama perlakuan. Hubungan kadar Pb pada "Whole organ" keong tutut dengan lama penggelontoran dapat diamati pada Gambar 16.



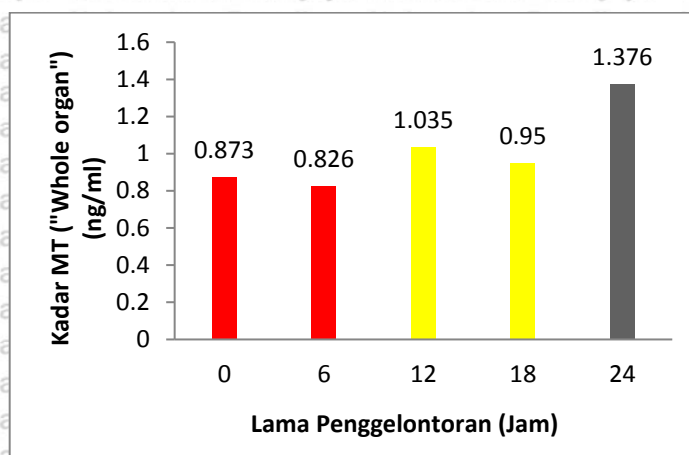
Gambar 16. Hubungan kadar Pb pada "Whole organ" Keong tutut dengan lama penggelontoran

Hasil analisis regresi (Gambar 16) menunjukkan bahwa hubungan kadar Pb pada "Whole organ" Keong tutut dengan lama penggelontoran memiliki nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar **0,9427**. Nilai determinasi bermakna bahwa semakin lama waktu penggelontoran sangat mempengaruhi penurunan kadar Pb pada "Whole organ" keong tutut sebesar 94 % dan 6 % dipengaruhi dari factor yang lain. Hasil penelitian ini tidak jauh berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Anwari (2020), menyatakan bahwa perbedaan waktu penggelontoran memberikan pengaruh signifikan pada penurunan kadar Pb pada keong ($p < 0,05$) sehingga seiring dengan lamanya penggelontoran maka kadar Pb semakin menurun.

5.4 Respon Metallothionein Terhadap Penurunan Kadar Pb setelah Penggelontoran

Hasil pemeriksaan kandungan rata-rata kadar Metallothionein pada "Whole organ" sebelum dan setelah penggelontoran didapatkan data sebagai berikut : Kontrol sebesar 0,873 ng/ml, penggelontoran 6 jam sebesar 0,826 ng/ml, penggelontoran 12 jam sebesar 1,035 ng/ml, penggelontoran 18 jam sebesar 0,950 ng/ml dan penggelontoran 24 jam sebesar 1,376 ng/ml. Hasil Penggelontoran selama 24 jam didapatkan Kadar metallothionein tertinggi sebesar 1,376 ng/ml dan terendah pada perlakuan penggelontoran 6 jam dengan kadar metallothionein sebesar 0,826 ng/ml.

Kadar Metallothionein (MT) pada kontrol atau Sebelum perlakuan sebesar 0,873 ng/ml (Gambar 19) kemudian menurun pada penggelontoran 6 jam dengan kadar sebesar 0,826 ng/ml. Penurunan kadar Metallothionein pada perlakuan 6 jam penggelontoran diduga terjadinya karena adanya penurunan kadar Pb dari sebelum perlakuan sebesar 2,65 ppm turun 7,2% menjadi 2,46 ppm.



Gambar 17. Hasil Uji rata-rata kadar Metallothionein pada "Whole organ" keong sebelum dan sesudah perlakuan penggelontoran.

Kadar metallothionein pada lama penggelontoran 6 jam, 12 jam, 18 jam dan 24 jam terlihat trennya secara berturut – turut mengalami kenaikan dengan sedikit fluktuasi naik turun, sedangkan hasil penggelontoran Pb sebelum dan sesudah penggelontoran menunjukkan trennya nilai kadar Pb semakin menurun (lihat Gambar 17). Hasil pengukuran kadar Metallothionein sebelum perlakuan kadarnya lebih tinggi bila dibandingkan dengan perlakuan penggelontoran 6 jam. Berbeda dengan perlakuan setelahnya yakni perlakuan penggelontoran 12, 18 dan 24 jam tren kadar Metallothionein terus mengalami peningkatan, padahal kadar logam berat Pb nilainya semakin menurun. Hasil uji ANOVA rata – rata kadar Metallothionein setelah perlakuan penggelontoran menunjukkan pengaruh tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Berdasarkan data tersebut perlu dianalisa mengapa kadar Metallothionein trennya terus meningkat.

Penggelontoran selama 24 jam hanya dapat mengeluarkan Pb pada jaringan lunak dan saluran pencernaan saja sehingga kondisi saluran pencernaan keong dalam kondisi bersih, karena selama 24 jam keong terus melakukan ekskresi. Hasil ekskresi keong terus menerus yang mengandung Pb kemudian diluruhkan melalui proses penggelontoran dengan mengalir air secara terus

menerus selama 24 jam. Argumentasi tersebut sesuai dengan pendapat Riyanto (2008) bahwa air mampu membersihkan system pencernaan, serta menghilangkan racun dan sisa-sisa makanan yang menempel pada usus. Sedangkan dalam penelitian Umbara *et al* (2006), menyatakan bahwa kerang darah dalam saluran pencernaan mengandung logam berat sebesar 66,1%. Kerang darah dalam kondisi hidup dapat mengeluarkan Cd dari tubuhnya melalui ekskresi melalui proses depurasi dengan penjernihan air yang dipompa sirkulasi secara terus menerus dapat menurunkan kadar Cd sebesar 42,20% (Riyadi, 2016).

Metode penggelontoran berhasil menurunkan kadar Pb tertinggi sebesar 53,2 % dari 2,65 ppm turun menjadi 1,24 ppm dari tubuh keong. Kadar Pb yang luruh atau terlepas dari ikatan struktur protein keong tutut sebesar 53,2% diduga berasal dari lendir yang terdapat dalam tubuh keong. Lendir tersebut keluar bersamaan dengan Pb dalam tubuh keong pada proses penggelontoran berlangsung. Sedangkan Pb yang berada pada daging masih tetap berada dalam tubuh keong yang tidak terlarut atau (*Leaching*). Diduga sekitar 1,24 ppm kadar Pb masih terdapat dalam daging keong sehingga mengakibatkan kadar Metallothionein tetap tinggi pada "Whole organ" keong.

Kadar Logam Pb yang terdapat dalam daging/tubuh keong diduga juga bertambah oleh jenis logam yang lain seperti Zn sebesar 0,05 ppm dan Fe sebesar 0,02 ppm. Logam esensial tersebut berasal dari air media yang digunakan dalam proses penggelontoran. Logam tersebut terakumulasi oleh keong tutut selama proses penggelontoran yang berlangsung selama 24 jam sehingga meningkatkan kadar MT. Kadar Metallothionein pada (Gambar 19) banyak dipengaruhi oleh tinggi rendahnya kadar logam dalam tubuh keong tutut. Hal ini senada dengan penelitian yang dilakukan oleh Tiyan Yulianto pada tahun 2015 tentang hubungan kadar metallothionein (MT) dengan kadar Pb, Cd

dan Hg pada insang tiram (*Crassostrea iredalei*) di perairan pantai talang siring, pamekasan, madura. Menurut Yulianto (2015), bahwa bahwa tingginya kadar Metallothionein pada insang tiram (*C. iredalei*) memiliki hubungan yang sangat kuat dengan tingginya rendahnya kadar Pb, Cd dan Hg, sehingga factor tersebut yang mempengaruhi produksi metallothionein pada tubuh tiram.

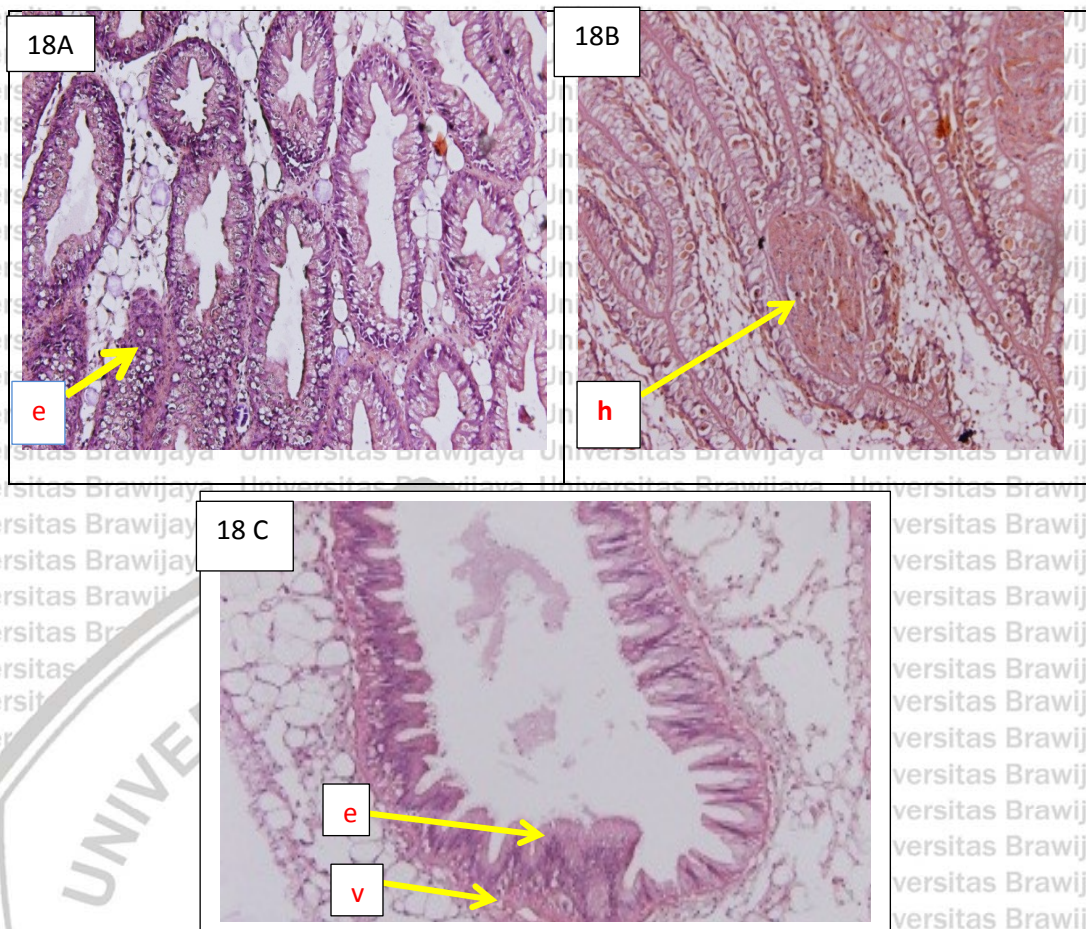
Hasil penelitian yang lain dengan kesimpulan yang tidak jauh berbeda juga dikemukakan oleh Herista (2013) yang menyatakan bahwa kadar metallothionein pada insang akan semakin meningkat sejalan dengan meningkatnya kadar Pb dengan nilai koefisien (r) sebesar 0,89. Pendapat tersebut diperkuat lagi oleh penelitian yang dilakukan oleh Kartikaningsih *et al.*, (2013), menurut hasil analisisnya bahwa peningkatan pemaparan dosis $PbNO_3$ akan meningkatkan ekspresi metllothionein.

