

HUBUNGAN KADAR LOGAM BERAT Pb, Cd, Hg TERHADAP
METALLOTHIONEIN (MT) PADA TIRAM *Crassostrea iredalei* DAN TIRAM
Crassostrea glomerata DI PESISIR KECAMATAN GRESIK, KABUPATEN
GRESIK

SKRIPSI
PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN

Oleh:

CORNELIUS HENRY FERDIANTO
NIM. 135080101111020



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2017



**HUBUNGAN KADAR LOGAM BERAT Pb, Cd, Hg TERHADAP
METALLOTHIONEIN (MT) PADA TIRAM *Crassostrea iredalei* DAN TIRAM
Crassostrea glomerata DI PESISIR KECAMATAN GRESIK, KABUPATEN
GRESIK**

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

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

Oleh:

**CORNELIUS HENRY FERDIANTO
NIM. 135080101111020**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2017**

SKRIPSI

HUBUNGAN KADAR LOGAM BERAT Pb, Cd, Hg TERHADAP METALLOTHIONEIN (MT) PADA TIRAM *Crassostrea iredalei* DAN TIRAM *Crassostrea glomerata* DI PESISIR KECAMATAN GRESIK, KABUPATEN GRESIK

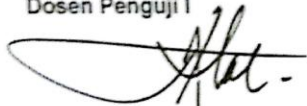
Oleh :

CORNELIUS HENRY FERDIANTO

NIM. 135080101111020


Telah dipertahankan di depan penguji pada tanggal 22 Juni 2017 dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dosen Penguji I



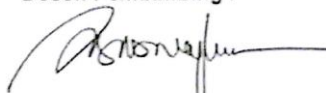
Prof. Dr. Ir. Diana Arfiati, MS
NIP. 19591230 198503 2 002
Tanggal: 18 JUL 2017

Dosen Penguji II



Prof. Dr. Ir. Endang Yuli H., MS
NIP. 19570704 198403 2 001
Tanggal: 18 JUL 2017

Menyetujui,
Dosen Pembimbing I



Dr. Agus Maizar S.H., S.Pi, MP
NIP. 19720529 200302 1 001
Tanggal: 18 JUL 2017

Dosen Pembimbing II



Nanik Retno Buwono, S.Pi, MP
NIP. 19840420 201404 2 002
Tanggal: 18 JUL 2017



Mengetahui
Ketua Jurusan

Dr. Ir. Arning Wilujang Ekawati, MS
NIP. 19620805 198003 2 001
Tanggal: 18 JUL 2017

18 JUL 2017

PERNYATAAN ORISINALITAS

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

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

Malang, Mei 2017

Mahasiswa,

Cornelius Henry Ferdianto



UCAPAN TERIMAKASIH**Disampaikan Terima Kasih Kepada**

Direktorat Riset Dan Pengabdian Masyarakat
Direktorat Jenderal Penguatan Riset Dan Pengembangan
Kementerian Riset, Teknologi, Dan Pendidikan Tinggi

Yang Telah Membiayai :

Skema Penelitian BOPTN Unggulan Perguruan Tinggi Nomor :
063/SP2H/LT/DRPM/IV/2017, Tanggal 3 April 2017

DENGAN JUDUL :

“Hubungan Kadar Logam Berat Pb, Cd, Hg Terhadap Metallothionein (MT) Pada
Tiram *Crassostrea iredalei* Dan Tiram *Crassostrea glomerata* Di Pesisir
Kecamatan Gresik, Kabupaten Gresik”

Sebagai Ketua Peneliti : Dr. Asus Maizar, S.H., S.Pi, MP

Anggota Tim Penelitian Sebagai Berikut :

1. Roudhotun Naila (135080101111123)
2. Bela Surya Kurniasari (135080101111100)
3. Sfrintadevi Nindy R. (135080101111016)
4. Aster Celine R. (135080100111030)
5. Fitria Nurul Aini (135080100111049)
6. M. Fachri Eki (135080101111103)
7. Cornelius Henry Ferdianto (135080101111020)
8. Septian Bagus (135080101111001)
9. Fany Saraswati (135080100111002)
10. Agustina Ainur Rahma (135080100111035)
11. Khoirun Niša Eka P. (135080101111056)