5.5 Histologi Keong Sebelum Dan Sesudah Depurasi

Pengamatan Histologi jaringan keong tutut pada “Whole organ” Keong dilakukan sebelum dan sesudah perlakuan penggelontoran 24 jam, perendaman 24 jam dan perendaman 24 jam dengan ganti air setiap 6 jam. Hasil pengamatan histologi di sajikan sebagai berikut :

5.5.1 Sebelum Perlakuan (Kontrol)

Kadar Pb pada “Whole organ” keong pada kontrol atau lokasi penelitian sebesar 2,65 ppm (Gambar 15). Kadar tersebut telah berada diatas ambang batas yang ditetapkan oleh badan standardisasi Nasional (BSN) 2009. Namun dari tingginya kadar Pb tersebut keong tutut masih dapat tumbuh dan berkembang biak dengan baik dilokasi penelitian (kontrol). Hasil pengamatan kepadatan keong tutut rata-rata berjumlah 50 – 100 buah/ m^2 . Selanjutnya tingkat kerusakan jaringan tersebut dapat dilihat Gambar 18



Gambar 18. Hasil Pengamatan Histologi Pada “Whole organ” keong tutut Sebelum Penggelontoran dengan beberapa kerusakan pada jaringan *digestive diverticula* (18A), Insang (18B), Lambung (18C). Keterangan: (e) Edema atau pembengkakan sel atau pembendungan cairan yang berlebihan pada suatu jaringan tubuh, (h) Hiperplasia atau suatu proses pembentukan jaringan secara berlebihan karena bertambahnya jumlah sel, (v) Vakuolasi atau rongga di dalam sel yang berisi cairan, (perbesaran 200x)

Hasil pengamatan kerusakan pada “Whole organ” Keong Tutut dapat diamati pada beberapa jaringan seperti dinding lambung bagian luar yang disebut *digestive diverticula* (Gambar 18A), Insang (Gambar 18B) dan Lambung (Gambar 18C). Jaringan *digestive diverticula* mengalami pembengkakan sel (edema) sebesar 4%, insang (gambar 18B) mengalami Hiperplasia sebesar 6,1% dan pada lambung (Gambar 18C) teridentifikasi beberapa kerusakan seperti Edema 2,1% dan Vakuolasi sebesar 0,2%.

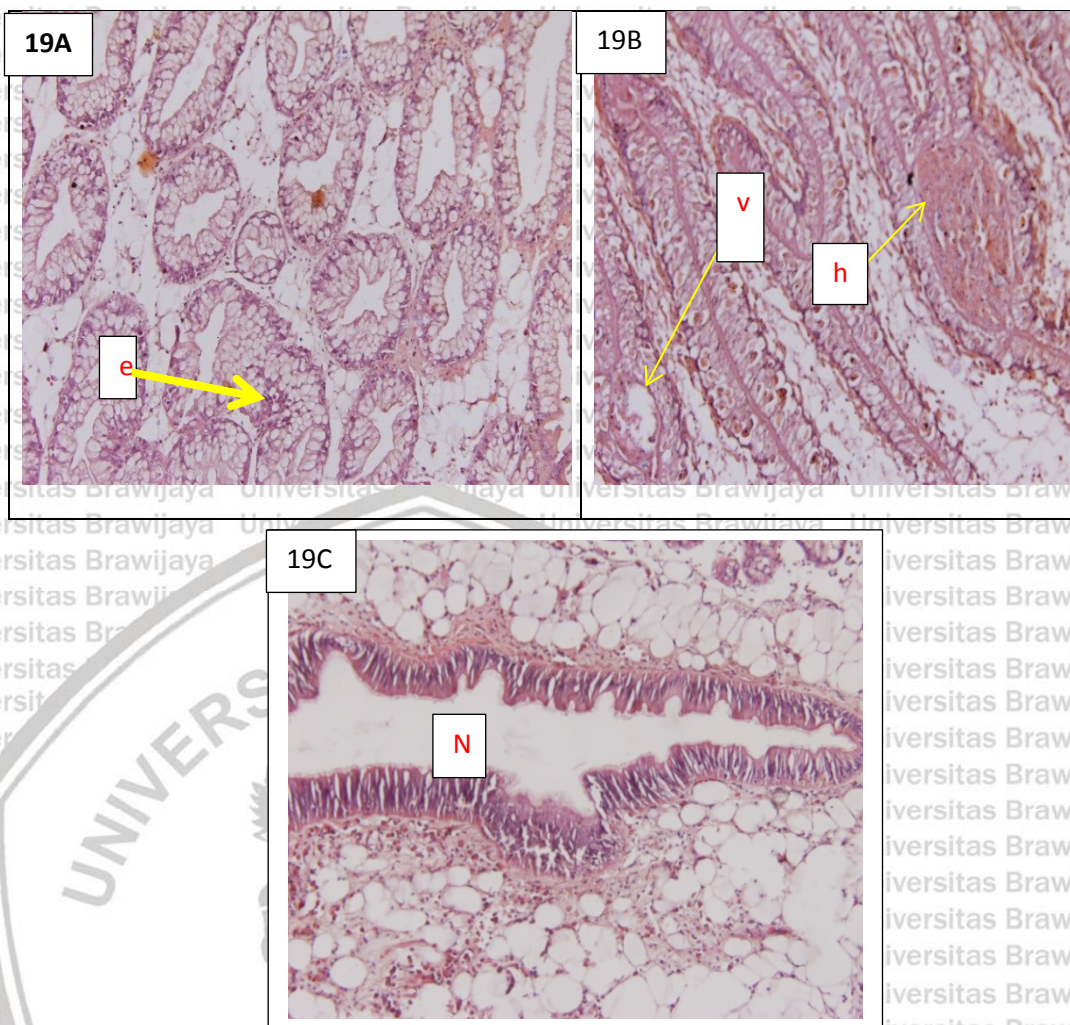
Insang yang mengalami hiperplasia biasanya ditandai dengan mulai mengikisnya sel epitel, lacuna melebar dengan disertai sel darah merah serta sel pilar terlepas. Menurut Laksman (2003), bahwa istilah hiperplasia adalah proses pembentukan jaringan secara berlebihan karena bertambahnya volume sel. Sedangkan Pada gambar (18Cv) termasuk jenis kerusakan yang biasa dinamakan dengan Vacuolasi atau rongga didalam sel yang berisi cairan tampak berwarna putih.

Kerusakan jaringan pada "Whole organ" Keong Tutut pada kontrol berkisar 2,3 – 6,1%, nilai ini tergolong sangat rendah. Menurut Pantung *et al.* (2008) kerusakan diatas (Gambar 18) dikategorikan rendah karena prosentase kerusakan jaringannya berkisar 0 - 30%. Ini menunjukkan bahwa kadar logam berat Pb pada "Whole organ" pada kontrol (Gambar 15) dan Nilai kerusakan (Gambar 18) tidak mempengaruhi perkembangbiakan dan kehidupan keong.

Hasil pengamatan pada sungai dan tambak di Kecamatan Glagah, Kabupaten Lamongan didapati kepadatan keong tutut sebanyak 50 - 100 Individu/m². Angka tersebut tergolong sangat melimpah sehingga banyak dimanfaatkan oleh warga masyarakat kecamatan Glagah untuk digunakan sebagai pakan tambahan pada Itik dan Ayam yang mereka pelihara. Berdasarkan uraian diatas menunjukkan bahwa keong tutut merupakan salah satu jenis Family Viviparidae yang mampu beradaptasi terhadap keberadaan logam pencemar Pb didalam tubuhnya sehingga mampu tumbuh dan berkembang biak dengan baik.

5.5.2 Gelontor 24 Jam

Kondisi kadar Pb pada "Whole organ" keong tutut setelah perlakuan penggelontoran selama 24 jam telah menurunkan kadar Pb sebesar 53,2 % dari sebelumnya sebesar 2,65 ppm menjadi 1,24 ppm. Penurunan tersebut apakah mempengaruhi gambaran histologinya. Lebih jelas lihat pada Gambar 19.



Gambar 19. Hasil pengamatan Histologi pada “Whole organ” Keong Tutut Setelah Penggelontoran 24 jam pada jaringan *digestive diverticula* (19A), Insang (19B), Lambung (19C). Keterangan: (e) Edema atau pembengkakan sel atau pembendungan cairan yang berlebihan pada suatu jaringan tubuh, (h) Hiperplasia atau suatu proses pembentukan jaringan secara berlebihan karena bertambahnya jumlah sel, (v) Vakuolasi atau rongga di dalam sel yang berisi cairan, (N) Normal, (perbesaran 200x)

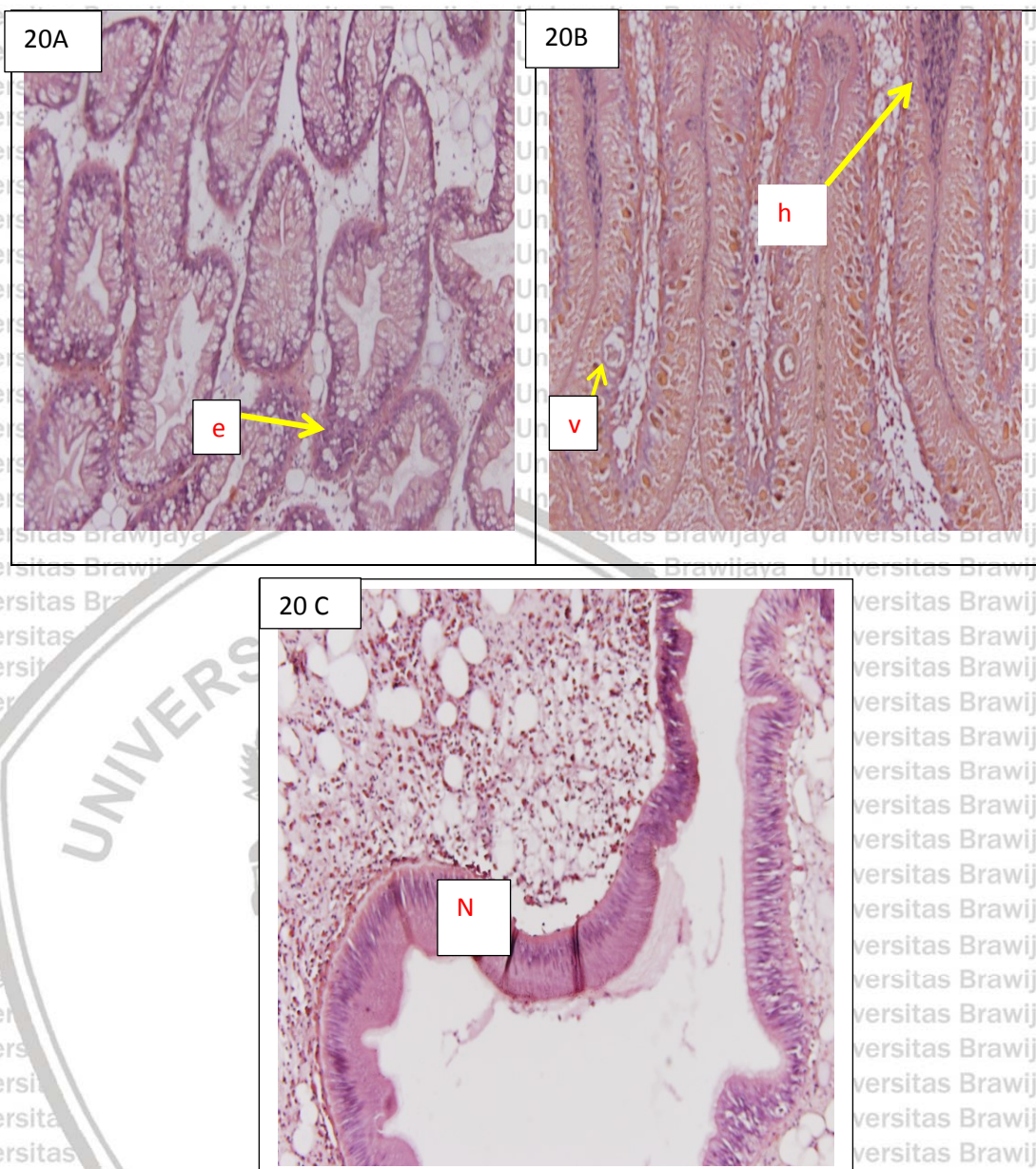
Penurunan kadar Pb sebesar 53,2 % dari 2,65 ppm menjadi 1,24 ppm dari hasil penggelontoran selama 24 jam tidak mempengaruhi banyak perubahan kerusakan pada “Whole organ” Keong. Kerusakan “Whole organ” keong tutut masih terlihat pada jaringan *digestive diverticula* dengan prosentase 1,6% sedangkan jaringan Insang total kerusakan sebanyak 3,9% dari dua kerusakan yakni Hiperplasia 3,3% dan Vakuolasi 0,6%. Berbeda dengan kondisi

Histopatologi Lambung (Gambar 19C) menunjukkan tidak ada kelainan berupa Edema, Hyperplasia dan lain – lain. Lambung dapat dikenali karena memiliki struktur berlipat-lipat membentuk plika dengan epitel silindris bersilia, sitoplasma eosinofilik dan inti basofilik berbentuk lonjong dan pada bagian basal epitel lambung terlihat adanya inti piknotik berbentuk bulat. Pada bagian lumen ditemukan masa berwarna merah muda, diduga berasal dari sekresi mukus yang bercampur dengan makanan. Pada bagian lamina propria berupa serabut berwarna merah muda dengan inti basofilik .

Kerusakan jaringan pada “Whole organ” keong Tutut pada perlakuan penggelontoran selama 24 jam berkisar 1,6 - 3,9 %. Kerusakan tertinggi terjadi pada insang dengan kerusakan sebesar 3,9% dan kerusakan terendah terlihat pada jaringan *digestive diverticula* sebesar 1,6%. Menurut Patung *eat al.* (2008) kerusakan keong tutut (Gambar 19) tersebut dikategorikan rendah. Kerusakan jaringan di bagi menjadi 3 yaitu katagori rendah dengan prosentase kerusakan jaringan 0-30%, katagori sedang prosentase kerusakan jaringan antara 30 – 70% dan katagori berat dengan prosentase kerusakan jaringan antara 70 – 100%.

5.5.3 Perendaman 24 Jam

Gambaran histologi pada perlakuan perendaman 24 jam pada “Whole organ” Keong tutut teramati tiga jaringan seperti dinding Lambung bagian luar yang merupakan jaringan tipis dan kuat atau yang biasa di sebut dengan *digestive diverticula* (Gambar 20A), Insang (Gambar 20B) dan Lambung (Gambar 20C). Hasil analisa gambaran histologi pada perlakuan perendaman 24 jam dapat dilihat pada Gambar 20.



Gambar 20. Hasil Pengamatan Histologi Pada “Whole organ” Keong Tutut Setelah perendaman 24 jam pada jaringan *digestive diverticula* (20A), Insang (20B), Lambung (20C), Keterangan: (e) Edema atau pembengkakan sel atau pembendungan cairan yang berlebihan pada suatu jaringan tubuh, (h) Hiperplasia atau suatu proses pembentukan jaringan secara berlebihan karena bertambahnya jumlah sel, (v) Vakuolasi atau rongga di dalam sel yang berisi cairan, (N) Normal (perbesaran 200x)

Kondisi gambaran histologi pada “Whole organ” keong tutut masih terdeteksi beberapa kerusakan. Kerusakan jaringan pada “Whole organ” Keong

Tutut pada perlakuan perendaman 24 jam berkisar 1,6 – 2,9 %. Dinding

lambung bagian luar atau di sebut jaringan *digestive diverticula* (Gambar 20A) terdeteksi kerusakan pembengkakan sel (*edema*) sebesar 1,6%, Insang terdeteksi kerusakan total sebesar 2,9% berupa hiperplasia 2,2% dan Vakuolasi 0,7% sedangkan lambung terlihat normal.

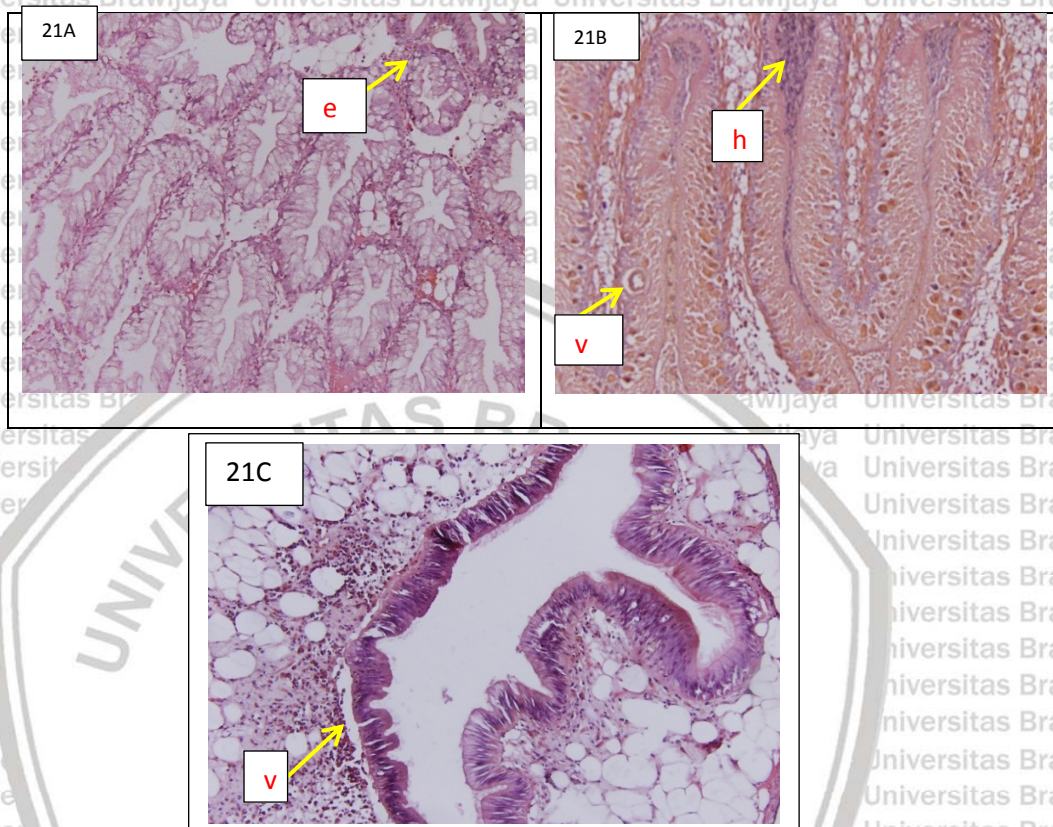
Kerusakan yang terjadi pada “Whole organ” keong tutut pada perlakuan perendaman 24 jam tergolong rendah, hal ini sesuai dengan pendapat Patung *et al.* (2008) bahwa kerusakan jaringan di bagi menjadi 3 yaitu katagori rendah dengan prosentase kerusakan jaringan 0 -30%, katagori sedang prosentase kerusakan jaringan antara 30 – 70% dan katagori berat dengan prosentase kerusakan jaringan antara 70 – 100%.

5.5.4 Perendaman 24 Jam Dengan Ganti Air Setiap 6 Jam

Teknik analisa histopatologi adalah cepat dan sensitive, dapat di handalkan dan relative murah sebagai alat untuk menilai respon stress Xenobiotic, Sitologi dan perubahan histopatologi memberikan catatan langsung dalam melihat dampak tingkat stres, kerentanan dan kemampuan adaptif organisme (Sreeram and Menon 2005). Kondisi histologi “Whole organ” Keong tutut setelah perlakuan perendaman 24 jam dengan ganti air setiap 6 jam didapati beberapa jaringan diantaranya adalah *digestive diverticula* (Gambar 21A) terdeteksi kerusakan berupa pembengkakan sel (*edema*) sebesar 2,4%, Insang (Gambar 21B) terdeteksi total kerusakan 2,5% berupa vakuolasi 0,6% dan Hiperplasia sebesar 1,9% sedangkan saluran pencernaan atau lambung (Gambar 21C) terdeteksi Vakuolasi (Bintik – bintik putih atau timbunan lemak) sebesar 0,6%.

Kerusakan jaringan (*digestive diverticula*, Insang dan lambung) semuanya mengalami kerusakan namun dengan intensitas yang sangat rendah. Kerusakan tertinggi dialami oleh insang dengan total kerusakan 2,5 % dan kerusakan

terendah oleh lambung sebesar 0,6%. Kerusakan yang terjadi menurut Patung *et al.* (2008) termasuk katagori rendah karena prosentase kerusakan jaringanya berkisar 0 - 30%. untuk lebih detailnya dapat dilihat pada Gambar 21.



Gambar 21. Hasil Pengamatan Histologi Pada “Whole organ” Keong Tutut setelah perendaman 24 jam dengan 6 jam sekali dilakukan pergantian air pada jaringan *digestive diverticul* (21A), Insang (21B), Lambung (21C). Keterangan: (e) Edema atau pembengkakan sel atau pembendungan cairan yang berlebihan pada suatu jaringan tubuh, (h) Hiperplasia atau suatu proses pembentukan jaringan secara berlebihan karena bertambahnya jumlah sel, (v) Vakuolasi atau rongga di dalam sel yang berisi cairan, (N) Normal, (perbesaran 200x).