Ketua Peneliti,

(Dr. Asus Maizar, S.H., S.Pi, MP)

NIP. 19720529 200312 1 001



UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada :

1. Tuhan Yang Maha Esa atas segala Rahmat dan Karunia-Nya karena penulis diberikan kesehatan, keselamatan dan petunjuk hingga laporan skripsi ini dapat terselesaikan dengan lancar.
2. Kedua orang hebat yang selalu memberikan dorongan semangat, materi, dana serta doa dalam proses penyusunan laporan skripsi yaitu Bapak Heri Sulistyono dan Ibu F Linda Utari selaku kedua orang tua.
3. Dr.Ir. Asus Maizar S.H., S.Pi, MP dan Ibu Nanik Retno Buwono, S.Pi, MP selaku dosen pembimbing yang telah memberikan ilmu dan sarannya kepada penulis, sehingga penulis mampu menyelesaikan laporan ini.
4. Bapak Udin selaku Laboran Budidaya dan Mas Harris sebagai laboran Fakultas Kedokteran Universitas brawijaya.
5. Teman satu tim bimbingan skripsi TIM TIRAM yang telah banyak membantu dan memberi saran serta semangat.
6. Teman-teman PEJUANG SKRIPSI MSP terutama Dianita Putri Puspitasari, Izhar Bazlin Al Hazmi, Syamsul Ma'Ariz, Syaiful Anam, Anandhita R, Khoirun Nisa E P, Srintadevi Nindy R, Farouq Syahronthi M, Viqy Ika S.
7. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu dan telah membantu dalam proses penyelesaian laporan ini.

Malang, 29 Mei 2017

Penulis,

Cornelius Henry Ferdianto

RINGKASAN

Cornelius Henry Ferdianto.135080101111020. Hubungan Kadar Logam Berat Pb, Cd, Hg Terhadap Metallothionein (MT) Pada Tiram *Crassostrea Iredalei* Dan Tiram *Crassostrea Glomerata* Di Pesisir Kecamatan Gresik, Kabupaten Gresik (dibawah Bimbingan **Dr. Asus Maizar S.H., S. Pi, MP dan Nanik Retno Buwono, S.Pi, MP**).

Bahan pencemar yang sering kali ditemukan diperairan adalah Timbal (Pb), Kadmium (Cd) dan Merkuri (Hg), logam tersebut juga ditemukan di dalam tubuh tiram. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret 2017, bertujuan untuk menganalisis kadar Pb, Cd, Hg di air, insang dan lambung serta kadar MT pada insang dan lambung Tiram *Crassostrea iredalei* dan *Crassostrea glomerata* di pesisir Gresik, disamping itu juga menganalisis hubungan kadar logam berat pada insang dan lambung terhadap kadar MT *Crassostrea iredalei* dan *Crassostrea glomerata*.

Penelitian ini menggunakan metode survei dengan penjelasan deskriptif melalui penentuan titik sampling yaitu stasiun 1 berada di daerah pelabuhan, stasiun 2 di daerah muara sungai di dekat pelabuhan utama dan stasiun 3 di daerah tempat pelelangan ikan (TPI). Tiram yang telah dikumpulkan dari lokasi penelitian kemudian diberi aerasi dalam wadah, kemudian dibawa ke laboratorium untuk dibedah guna mengambil jaringan insang dan lambung. Analisis kadar logam berat (Pb, Cd, Hg) pada air, insang dan lambung tiram menggunakan metode AAS serta untuk mengetahui kadar metallothionein pada insang dan lambung tiram menggunakan metode ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*). Pengamatan kualitas air dilakukan di lapang terdiri dari suhu, derajat kesaman (pH), oksigen terlarut (DO) dan Salinitas.

Kadar logam berat pada Tiram *Crassostrea iredalei* dan *Crassostrea glomerata* Pb tertinggi yaitu 0,613 mg/l pada lokasi di dekat TPI dan pengolahan ikan karena lokasi tersebut dekat dengan buangan limbah pupuk dan pestisida. rata-rata Cd tertinggi (0,361 mg/l) dan Hg tertinggi (0,241 mg/l) diperoleh di pelabuhan dan muara sungai. Kedua jenis logam tersebut diduga berasal dari cat pelindung kapal dan limbah yang terbawa oleh aliran sungai dari bagian hulu. Hasil analisis kadar MT pada Tiram *Crassostrea iredalei* rata-rata tertinggi di stasiun 1, pada insang (11.150 ng/ml) dan lambung (6.350 ng/ml). Sedangkan kadar metallothionein pada Tiram *Crassostrea glomerata* didapatkan hasil rata-rata tertinggi di stasiun 2 pada insang (15.700 ng/ml) dan lambung (6525 ng/ml). Logam berat Pb, Cd dan Hg pada insang dan lambung tiram *Crassostrea iredalei* dan *Crassostrea glomerata* memiliki hubungan yang sangat kuat dengan koefisien korelasi lebih dari 97 %. Kadar logam berat pada insang dan lambung dari kedua jenis tiram tidak berbeda nyata.

Hasil analisis kualitas air dari lokasi penelitian masih berada dalam kisaran yang baik untuk kehidupan biota air yaitu suhu didapatkan kisaran nilai 22,3°C – 29,9°C, nilai pH 8, salinitas 16‰ – 28‰ dan oksigen terlarut berkisar antara 4 - 7,9 ppm. Kadar metallothionein sangat berkorelasi dengan kadar logam berat (Pb, Cd, Hg), sehingga dapat digunakan untuk menduga keadaan lingkungan pesisir.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan YME, karena berkat rahmat dan penyertaan Nya penulis dapat menyelesaikan Laporan Penelitian Skripsi yang berjudul **“HUBUNGAN KADAR LOGAM BERAT Pb, Cd, Hg TERHADAP METALLOTHIONEIN (MT) PADA TIRAM *Crassostrea iredalei* DAN TIRAM *Crassostrea glomerata* DI PESISIR KECAMATAN GRESIK, KABUPATEN GRESIK”**. Dalam penyusunan Laporan Penelitian Skripsi ini tentunya tidak sedikit hambatan yang hadapi. Namun penulis menyadari bahwa dalam penyusunan Laporan Penelitian Skripsi ini berjalan dengan baik atas bantuan, dorongan dan bimbingan dari orang tua maupun dosen Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Sangat disadari bahwa masih terdapat kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki penulis, oleh karena itu penulis mengharapkan saran yang membangun agar tulisan ini bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, Mei 2017

Penulis



DAFTAR ISI

SAMPUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
UCAPAN TERIMAKASIH	iv
RINGKASAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Kegunaan.....	5
1.5 Waktu dan Tempat.....	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Tiram.....	7
2.1.1 <i>Crassostrea iredalei</i>	7
2.1.2 <i>Crassostrea glomerata</i>	9
2.2 Logam Berat.....	10
2.2.1 Timbal (Pb).....	11
2.2.2 Kadmium (Cd).....	12
2.2.3 Merkuri (Hg).....	12
2.2.4 Mekanisme penyerapan logam pada Tiram.....	13
2.3 Metallothionein (MT).....	14
2.4 Pengikatan Logam Berat oleh Metallothionein (MT).....	16
2.5 Pengamatan Metallothionein (MT) dengan Metode ELISA.....	18
2.6 Kondisi Fisika dan Kimia Perairan.....	19
2.6.1 Suhu.....	19
2.6.2 Derajat Keasaman (pH).....	19
2.6.3 Oksigen Terlarut (DO).....	20
2.6.4 Salinitas.....	20
3. MATERI DAN METODE PENELITIAN	22
3.1 Materi Penelitian.....	22
3.2 Alat dan Bahan.....	22
3.1.1 Alat.....	22