Kerusakan yang terjadi pada “Whole organ” Keong Tutut pada jaringan Lambung atau saluran cerna (Gambar 21C) diduga disebabkan oleh kontaminan, khususnya makanan yang terkontaminasi logam pencemar yang masuk melalui mulut. Kemudian makanan masuk dan diserap kedalam saluran pencernaan sehingga merusak sel enterosit tepatnya dibagian Epitel Vili. Bagian

tersebut merupakan jaringan yang terpapar langsung dengan logam berat Pb atau logam toksik lain yang menginduksi sehingga terjadi perubahan histologi seperti Edema dan Vakuolasi. Proses masuknya logam berat diatas sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Gitarama pada tahun 2016 dalam tesisnya yang menyatakan bahwa Logam pencemar Kromium (Cr) masuk kedalam tubuh bisa masuk melalui saluran cerna dan masuk bersamaan dengan makanan yang mengakibatkan perubahan histologi pada jaringan epitel berupa hiperplasia dan lain-lain (Roberts dan Oris 2004).

5.6 Kualitas Air Media

Pengambilan data kualitas fisika dan kimia dilakukan sebelum dan selama penelitian berlangsung. Kualitas air dapat menunjukkan ukuran kondisi air relatif terhadap kebutuhan biota air bahkan menjadi ukuran standart terhadap kesehatan ekosistem air. Pengukuran dilakukan secara insitu pada setiap perlakuan meliputi suhu, pH dan oksigen terlarut (DO). Nilai rata – rata kualitas air selama proses penggelontoran disajikan pada tabel 6.

Tabel 6.Rata – Rata Kualitas Air Selama Penggelontoran

Tempat	Perlakuan	Parameter Kualitas Air		
		Suhu (°C)	pH	DO (mg/l)
Tambak gayam 2		30	7,43	3,01
Laboratorium	0 jam	29,9	7,3	3
	6 jam	27,1	7,3	2,8
	12 jam	26,9	7,4	3,3
	18 jam	30,2	7,4	3,4
	24 jam	30,5	7,5	4,0
Baku Mutu (PP No.82 Tahun 2001)		(±28,1-34,1)	6 – 9	>3

Hasil suhu rata – rata tiap perlakuan pada proses penggelontoran sebesar 26,9 – 30,5 °C. Hasil ini menunjukkan bahwa air pada bak – bak percobaan masih sesuai dengan kisaran toleransi untuk kehidupan keong tutut.

Sumarni (1989), menyatakan bahwa kebanyakan moluska terutama keong dapat hidup dengan toleransi suhu sekitar 23-33 °C sedangkan menurut Junting (1956) *Bellamya javanika* family Viviparidae dapat hidup pada suhu 35 °C.

Secara umum, pH hasil pengukuran pada tiap perlakuan hampir sama yaitu berkisar antara 7,3 – 7,5. Menurut Hynes (1987) biasanya gastropoda yang hidup pada perairan tawar dapat hidup dengan parameter pH dengan kisaran 5,0 – 9,0 dari tabel (6) diatas menunjukkan bahwa pH selama penelitian sesuai dengan habitat keong. Pendapat tersebut sejalan dengan argumentasi dari Connel dan Miller 1995; Novotny dan Olem,1994) yang menyatakan bahwa kenaikan pH di perairan akan diikuti dengan penurunan tingkat kelarutan logam berat sehingga logam berat akan cenderung mengendap.

Hasil analisis DO pada beberapa perlakuan mengalami fluktuasi naik turun. Kontrol terukur DO sebesar 3 ppm kemudian turun pada perlakuan lama penggelontoran 6 jam menjadi 2,8 ppm. Penurunan tersebut dapat disebabkan oleh proses metabolisme keong tutut yang memerlukan oksigen. Rosita (2005), menyatakan bahwa perlakuan depurasi dapat menurunkan konsentrasi DO air. Namun pada perlakuan lama penggelontoran 12, 18 dan 24 jam Peningkatan konsentrasi DO pada air bekas rendaman berasal dari aerasi dengan system gravitasi bekerja dengan prinsip air terjun atau air yang dijatuhkan untuk meningkatkan interaksi antara udara-air sehingga konsentrasi oksigen terlarut dalam air rendaman semakin lama mengalami peningkatan (Wheaton, 1977).

VI. KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

1. Penggelontoran selama 24 jam dapat menurunkan Pb terbanyak sebesar 53,2 % dari 2,65 ppm menjadi 1,24 ppm sehingga keong tutut dapat dimanfaatkan sebagai pakan ternak dan konsumsi manusia. Hasil penggelontoran tersebut sesuai dengan standarisasi BPOM (2009), Perikanan (DKP) No: Kep 20/Men/2004, SK Ditjen POM No. 03725/B/SK/VII/1989, batas cemaran logam berat dalam bahan pangan sebesar 1,5 ppm.

2. Hasil Penurunan Pb setelah penggelontoran direspon MT dengan fluktuasi naik turun, trennya terus mengalami kenaikan, hal ini disebabkan diantaranya adalah sebagai berikut :

- Penggelontoran 24 jam menyisakan kadar Pb sebesar 1,24 ppm yang diduga terdapat pada daging keong, sedangkan 53% berhasil luruh (*Leaching*) bersamaan dengan Pb dalam tubuh keong dalam bentuk lendir. Kadar Pb yang tersisa sebesar 1,24 ppm pada daging mengakibatkan kadar metallothionein tetap tinggi pada "Whole organ" keong.
- Kadar logam selain Pb dalam tubuh keong diduga bertambah yang berasal dari air media yang digunakan untuk penggelontoran, karena air tersebut mengandung Besi (Fe) sebesar 0,02 ppm dan Seng (Zn) sebesar 0,05 ppm sehingga kadar Metallothionein (MT) pada perlakuan trennya mengalami peningkatan.

3. Histologi sebelum dan sesudah perlakuan relative sama dengan nilai kerusakan jaringan sangat rendah berkisar 0 – 6,1 %. Kerusakan jaringan pada "Whole organ" keong tutut berupa Edema, Hyperplasia dan Vakuolasi.

6.2. Saran

1. Masyarakat yang akan memanfaatkan Keong tutut sebagai pakan itik dan dikonsumsi manusia dihimbau untuk melakukan upaya penggelontoran
2. Kepada pemerintah dan masyarakat agar bekerjasama untuk menjaga lingkungan dengan cara memperhatikan buangan limbah industri, buangan rumah tangga dan limbah pertanian.
3. Metode penggelontoran dengan menggunakan media air sumur bor dapat dikembangkan dengan menggunakan air media dari Sungai, PUM atau air media lain yang murah, mudah didapatkan oleh masyarakat dan bebas dari kandungan logam berat.



DAFTAR PUSTAKA

- Abdurahman, A., S. Sutono, H. Kushadi dan Y. Hadian. 2000. *Pengkajian Baku Mutu Tanah : Sumber Dan Proses Terjadinya Pencemaran Logam Berat*. Pusat Penelitian Tanah dan Agroklimat. Badan Litbang Pertanian. Jakarta.
- Ahmad, A. 2012. Pengaruh Perbedaan Kecepatan Aliran Air Terhadap Perubahan Kadar Logam Berat Timbal (Pb) Pada Cangkang Kijing Taiwan (*Anodonta Woodiana*). Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Malang.
- Alaerts, G. 1984. *Metoda Penelitian Air*. Surabaya : Usaha Nasional.
- Amiard, C. J., C. Amiard-Triquet, S. Barka, J. Pellerin, P.S. and Rainbow. 2006. Metallothioneins In Aquatic Invertebrates: Their Role in Metal Detoxification and their Use as Biomarkers. *Journal Aquatic Toxicology*. **76**: 160–202.
- Anonim. 2007. Manfaat Keong Sawah di Lamongan <http://Yulian.Firdaus.or.id/2007/02/08/tutut/>. (19 Agustus 2020)
- Anonim, 2013. *Pemkab Jadikan Selatan Lamongan Kawasan Industri Baru*, <http://www.antarajatim.com /lihat /berita /112788/ pemkab - jadikan selatan-lamongan-kawasan-industri-baru>.
- Anwari, Z. 2020. Pengaruh Penggelontoran Selama 24 Jam Terhadap Penurunan Kadar Logam Pb Pada Keong *Filopaludina Javanica* dari Perairan Sungai Waung, Kabupaten Lamongan. Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang
- Arikunto.S. 2010. *Prosedur Penelitian Suatu Pendekatan Praktik*. Jakarta, Rineka Karya.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). 2007. Toxicological profile for lead. Georgia: Division of Toxicology and Environmental Medicine/Applied Toxicology Branch.
- Azhar, H. 2012. Studi Kandungan Logam Berat Pb, Cd, Cr Pada Kerang Simping (*amuseum pleuronectes*), Air Dan Sedimen di Perairan Wedung. Universitas Diponogoro.
- Badan Pusat Statistik dan Pemerintah Kabupaten Lamongan. 2007. *Lamongan Dalam Angka. Lamongan*.
- Badan Standardisasi Nasional (BSN). 2009. Batas Maksimum Cemaran Logam Berat dalam Pangan. Badan Standardisasi Nasional. Jakarta.
- 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.

Benthem J.W.V. 1956. Systematic Studies on the Non-marine Mollusca of the Indo-Australian Archipelago : V. Critical Revision of the Javanese Freshwater Gastropod. *Treubia* **23(2)**, 259 – 477.

Binz, P.A., and Kagi, J.H.R., 2000. *Metallothione: molecular evolution classification*. In: Klaassen, C. (Ed.), *Metallothionein IV*. Birkhauser Verlag, Basel, pp. 7–13.

Brite, M., J. Dewi., dan Kurniastuty. 2006. *Rekayasa Pengujian Depurasi Kekerangan dalam Upaya Meningkatkan Keamanan Bagi Konsumen*. Jurnal Departemen Kelautan dan Perikanan. Jakarta.

Buwono I. D., L. Lestari dan H. Suherman. 2005. *Upaya penurunan kandungan logam Hg (merkuri) dan Pb (Timbal) pada kerang hijau (Mytilus viridis linn.) dengan konsentrasi dan waktu perendaman NA CaEDTA yang berbeda*. Jurnal Biologi dan Natura. Universitas Padjajaran.

Chan KW, Cheung RYH, Leung SF and Wong MH. 1999. Depuration of metal from soft tissue of oyster (*Crassostrea gigas*) transplanted from a contaminated site to clean sites. *Environmental Pollution* 105:299-310.

Callahan, M. A. (1979) *Water-related environmental fate of 129 priority pollutants vol. 1; Introduction and Technical Background, Metals and Inorganics, Pesticides and PCBs*. EPA440/4-79-029A.

Carpene E, G. Andreani and G. Isani. 2007. Metallothionein Function and Structural Characteristics. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 18:35-39.

Couillard, Y., Campbell, P.G.C., Tessier, A., Pellerin Massicotte, J., and Auclair, J.C. Field transplantation of a freshwater bivalve, *Pyganodon grandis*, across a metal contamination gradient. I. Temporal changes in metallothionein and metal (Cd, Cu, and Zn) concentrations in soft tissues. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 52: 690–702. 1995.

Cotton dan Wilkinson, (1989), *Kimia Anorganik Dasar*, UI-Press, Jakarta.

Connel, D.W dan G.J. Miller. 1995. *Kimia dan ekotoksikologi pencemaran*. UI Press, Jakarta. 520 hlm.

Darmono. 1995. *"Logam Dalam Sistem Biologi Makhluk Hidup"*. Penerbit UI-Press, Jakarta.

Darmono. 2001. *Lingkungan Hidup dan Pencemaran : Hubungan dengan Toksikologi Senyawa Logam*. UI Press, Jakarta.

Dharma, B. 2005. "Recent and fossil Indonesia shells" *Conchbook*, Germany.

Duria, R.R. 2001. *Studi Komunitas Gastropoda Benthik di Situ Puspa Kampus UI Depok*. Skripsi. Universitas Indonesia. 68 hal.

[DKP] Departemen Kelautan dan Perikanan. 2008. *Budidaya kerang hijau (Perna viridis)*. <http://www.indonesia.go.id/id/index.php.htm> [15 Feb 2020].

Farabi, Makhyan J. 2012. *Teknik ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)*.
<http://makhyanjibril.blogspot.com/2012/03/teknik-elisa-enzyme-linked.html>. Diakses pada tanggal 20 Mei 2020.

Gesamp (Join Group of Experts on The Scientific Aspect of Marine Pollution).
1985. *Marine Pollution Implication of Ocean Energy Development*.
Report and Studies, Rome. 43 p

Gitarama, A.M. 2016. Pengaruh Akumulasi Kromium (Cr) Terhadap perubahan
Struktur Komunitas dan histologis Makrozobentos di sungai cimanuk
lama indramayu. Tesis. Insitut Pertanian Bogor.

Greenberg, A.E., Trussell, R.R and Clesseri, L.S 1985. *Standard methods for the
examination of water and wastewater*. 16 edition. American Public
Health Association, 05 15 th street NW, Washington, DC 20005.

Hall J.E. 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance.
J.Exp. Bot 53: 1–11.

Hanson N, Persson S, and A. Larsson 2008. Analyses of perch (*Perca
fluviatilis*) bile suggest increasing exposure to PAH and other
pollutans in a reference area on the Swedish Baltic coast. *Journal
of Environmental Monitoring*. In Press DOI:10.1039/b820703a.

Herista, D.S. 2013. Analisis Kandungan Metallothionein pada Insang Tiram
Crassostrea cuculata dari Perairan yang Mengandung Logam Berat
Pb, Cd dan Hg di Pelabuhan Pantai Mayangan Probolinggo, Jawa
Timur. *Skripsi*. Universitas brawijaya. Malang.

Husna Azhar. 2012. Studi Kandungan Logam Berat Pb, Cd, Cr Pada Kerang
Simping (amusium pleuronectes), Air Dan Sedimen di Perairan
Wedung. Universitas Diponogoro.

Hutagalung, H. P. (1997) *Metode Analisis Air Laut, Sedimen dan Biota*, Pusat
Penelitian dan Pengembangan Oseanologi, Jakarta.

Hutagalung H. P. dan A. Rozak. 1997. Penentuan Kadar Nitrat. Metode Analisis
Air Laut , Sedimen dan Biota. H. P Hutagalung, D. Setiapermana dan
S. H. Riyono (Editor). Pusat Penelitian dan Pengembangan
Oceanologi. LIPI, Jakarta.

Hutagalung, H.P. 1991. *Pencemaran Laut oleh Logam Berat dalam Beberapa
Perairan Indonesi*. Puslitbang Oseanologi LIPI, Jakarta. p. 1–20.

Hynes, H.B.N. (1978). *The biology of polluted waters*. Liverpool University
press.London.

Jutting, W.S.S. (1956). *Systematic Studies on The Non Marine Mollusca of the
Indo Australian Archipelago. V. Critical Revision on The javanese
Fresh Water Gastropods*. Treubia.

Kartikaningsih, H., A. M. S. Hertika dan D. Arfiati. 2013. Ekspresi
metallothionein pada insang dan lambung kijing taiwan (*Anodonta
woodiana*) yang terpapar timbal (Pb) pada konsentrasi sub-kronis.

Laporan Akhir Penelitian Perguruan Tinggi. Universitas Brawijaya. Malang.

Karwiti W. 2012. Gambaran Kadar Fe (Besi) Pada Air Tanah Dangkal (Sumur) Di Kecamatan Sukarama Palembang. Jurnal Dosen Jurusan Analisis Kesehatan Poltekkes, Palembang

Kavun, V.Y., V.M. Shulkin and N.K. Khristoforova, 2002. Metal accumulation in mussels of the Kuril Islands, northwest Pacific Ocean, *Marine Environmental Res.*, 53: 192-196.

Knapen D, Reynders H, Bervoets L, Verheyen E, and Blust R. 2007. Metallothionein gene and protein expression as a biomarker for metal pollution in natural gudge on populations. *Aquat Toxicol*;82:163–72.

Kohar, I., de Zeeuw, R.A., Budiono., and L. Kusumawati, 2004. Review on The Use of Agriculture Waste to Adsorb Heavy Metals From Contaminated Water, *Artocarpus*, vol. 4, No.1, 2004,39.44.

Laksman, H.T. 2003. Kamus Kedokteran. Jakarta: Djambatan.

Larsson A, Forlin L, Grahn O, Landner L, Lindesjoo E, and Sandstrom O. 2000. Guidelines for interpretation and biological evaluation of biochemical, physiological and pathological alterations in fish exposed to pulp mill effluents. In: Ruoppa M, Paasivirta J, Lehtinen K-J, Ruonala S, editors. *Proceedings, 4 International Conference on Environmental Impact of the Pulp and Paper Industry*, 12-15 June 2000. Helsinki, Finland: Finnish Environment Institute. P. 185-192.

Legras, S., C. Mouneyrac, J.C. Amiard, C. Amiard-Triquet and P.S. Rainbow. 2000. Changes in metallothionein concentrations in response to variation in natural factors (salinity, sex, weight) and metal contamination in crabs from a metal-rich estuary. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 246, 259–279.

Lestari. 2004. *Dampak Pencemaran Logam Berat Terhadap Kualitas Air Laut dan Sumberdaya Perikanan (Studi Kasus Kematian Masakan Ikan Di Teluk Jakarta)*. Makara, Sains, 2 (8) : 52-58.

Leung, K.M.Y., Morgan, I.J., Wu, R.S.S., Lau, T.C., Svavarsson, J., Furness, R.W., 2001. Growth rate as a factor confounding the use of the dogwhelk *Nucella lapillus* as biomonitor of heavy metal contamination. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 188,

Lecoultre, T. D. 2001. *Ameta - analysis and Risk Assesment of Heavy Metal Uptake In Common Garden Vegetables*. Thesis. Faculty of the Department of Environmental Health, East Tennessee State University, US. 64 pp. 2001.

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

Marr, J.C.A., J. Lipton, D. Cacula, J.A. Hansen, J.A. Bergman, J.S. Meyer and C.Hogstrand, 1996. Relationship between copper exposure duration, tissue copperconcentration and rainbow trout growth, *Aquatic Toxicol.*, 36: 20-30.

Marwoto, R.M. dan A Nurinsiyah. 2009. Keanekaragaman Keong Air Tawar Marga *Filopaludina* di Indonesia dan Status Taksonominya (Gastropoda : Viviparidae). *Prosiding Seminar Nasional Moluska II*, Bogor 11–12 Februari. F Yulianda, NTM Pratiwi, Y Mayalanda, MR Cordova (Penyunting), 202–183. Fakultas Perikanan dan Ilmu kelautan, IPB.

Marwoto, R.M., N.R. Isnaningsih, R. Mujiono, Heryanto, Alfiah dan Riena. 2011. Keong Air Tawar Pulau Jawa (Moluska, Gastropoda). (Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia Widyasatwaloka, Jalan Raya Jakarta Bogor Km 46, Cibinong; email:rist001@lipi.go.id)

Mukono. 2005. Toksikologi Lingkungan. Surabaya: Airlangga University Press

Munarto. 2010. Studi Komunitas Gastropoda di Situ Salam Kampus Universitas Indonesia Depok. Fakultas MIPA, Universitas Indonesia. [Skripsi].

Murthy, R.L.N., H.N. Nataraj and S. Ramachandrasetty. 2011. Nephroprotective Active Of *Cyanotis Fasciculata* Var. *Fasciculata* Against Cisplatin Induced Nephrotoxitiy. Dept. of Pharmacology, T.V.M. Collenge Of Pharamacy, Bellary, India

Murtini, J.T., H.I. Januar dan Sugiyono. 2004. Upaya pengurangan logam berat Hg, Cd, dan As dengan menggunakan larutan kitosan. J. Penel. P erik . Indonesia Edisi Pasca Panen. Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan, Jakarta.10(3): 7–10.

Murtini, J.T. dan F. Ariyani . 2005. Kandungan logam berat kerang darah (Anadara granosa) dan kualitas perairan di Tanjung Pasir, Jawa Barat. Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia.

Nighat R. 2009. Isolation And Characterization Of Cadmium Metallothionein Gene From Local Ciliates. Thesis for Ph.D (Unpublished). Degree in Biological Sciences University of the Punjab, Lahore. p: 169.

Novotny, V.and Olem, H. 1994. Water Quality, Prevention, Identification and Managementof Diffuse Pollution. New York: Van Nostrans Reinhold

Nuriyani. 2016. Pengaruh perendaman terhadap karakteristik Haemosit dan penurunan kadar logam berat Hg, Cd Dan Pb pada Tiram *Crassostrea Cucullata* dari Perairan Pantai Desa Campurejo Kabupaten Gresik. Tesis. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya. Malang.