3.1.2 Bahan	22
3.3 Metode Penelitian	22
3.4 Jenis dan Sumber Data	23
3.4.1 Data Primer	23
3.4.2 Data Sekunder.....	25
3.5 Prosedur Penelitian	25
3.5.1 Penentuan Stasiun Penelitian.....	25
3.5.2 Pengambilan sampel tiram <i>Crassostrea iredalei</i> dan <i>Crassostrea glomerata</i>	26
3.5.3 Pengukuran sampel tiram <i>Crassostrea iredalei</i> dan <i>Crassostrea glomerata</i>	27
3.6 Analisis Kualitas Air	27
3.7 Prosedur Pengujian Sampel	30
3.8 Analisis Data.....	34
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	37
4.1 Keadaan Umum Pesisir Kecamatan Gresik	37
4.2 Deskripsi Stasiun Pengamatan	38
4.3 Sebaran Ukuran Tiram <i>Crassostrea iredalei</i> dan <i>Crassostrea</i> <i>glomerata</i>	40
4.4 Analisis Logam Berat	43
4.4.1 Kadar Logam Berat di Air.....	43
4.4.2 Kadar Logam Berat di Insang Lambung <i>Crassostrea iredalei</i> dan <i>Crassostrea glomerata</i>	47
4.5 Analisis Metallothionein	50
4.5.1 Kadar Metallothionein pada <i>Crassostrea iredalei</i>	50
4.5.2 Kadar Metallothionein pada <i>Crassostrea glomerata</i>	51
4.6 Hubungan Kadar Logam Berat Pb, Cd, Hg Dengan Metallothionein pada Tiram <i>Crassostrea iredalei</i> dan <i>Crassostrea glomerata</i>	53
4.7 Analisis Kualitas Air	58
5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	62
5.1 Kesimpulan.....	62
5.2 Saran.....	63
DAFTAR PUSTAKA.....	64

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Alur Perumusan Masalah.....	4
2. <i>Crassostrea iredalei</i> (Idris, 2006).....	8
3. Pandangan <i>Crassostrea glomerata</i> (Gould., 1850 dalam Encyclopedia of Life 2013).....	10
4. Peta lokasi stasiun pengambilan sampel tiram.....	26
5. Cangkang tiram (Galtsoff, 1964).....	27
6. Peta Wilayah Gresik.....	38
7. Stasiun Pengambilan Sampel 1.....	39
8. Stasiun Pengambilan Sampel 2.....	39
9. Stasiun Pengambilan Sampel 3.....	40
10. Grafik Hasil Ukuran Tiram <i>Crassostrea iredalei</i>	41
11. Grafik Hasil Ukuran Tiram <i>Crassostrea glomerata</i>	42
12. Data Hasil Logam Berat di Perairan.....	44
13. Grafik Rata- Rata Hasil Pengukuran Kadar Logam Berat pada <i>Crassostrea iredalei</i> dan <i>Crassostrea glomerata</i>	47
14. Grafik Rata-Rata MT pada <i>Crassostrea iredalei</i>	50
15. Grafik Rata-Rata MT pada <i>Crassostrea glomerata</i>	52
16. (A) Hubungan logam berat dengan MT pada insang <i>Crassostrea iredalei</i> , (B) Hubungan logam berat dengan MT pada lambung <i>Crassostrea iredalei</i>	54
17. (A) Hubungan logam berat dengan MT pada insang <i>Crassostrea glomerata</i> , (B) Hubungan logam berat dengan MT pada lambung <i>Crassostrea glomerata</i>	54