- Nurjanah dan R. Widiastuti. 1997. Ancaman dibalik ikan. *Warta Konsumen*, Edisi November No. 11 Tahun XXIII. Jakarta: YLKI.
- Nurinsiyah A. 2008. Studi Beberapa Karakter Keong Air Tawar Genus *Bellamya* (Gastropoda : Viviparidae) dari Pulau Sumatera, Jawa, Kalimantan, Sulawesi, dan Papua Barat serta Hubungan Kekerabatannya. Fakultas MIPA, Universitas Padjadjaran. [Skripsi].
- Nurtoni, R. 1984. "Mutu Kerang Hijau Rebus yang Disimpan Pada Suhu Rendah". Dalam laporan penelitian Teknologi Perikanan. Balai Penelitian Teknologi Perikanan. Jakarta.
- Palar, H. 1994. Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat. Rineka Cipta. Bandung.
- Pantung, N., Kerstin G. Herbert F. Helander dan Voravit c. 2008. Histopathological Alterations of Hybrid Walking Catfish (*Clarias macrocephalus* x *clarias gariepinus*) in Acute and Subacute Cadmium Exposure. *Environment Asia*. 1 (1) : 19-27
- Peranginangin, R., Sumpeno Putro, Suyuti Nasran, dan Jovita Tri Murtini. 1984a. Depurasi kerang hijau (*Mytilus viridis* Linn). *Laporan Penelitian Teknologi Perikanan* (37): p. 20–26.
- Prihatini, W dan A. H. Mulyati 2013. *Depurasi Merkuri Dengan Ozonasi Pada Anadara antiquata Dalam Upaya Keamanan Bahan Pangan*. Program Studi Biologi FMIPA Universitas Pakuan/Program Studi Kimia FMIPA Universitas Pakuan Bogor. Prosiding Seminar Nasional Matematika, Sains, dan Teknologi. Volume 4, Tahun 2013, E.9-E.18
- Purbalisa, W. Dan Mulyadi. 2013. *Pb Dan Cu Pada Badan Air Dan Tanah Sawah Sub-Das Solo Hilir Kabupaten Lamongan*.
- Purnomo, T. dan Muchyiddin, 2007. Analisis kandungan timbal (Pb) pada ikan bandeng (*Chanos chanos* Forsk.) di Tambak Kecamatan Gresik. Surabaya: Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya.
- Putro, S. 2007. *Perdagangan Produk Hasil Perairan : Molluska dan Permasalahannya*. Prosiding Seminar Nasional. Moluska dalam Penelitian, Konservasi dan Ekonomi.
- Pyron, M. and K.M. Brown, 2015. Introduction to Mollusca and the Class Gastropoda, Chapter 18. Elsevier. USA.
- Rangkuti, Freddy. 2001. Analisis SWOT Teknik Membelah Kasus Bisnis. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Roberts A.P., and JT. Oris 2004. Multiple Biomarker Response In Rainbow Trout During Exposure To Hexavalent Chromium. *Comparative Biochemistry And Physiology*, Part C.138:188 – 198.

Roesijadi, G., and B.A. Fowler, 1991. Purification Of Invertebrate Metallothioneins. *Meth. Enzymol.* 205:263–275.

Regoli, F., D. Pellegrini, G.W. Winston, S. Gorbi, S. Giuliani, C. Virno-Lamberti and S. Bompadre, 2002. Application of biomarkers for assessing the biological impact of dredged materials in the Mediterranean: the relationship between antioxidant responses and susceptibility to oxidative stress in the red mullet, (*Mullus barbatus*). *Marine Pollution Bulletin*, 44: 912-919.

Ringwood, H., J. Hoguet, C. Keppler and M. Gielazyn, 2004. Linkages between cellular biomarker responses and reproductive success in oysters - *Crassostrea virginica*. *Marine Environmental Res.*, 58: 151-155.

Riyadi P. H., Anggo A.D., dan Romadhon 2016. Efektifitas Depurasi Untuk Menurunkan Kandungan Logam Berat Pb Dan Cd Dalam Daging Kerang Darah (*Anadara granosa*). *Prosiding Seminar Nasional Tahunan Ke-V Hasil-Hasil Penelitian Perikanan dan Kelautan*. Universitas Diponegoro Semarang.

Rosita N. 2005. Efektivitas Kitosan dalam Menurunkan Kandungan Timbal (Pb) pada Kerang Hijau (*Mytilus viridis*) dengan Sistem Resirkulasi Sederhana [Skripsi]. Bogor: Program Studi Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.

Rohilan, I, 1992, Keadaan Sifat Fisika dan Kimia Perairan di Pantai Zona Industri Krakatau Steel Cilegon, Skripsi, Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan, Institut Pertanian Bogor, Bogor

Rohman, A. 2007. Kimia Farmasi Analisis. Yogyakarta : Pustaka Pelajar.

Ruppert, E.E., R.S. Fox, dan R.D. Barnes. 2004. *Invertebrate Zoology*. Seventh Edition. Thomson, Brooks/Cole.: vii-xvii, 1-963, 11-126

Ryvolova, M., S. Krizkova., V. Adam., M. Beklova., L. Trnkova., J. Hubalek and R. Kizek. 2011. Analytical Methods for Metallothionein Detection. *Current Analytical Chemistry*. 7: 243-261.

Sari, W.P., Bahtiar dan Emiyarti. 2016 Studi Preferensi Habitat Siput Tutut (*Bellamya javanika*) di Desa Amonggedo Kabupaten Konawe. *Jurnal..* Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Halu Oleo. Kendari.

Sarwono, J. 2006. *Metode Penelitian Kuantitatif dan Kualitatif*. Yogyakarta: Graha Ilmu.

Serafim, A., Company, R.M., Bebianno, M.J., Langston, W.J., 2002. Effect of temperature and size on metallothionein synthesis in the gill of *Mytilus galloprovincialis* exposed to cadmium. *Mar. Environ. Res.* 54, 361–365.

Setiawan, I Made. 2007. *Pemeriksaan Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) untuk diagnosis Leptospirosis*. EBERS PAPURUS.

Setyorini, D., Soeparto, dan Sulaeman. 2003. Kadar Logam Berat Dalam Pupuk. Hal 192-199 dalam Risalah seminar peningkatan kualitas lingkungan dan produk pertanian. Kudus, 4 Nopember 2002. Puslittanak, Badan Litbang, Deptan.

Siregar, N. M. 2013. Analisis Kandungan Logam Berat Pb Dan Cd Pada Keong Tutut (Bellamya Javanica V.D Bush 1844) Di Waduk Saguling, Jawa Barat. *Skripsi*. Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Soegianto, A. Primarastri, N. A. dan D. Winarni, 2004. *Pengaruh pemberian kadmium terhadap tingkat kelangsungan hidup dan kerusakan struktur insang dan hepatopankreas pada udang regang [macrobrachium sintangense (de man)]*. Berk. Penel. Hayati: 10 (59-66). Jurusan biologi, fakultas matematika dan ilmu pengetahuan alam universitas airlangga, Surabaya.

Suaniti, N. M. 2007. Pengaruh EDTA dalam Penentuan Kandungan Timbal dan Tembaga pada Kerang Hijau (*Mytilus viridis*). Ecotrophic. 2 (1): 1-7.

Sugiyono, 2007. Statistik untuk penelitian. Penerbit Alfabeta. Bandung . 390 hal

Sugianto,D,N. 1997. Tingkat Bioakumulasi Logam Berat Timbal (Pb) pada Jaringan Lunak kerang Bulu (*Anadora Inflata reeve*). Jurusan Ilmu Kelautan. Universitas Diponegoro, Semarang. 69 p.

Sunarto, 2007. *Bioindikator pencemar logam berat cadmium (Cd) dengan analisis struktur mikroanatomi, efisiensi fungsi insang, morfologi dan kondisi cangkang kerang air tawar (Anodonta woodiana Lea)*. Disertasi S3 Universitas Airlangga. Surabaya.

Sutrisno, C. T. (2002). *Teknologi penyediaan air bersih*. Jakarta: PT. Rineka Cipta

Suharsono, Y. Anwar, U. Widyastuti. 2009. Isolation and Cloning of cDNA of Gene Encoding for Metallothionein Type 2 from Soybean [Glycine max (L.) (Merrill)] cv. Slamet. *Jurnal Biodiversitas*. 10 (3): 109-114.

Sumarni, 1989. Golden Shell Keong Mas Baru Penghuni Aquarium. Trubus No. 240 Th XX November. Yayasan Tani Membangun. Jakarta. Hal 190.

Soemirat J. 2005. *Toksikologi Lingkungan*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.

Suprijanto, J. I. Widowati., P.W. Dyah., Widianingsih dan I. Hermawan. 1997. Bioakumulasi Logam Berat Timah Hitam (Pb) pada Jaringan Lunak Kerang (Anadara sp) : Analisa Kualitatif dan Kuantitatif. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Diponegoro. Semarang. Laporan Hasil Penelitian (Tidak Dipublikasikan). 49 p.

Suryana, 2010. Metode penelitian model praktis penelitian kuantitatif dan kualitaitaif. Universitas pendidikan Indonesia.

Suwarno, F. A. R., Rahayu E., Nanik S., Adi P. R. dan Jola R. 2010. ELISA Teori dan Protokol. Universitas Airlangga: Surabaya.

Tresnati J., M. I. Djawad dan A. S. Bulqys. 2007. *Kerusakan ginjal ikan pari kembang (dasyatis kuhlii) yang diakibatkan oleh logam berat Timbal (Pb)*. J. Sains & teknologi, desember 2007, vol. 7 no. 3: 153–160. Unhas.

Trilaksani, W., Riyanto, B. 2004. *Teknologi Pengolahan Kerang-Kerangan*. Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor.

Umbara, Heru dan Heny Suseno, 2006. Faktor Bioakumulasi Pb Oleh Kerang Darah (*Anadara Granosa*), Pusat Teknologi Limbah Radioaktif. BATAN

Van Campenhout, K., H.G. Infante, F. Adams and R. Blust, 2004. Induction and binding of Cd, Cu and Zn to metallothionein in using PLCICP-TOFMS. *Toxicol. Sci.*, 80: 276-287.

Viarengo, A., Burlando, B., Ceratto, N., Panfoli, I., 2000. Antioxidant role of metallothioneins: a comparative overview. *Cell Mol. Biol.* 46 (2), 407–420.

Wahyuni M. dan S. Widiyanti. 2004. Reduksi kadar merkuri pada kerang hijau (*Mytilus viridis*) di Teluk Jakarta melalui metode asam serta pemanfaatannya dalam metode kerupuk. Prosiding Seminar Nasional dan Temu Usaha. Universitas Sahid, Jakarta. p. 206–190.

Wibawa, 2001. Konsep Dasar Metode Penelitian Pendidikan.

Widowati W., A. Sastiono, dan R. Jusuf. 2008. *Efek Toksik Logam*. Yogyakarta: Penerbit Andi.

Wheaton, F.W. 1977. *Aquacultural Engineering*, second printing. Robert E. Krieger Publishing Company. Malabar, Florida.

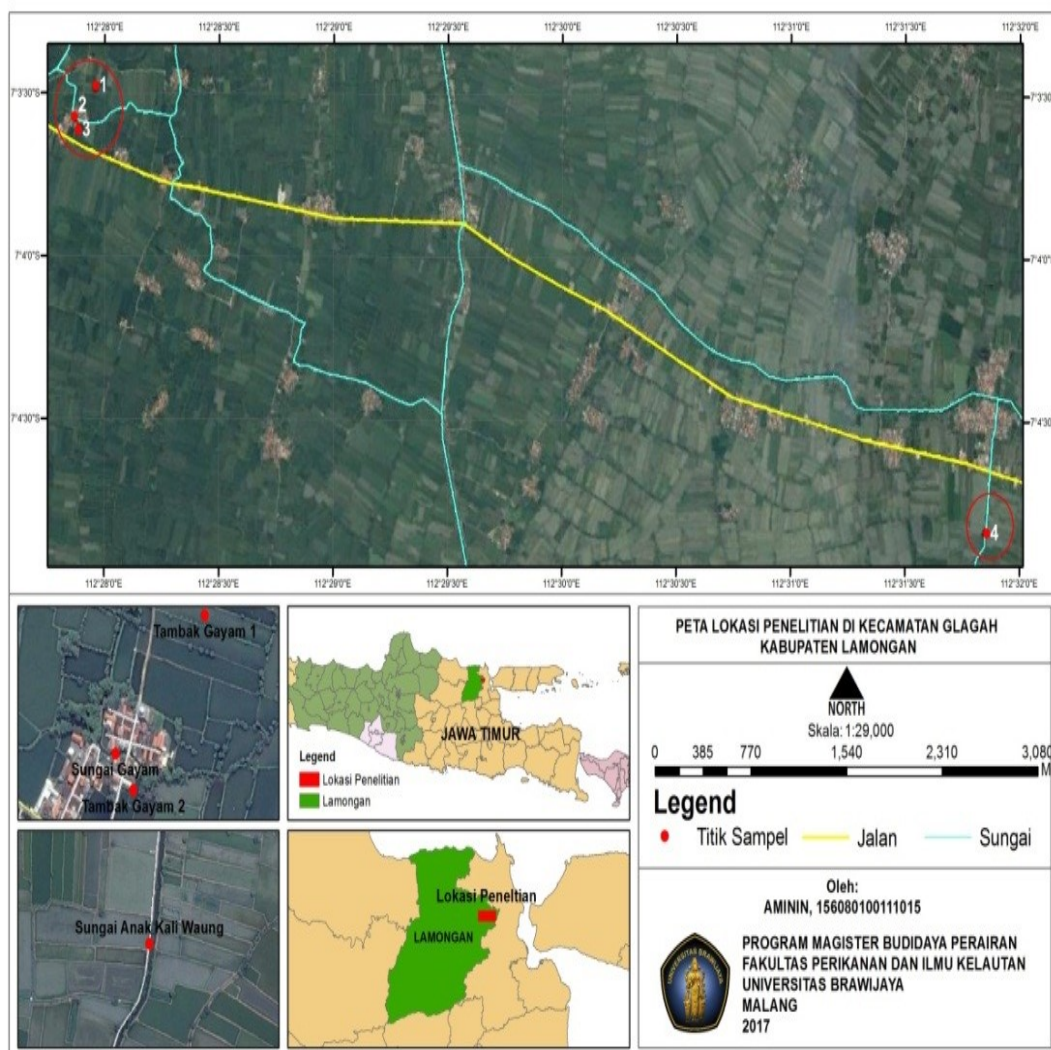
Wood, M.S. 1979. *Subtidal Ecology*. Edward Arnoldy Limited. Australia.

Zatta, P. 2008. *Metallothionein in Biochemistry and Pathology*. World Scientific Publishing Company.

Zangger K, Gong SHEN, Gulin OZ, James D. OTVOS, and Ian M. ARMITAGE. 2001. Oxidative dimerization in metallothionein is a result of intermolecular disulphide bonds between cysteins in the α -domain. *J. Biochem* 359: 353-360.

Zhu S., B. Saucier, J. Durfey, S. Chen and B. Dewey 1999. Waste excretion characteristics of Manila clams (*Tapes philippinarum*) under different temperature conditions. *Aquacultural Engineering* 20:231-144.

Lampiran 1. Peta Lokasi Penelitian



Peta Lokasi Penelitian

Keterangan :

Stasiun 1 (Tambaki Gayam 1)

Stasiun 2 (Sungai Gayam)

Stasiun 3 (Tambak Gayam 2)

Stasiun 4 (Anak sungai Waung)

Lampiran 2. Hasil Pengukuran Kualitas Selama Penggelontoran

Bak	Perlakuan	Parameter Kualitas Air		
		Suhu (°C)	pH	DO (mg/l)
Tambak Gayam 2		30	7.43	3.01
Pengukuran Laboratorium				
A	0 jam	29.8	7.3	2.9
	6 jam	27.5	7.33	3
	12 jam	26.9	7.4	3.3
	18 jam	30.8	7.43	3.3
	24 jam	30.7	7.45	4.1
B	0 jam	29.7	7.3	3
	6 jam	27.7	7.29	2.9
	12 jam	26.9	7.4	3.3
	18 jam	30.1	7.39	3.6
	24 jam	30.5	7.48	4
C	0 jam	30.3	7.2	3
	6 jam	27.9	7.26	2.5
	12 jam	26.9	7.4	3.3
	18 jam	29.7	7.4	3.4
	24 jam	30.4	7.5	4

Lampiran 3. Hasil Uji ANOVA Terhadap Rerata Kandungan Pb Pada Whole Organ Keong Tutut

Descriptives

Pb di Whole

Organ

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
penggelontoran 6 jam	3	2.4640	.10393	.06000	2.2058	2.7192	2.37	2.58
penggelontoran 12 jam	3	2.1343	.14672	.08471	1.7699	2.4988	1.97	2.25
penggelontoran 18 jam	3	1.6413	.18102	.10451	1.1886	2.0910	1.46	1.82
Penggelontoran 24 jam	3	1.2370	.08671	.05006	1.0186	1.4524	1.14	1.31
Total	12	1.8692	.50202	.14492	1.5502	2.1881	1.14	2.58

Test of Homogeneity of Variances

Pb di Whole

Organ

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.518	3	8	.681

ANOVA

Pb di Whole Organ

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.627	3	.876	48.237	.000
Within Groups	.145	8	.018		
Total	2.772	11			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent

Variable : Pb di

Whole Organ

Tukey HSD

(I)	(J) Penggelontoran	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
penggelontoran 6 jam	penggelontoran 12 jam	.32967	.11001	.067	-.0196	.6820
	penggelontoran 18 jam	.81967*	.11001	.000	.4704	1.2050
	Penggelontoran 24 jam	1.19700*	.11001	.000	.8747	1.5793
penggelontoran 12 jam	penggelontoran 6 jam	-.32967	.11001	.067	-.6820	.0196
	penggelontoran 18 jam	.49300*	.11001	.009	.1407	.8453
	Penggelontoran 24 jam	.89733*	.11001	.000	.5450	1.2496
penggelontoran 18 jam	penggelontoran 6 jam	-.81967*	.11001	.000	-1.2050	-.4704
	penggelontoran 12 jam	-.49300*	.11001	.009	-.8453	-.1407
	Penggelontoran 24 jam	.40433*	.11001	.026	.0520	.7566
Penggelontoran 24 jam	penggelontoran 6 jam	-1.19700*	.11001	.000	-1.5793	-.8747
	penggelontoran 12 jam	-.89733*	.11001	.000	-1.2496	-.5450
	penggelontoran 18 jam	-.40433*	.11001	.026	-.7566	-.0520

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

Pb di Whole Organ

Tukey HSD^a

	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Penggelontoran				
Penggelontoran 24 jam	3	1.2370		
penggelontoran 18 jam	3		1.6413	
penggelontoran 12 jam	3			2.1343
penggelontoran 6 jam	3			2.4640
Sig.		1.000	1.000	.067

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.



Lampiran 4. Hasil Uji ANOVA Terhadap Rerata Kandungan Metallothionein pada Whole Organ keong Tutut

Descriptives

MT Whole
Organ

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
penggelontoran 6 jam	3	.82600	.147000	.084870	.46083	1.18820	.709	.991
penggelontoran 12 jam	3	1.03533	.386680	.193250	.07477	1.99590	.778	1.480
penggelontoran 18 jam	3	.95067	.364547	.180471	.04508	1.85625	.675	1.364
penggelontoran 24 jam	3	1.37567	.497239	.287081	.14046	2.61088	.813	1.756
Total	12	1.04692	.381549	.110144	.80449	1.28934	.675	1.756

Test of Homogeneity of Variances

MT Whole
Organ

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.952	3	8	.200

ANOVA

MT Whole Organ	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.499	3	.166	1.207	.368
Within Groups	1.103	8	.138		
Total	1.601	11			

Lampiran 5. Hubungan Kadar Pb Pada “Whole organ” Keong Tutut dengan Lama Penggelontoran

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.971 ^a	.943	.937	.12607

a. Predictors: (Constant), Lama Penggelontoran

ANOVA^b

Model		Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	2.613	1	2.613	164.427	.000 ^a
	Residual	.159	10	.016		
	Total	2.772	11			

a. Predictors: (Constant), Lama Penggelontoran

b. Dependent Variable: Pb pada “Whole organ”

Coefficients^a

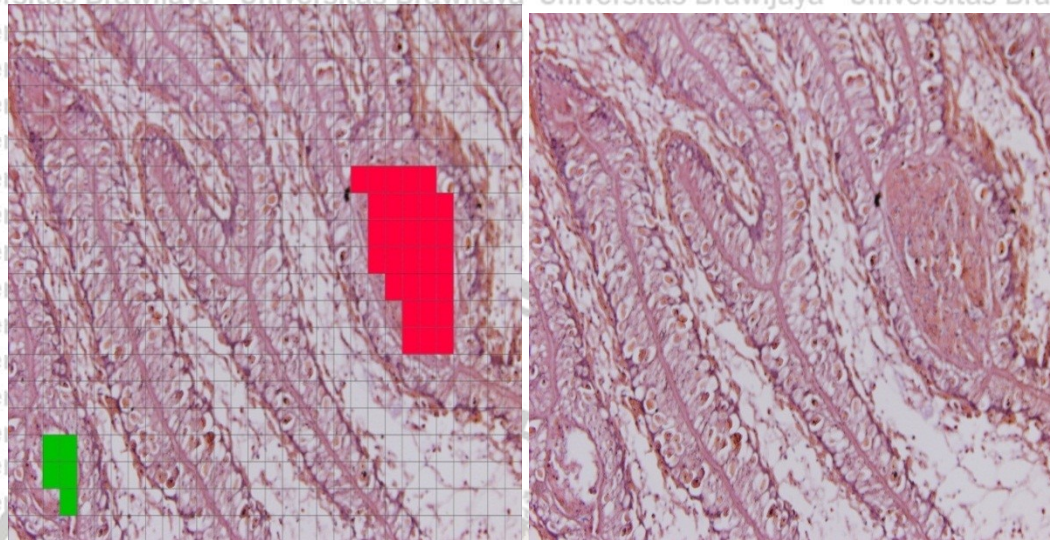
Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.	Correlations		
		B	Std. Error	Beta			Zero-order	Partial	Part
1	(Constant)	2.913	.089		32.673	.000			
	Lama Penggelontoran	-.070	.005	-.971	-12.823	.000	-.971	-.971	-.971

a. Dependent Variable: Pb Pada “Whole organ”

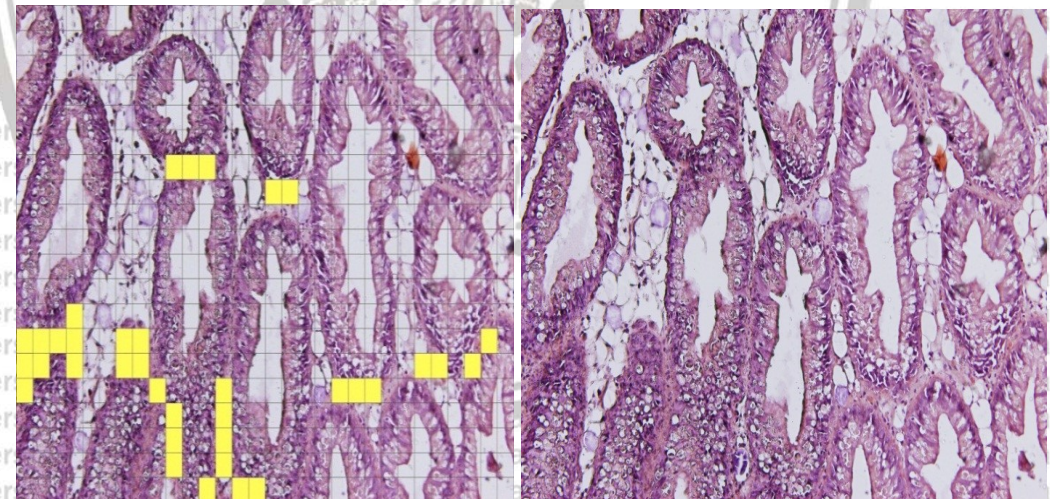


Lampiran 7. Contoh Perhitungan kerusakan Whole organ keong pada jaringan Insang dan dinding lambung

Jaringan insang



Jaringan lambung



Keterangan :



Edema



Hiperplasia



Vakoulasi

Contoh perhitungan kerusakan = $\frac{\text{jumlah jaringan yang rusak}}{\text{jumlah jaringan yang dianalisis}} \times 100\%$

Lampiran 8. Hasil Pemeriksaan Kadar Pb Pada Daging Keong
padapenelitian pendahuluan dengan metode perendaman
dan Penggelontoran.