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat Penelitian.....	70
2. Bahan Penelitian.....	72
3. Data Hasil Pengukuran Sebaran Ukuran Tiram.....	74
4. Data Hasil Pengukuran Logam Berat pada Air.....	75
5. Data Hasil Pengukuran Logam Berat pada Tiram <i>Crassostrea iredalei</i>	76
6. Data Hasil Pengukuran Logam Berat pada Tiram <i>Crassostrea glomerata</i>	77
7. Hasil Perbandingan Rata-Rata antara Ukuran Tiram dengan Logam Berat (Pb, Cd, Hg) pada Insang dan Lambung Tiram <i>Crassostrea iredalei</i> dan <i>Crassostrea glomerata</i>	79
8. Data Hasil Pengukuran Methallotionein.....	80
9. Hubungan logam berat dengan kadar metallothionein pada insang dan lambung tiram <i>Crassostrea iredalei</i> dan <i>Crassostrea glomerata</i>	81
10. Hasil Analisis dengan Uji T pada Aplikasi SPSS 16.0.....	94
11. Dokumentasi Penelitian.....	96



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Wilayah pesisir merupakan suatu wilayah yang mempertemukan daratan dengan lautan, meliputi daerah pasang surut, daerah pemukiman warga serta daerah laut yang masih dipengaruhi oleh proses alamiah dari daratan seperti sedimentasi, aliran sungai, aliran air tawar serta kegiatan manusia yang dapat mempengaruhi kondisi pesisir dengan adanya limbah yang dihasilkan (Kementerian Lingkungan Hidup, 2011). Banyak limbah manusia di wilayah pesisir juga mengandung logam berat. Pencemaran logam dipengaruhi oleh terbawanya air, udara dan masyarakat pesisir itu sendiri dalam melakukan proses perekonomian.

Logam berat merupakan salah satu bahan pencemar berbahaya karena sifatnya yang tidak mudah diuraikan. Dalam proses industri dan teknologi, air limbah yang akan dibuang ke lingkungan perairan. Pabrik kurang memiliki fasilitas kebersihan dengan mengeluarkan air limbah tidak melalui proses daur ulang terlebih dahulu sehingga menghasilkan pencemaran lingkungan perairan (Putranto, 2011). Logam berat akan terkonsentrasi ke dalam tubuh makhluk hidup dengan proses bioakumulasi dan biomagnifikasi melalui beberapa jalan yaitu melalui saluran pernapasan, saluran makanan dan melalui kulit (Darmono, 2001).

Logam berat banyak terdapat dalam limbah industri seperti industri penyulingan minyak bumi, pertambangan, pupuk, semen, pembakaran batu bara, kosmetika dan obat-obatan. Merkuri (Hg) dan timah hitam (Pb) merupakan jenis logam berat yang paling berbahaya, karena dalam jumlah yang relatif rendah sekalipun sudah dapat mengganggu kesehatan manusia. Kadar logam berat dalam lingkungan perairan dapat dipantau dengan menganalisis contoh sedimen,

air, dan organisme yang hidup di perairan tersebut. Organisme perairan yang sering digunakan sebagai bioindikator pencemaran diantaranya adalah hewan-hewan moluska benthik, infauna maui atau disebut epifauna (Amnan, 1996).

Methallothionein (MT) adalah protein non-enzimatik yang mempunyai kandungan sistein tinggi, tidak mempunyai asam amino aromatik dan tidak stabil oleh panas. Gugus tiol dari kelompok ini (-SH) merupakan residu sistein yang memungkinkan MT mengikat logam berat. MT dilaporkan terdapat pada vertebrata, termasuk banyak spesies ikan dan avertebrata air, terutama pada moluska. Fungsi Metallothionein diperkirakan terlibat pada proses homeostasi detoksifikasi kelebihan logam esensial dan non esensial (Hertika, 2016).

Metallothionein dapat berfungsi sebagai biomarker pencemaran logam berat pada perairan, sehingga dapat digunakan sebagai alat untuk monitoring lingkungan perairan yang tercemar logam berat. Sebagaimana dalam penelitian Dewi *et al.* (2014), ekspresi metallothionein pada uji hati ikan yang didapatkan dari Sungai Kaligarang dan Balai Benih Ikan Ungaran menghasilkan adanya metallothionein Cd pada hati ikan dari sampel Sungai Kaligarang, sedangkan sampel hati ikan dari Balai Benih Ikan Ungaran tidak terdapat metallothionein. Hal tersebut dikarenakan sungai kaligarang terpapar logam berat berjenis Cd.