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA FAKULTAS MIPA
JURUSAN KIMIA

Jl. Veteran, Malang 65145, Jawa Timur, Indonesia Telp : +62-341-575838, fax : +62-341-554403
<http://kimia.ub.ac.id>, email : kimia@ub.ac.id

LAPORAN HASIL ANALISA

NO : H.04 / RT.5 / T.1 / R.0 / TT. 150803 / 2017

1. Data Konsumen
Nama : Aminin
Instansi : Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya
Alamat : Jl. Veteran Malang
Telepon : 085648844222
Status : Mahasiswa-S2
Keperluan Analisis : Uji Kualitas
2. Sampling Dilakukan Oleh : Konsumen
3. Identifikasi Sampel
Nama Sampel : *Daging Keong*
Wujud : Padat
Warna : Hitam
Bau : Berbau
4. Prosedur Analis : Dilakukan oleh UPT Layanan Analisa dan Pengukuran Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya Malang
5. Penyampaian Laporan Hasil Analisis : Diambil Langsung
6. Tanggal Terima Sampel : 14 Februari 2017
7. Data Hasil Analisis :

No	Kode	Parameter	Hasil Analisis		Metode Analisis	
			Kadar	Satuan	Pereaksi	Metode
1	AM	Pb	$2,52 \pm 0,04$	mg/kg	HNO ₃	AAS
2	P1	Pb	$1,87 \pm 0,07$	mg/kg	HNO ₃	AAS
3	P2	Pb	$1,66 \pm 0,09$	mg/kg	HNO ₃	AAS

Catatan:

1. Hasil analisis ini adalah nilai rata-rata pengerjaan analisis secara duplo,
2. Hasil analisis ini hanya berlaku untuk sampel yang kami terima dengan kondisi sampel saat itu.



Dr. Edi Priyo Utomo, MS

Malang, 21 Februari 2017

Ketua UPT Layanan Analisa dan Pengukuran,

Dra. Sri Wardhani, M.Si

Lampiran 9. Hasil Pemeriksaan Kadar Pb Pada Kadar Air Media yang digunakan Untuk Penggelontoran



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA FAKULTAS MIPA
JURUSAN KIMIA

Jl. Veteran, Malang 65145, Jawa Timur, Indonesia Telp : +62-341-575838, fax : +62-341-554403
<http://kimia.ub.ac.id>, email : kimia@ub.ac.id

LAPORAN HASIL ANALISA

NO : A.13 / RT.5 / T.1 / R.0 / TT. 150803 / 2017

1. Data Konsumen
Nama : Aminin
Instansi : Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya
Alamat : Jl. Veteran Malang
Telepon : 085648844222
Status : Mahasiswa-S2
Keperluan Analisis : Uji Kualitas
2. Sampling Dilakukan Oleh : Konsumen
3. Identifikasi Sampel
Nama Sampel : *Air Laboratorium Reproduksi FPIK*
Wujud : Cair
Warna : Bening
Bau : Tidak Berbau
4. Prosedur Analis : Dilakukan oleh UPT Layanan Analisa dan Pengukuran Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya Malang
5. Penyampaian Laporan Hasil Analisis : Diambil Langsung
6. Tanggal Terima Sampel : 05 Mei 2017
7. Data Hasil Analisis :

No	Kode	Parameter	Hasil Analisis		Metode Analisis	
			Kadar	Satuan	Pelarut	Metode
1	AR	Pb	Tidak Terdeteksi	mg/L	HNO ₃	AAS

Catatan:

1. Hasil analisis ini adalah nilai rata-rata pengerjaan analisis secara duplo,
2. Hasil analisis ini hanya berlaku untuk sampel yang kami terima dengan kondisi sampel saat itu.



Masruri, S.Si., M.Si., Ph.D
NIP. 19731020 200212 1 001

Malang, 12 Mei 2017

Ketua UPT Layanan Analisa dan
Pengukuran,

Moh. Farid Rahman, S.Si., M.Si
NIP. 19700720 199702 1 001

Lampiran 10. Hasil Penelitian Pendahuluan Tahap 1 Kadar Pb Pada Sawah dan Tambak Di Kecamatan Glagah, Kabupaten Lamongan.



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA FAKULTAS MIPA
JURUSAN KIMIA

Jl. Veteran, Malang 65145, Jawa Timur, Indonesia Telp : +62-341-575838, fax : +62-341-554403
<http://kimia.ub.ac.id>, email : kimia@ub.ac.id

LAPORAN HASIL ANALISA

NO : H.02 / RT.5 / T.1 / R.0 / TT. 150803 / 2017

1. Data Konsumen
Nama : Aminin
Instansi : Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya
Alamat : Jl. Veteran Malang
Telepon : 08564884222
Status : Mahasiswa-S2
Keperluan Analisis : Uji Kualitas
2. Sampling Dilakukan Oleh : Konsumen
3. Identifikasi Sampel
Nama Sampel : *Daging Keong*
Wujud : Padat
Warna : Hitam dan Coklat
Bau : Tidak Berbau
4. Prosedur Analis : Dilakukan oleh UPT Layanan Analisa dan Pengukuran Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya Malang
5. Penyampaian Laporan Hasil Analisis : Diambil Langsung
6. Tanggal Terima Sampel : 24 Januari 2017
7. Data Hasil Analisis :

No	Kode	Parameter	Hasil Analisis		Metode Analisis	
			Kadar	Satuan	Pereaksi	Metode
1	SW	Pb	$4,48 \pm 0,10$	mg/kg	HNO ₃	AAS
2	SBB	Pb	$0,59 \pm 0,10$	mg/kg	HNO ₃	AAS
3	TS1	Pb	$3,55 \pm 0,10$	mg/kg	HNO ₃	AAS
4	TS2	Pb	$2,97 \pm 0,04$	mg/kg	HNO ₃	AAS
5	TD1	Pb	$2,45 \pm 0,09$	mg/kg	HNO ₃	AAS
6	TD2	Pb	$1,44 \pm 0,09$	mg/kg	HNO ₃	AAS

Catatan:

1. Hasil analisis ini adalah nilai rata-rata pengerjaan analisis secara duplo,
2. Hasil analisis ini hanya berlaku untuk sampel yang kami terima dengan kondisi sampel saat itu.

Mengetahui:
Ketua Jurusan Kimia,



Malang, 02 Februari 2017

Ketua UPT Layanan Analisa dan
Pengukuran

Lampiran 11. Hasil Pemeriksaan Kadar Metallothionein Pada Whole Organ Keong Setelah Penggelontoran.



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

FAKULTAS KEDOKTERAN

LABORATORIUM ILMU FAAL

Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia

Telp. (62) (0341) 569117, 567192 Ext 115 - Fax. (62) (0341) 564755

http://www.fk.ub.ac.id

e-mail : faal.fk@ub.ac.id

HASIL PEMERIKSAAN

Pengirim Sampel : Aminin, Spi

Laboran : Haris Krido W., A.Md

Instansi : Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan UB

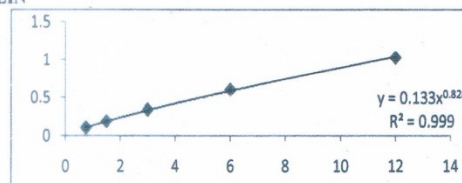
Jumlah Sampel yang diterima : 16 sampel (Jaringan)

No. Lab : 2017.1864

Jenis Pemeriksaan : Elisa

KURVA STANDART METALLOTHIONEIN

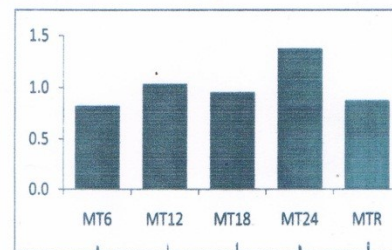
No	Kadar (ng/ml)	Abs
1	12	1.024
2	6	0.599
3	3	0.333
4	1.5	0.186
5	0.75	0.104



HASIL UJI

No	Sampel	Abs	Kadar (ng/ml)
1	MT6 a	0.132	0.991
2	MT6 b	0.108	0.778
3	MT6 c	0.100	0.709
	rata-rata		0.826
4	MT12 a	0.116	0.848
5	MT12 b	0.108	0.778
6	MT12 c	0.184	1.480
	rata-rata		1.035
7	MT18 a	0.112	0.813
8	MT18 b	0.096	0.675
9	MT18 c	0.172	1.364
	rata-rata		0.950
10	MT24 a	0.212	1.756
11	MT24 b	0.192	1.558
12	MT24 c	0.112	0.813
	rata-rata		1.376
13	MTR a	0.112	0.813
14	MTR b	0.108	0.778
15	MTR c	0.136	1.027
	rata-rata		0.873

Sampel	Kadar (ng/ml)
MT6	0.826
MT12	1.035
MT18	0.950
MT24	1.376
MTR	0.873



Malang, 6 Oktober 2017

Ka. Div. Fisiologi Molekuler Lab. Ilmu Faal FKUB

Edwin Widodo, Ssi., MSc., PhD.

NIP. 19810504 200501 1 001

Lampiran 12. Dokumentasi Penelitian

Nama Alat/ Bahan /Kegiatan

Gambar

DO meter



Alat bedah



pH Meter



Microtom



Salinometer



Microscop



Mikrometer



Supervisi



Aktifitas penggelontoran



Sampel Whole Organ Keong



Alkohol 70 %



Aquades



Formalin 10 %



Fish MT ELISA



Pengamatan Kondisi Keong Selama
Penggelontoran



Pengamatan Histologi pada "Whole Organ" Keong



"Whole Organ" Keong
(Tanpa cangkang)