Sesuai hasil uji dengan menggunakan metode AAS, air Sungai Kaligarang terpapar logam berat Cd sebesar 0,006 ppm sedangkan pada air Balai Benih Ikan Ungaran tidak terdapat adanya paparan logam berat Cd. Dengan demikian metallothionein hanya muncul pada organ yang terpapar logam berat. Hal ini didasarkan pada suatu fenomena alam di mana logam-logam dapat tersekap di dalam jaringan tubuh organisme yang dimungkinkan karena adanya protein tersebut.

Masyarakat di pesisir Kecamatan Gresik banyak memanfaatkan biota laut sebagai makanan sehari-hari seperti ikan, kepiting, kerang dan tiram. Masyarakat

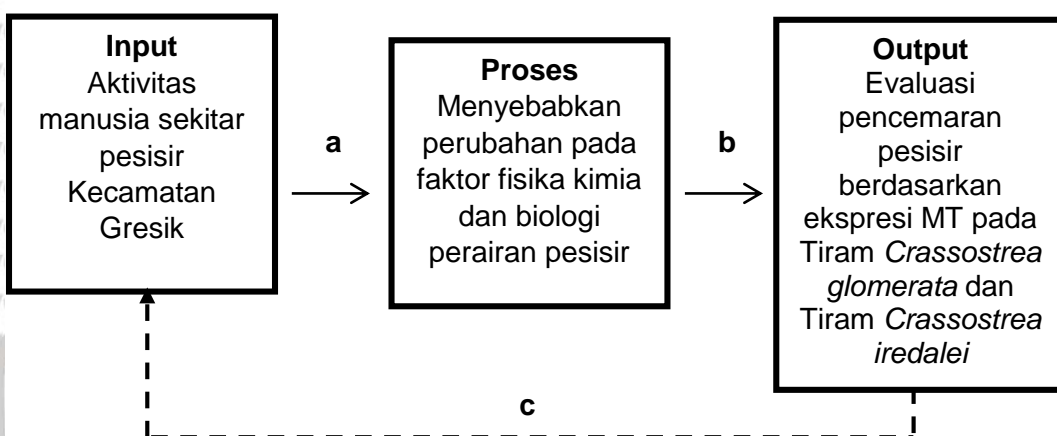
banyak mendapatkan tiram dari hasil melaut sampai melakukan pengambilan di karang dan dinding beton pelabuhan maupun TPI. Tiram banyak hidup menempel pada substrat terlebih dinding beton pelabuhan. Tiram termasuk spesies makrofauna benthik, tiram juga masuk kedalam salah satu bioindikator terbaik dalam mengetahui tingkat kontaminasi logam berat di suatu daerah pesisir. Tiram merupakan biota yang sangat dapat terkontaminasi logam berat, karena sifatnya yang *filter feeder*, sehingga biota ini sering digunakan sebagai hewan uji dalam pemantauan tingkat akumulasi logam berat pada organisme laut (Wulandari *et al.*, 2012).

Tiram dapat melakukan proses bioakumulasi dengan menyerap kandungan logam pada perairan. Oleh karena itu diperlukan data informasi mengenai kandungan metallothionein pada insang dan lambung tiram *Crassostrea iredalei* dan tiram *Crassostrea glomerata* yang terpapar oleh adanya logam berat Pb, Cd, Hg di pesisir Kecamatan Gresik, Kabupaten Gresik. Pada lokasi stasiun pengambilan sampel di wilayah pesisir Kecamatan Gresik banyak ditemukan tiram *Crassostrea iredalei* dan tiram *Crassostrea glomerata*. Selain itu belum adanya penelitian tentang perbandingan ekspresi metallothionein pada tiram *Crassostrea iredalei* dan tiram *Crassostrea glomerata* juga menjadi dasar dalam memilih kedua jenis tiram tersebut. Dengan menganalisis kandungan metallothionein yang terdapat pada insang dan lambung tiram menggunakan metode ELISA, diharapkan dapat mengetahui tingkat pencemaran logam berat Pb, Cd, Hg yang terdapat di pesisir Kecamatan Gresik.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan studi pendahuluan di pesisir Kecamatan Gresik, dapat diketahui bahwa di sekitar daerah tersebut terdapat berbagai aktivitas manusia seperti perikanan, pemukiman dan kegiatan lainnya yang dapat menyebabkan

penurunan kualitas air dan mempengaruhi kandungan logam berat seperti Pb, Cd dan Hg yang ada di perairan tersebut. Salah satu contoh, hasil dari kegiatan transportasi nelayan seperti kebocoran bahan bakar kapal akan menghasilkan limbah logam berat Pb. Kegiatan tersebut dapat mempengaruhi kandungan metallothionein pada tubuh sebagai protein untuk mengikat logam berat. Adapun bagan alur perumusan masalah pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Alur Perumusan Masalah

Keterangan:

- Aktivitas manusia di sekitar pesisir Kecamatan Gresik seperti industri batu bara, industri rumah tangga dan transportasi laut yang banyak menimbulkan pencemaran logam berat melalui limbah yang dihasilkan, sehingga dapat mempengaruhi perubahan kualitas air oleh adanya pencemaran kandungan logam berat seperti Pb, Cd dan Hg pada perairan.
- Masuknya logam berat Pb, Cd dan Hg tersebut akan mengakibatkan perubahan pada faktor fisika, kimia dan biologi air.
- Dengan menganalisis ekspresi metallothionein yang terdapat pada lambung, insang tiram *Crassostrea iredalei* dan tiram *Crassostrea glomerata* sebagai biomarker pencemaran logam berat Pb, Cd dan Hg,

diharapkan dapat dijadikan sebagai sumber informasi dalam upaya pengelolaan wilayah pesisir Kecamatan Gresik.

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian skripsi adalah:

1. Menganalisis kadar logam berat (Pb, Cd, Hg) pada perairan, insang dan lambung Tiram *Crassostrea iredalei* dan tiram *Crassostrea glomerata* di Pesisir Kecamatan Gresik.
2. Menganalisis kadar methallotionein pada insang dan lambung Tiram *Crassostrea iredalei* dan tiram *Crassostrea glomerata*.
3. Menganalisis hubungan kadar logam berat pada insang dan lambung Tiram *Crassostrea iredalei* dan tiram *Crassostrea glomerata* dengan kadar methallotionein.

1.4 Kegunaan

Kegunaan dari penelitian ini adalah untuk memberikan informasi data mengenai hubungan antara kadar metallothionein pada insang dan lambung tiram *Crassostrea iredalei* dan tiram *Crassostrea glomerata* dengan kadar logam berat Pb, Cd, Hg di perairan pesisir Kecamatan Gresik. Untuk mengetahui keadaan kualitas air pada pesisir Kecamatan Gresik. Data yang dihasilkan dapat menjadi titik acuan dalam pengelolaan wilayah pesisir Kecamatan Gresik serta dapat menjadi sumber ilmu dan teknologi di bidang biomarker lingkungan dengan mengetahui kadar metallothionein pada tubuh tiram.

1.5 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret 2017 di pesisir Kecamatan Gresik, Kabupaten Gresik, Jawa Timur. Untuk kegiatan analisis kandungan metallothionein dilakukan di Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran, analisis



kandungan logam berat Pb, Cd, Hg dilakukan di Laboratorium Kimia Fakultas
Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA).



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tiram

Tiram termasuk spesies makrofauna benthik, merupakan salah satu bioindikator terbaik untuk mengetahui tingkat kontaminasi logam berat di suatu daerah. Tiram merupakan biota yang potensial terkontaminasi logam berat, karena sifatnya yang *filter feeder*, sehingga biota ini sering digunakan sebagai hewan uji dalam pemantauan tingkat akumulasi logam berat pada organisme laut (Wulandari *et al.*, 2012).

Tiram merupakan organisme laut yang banyak ditemui menempel pada batu atau beton dinding pembatas laut. Tiram laut dalam bahasa ilmiah disebut *Crassostrea* sp. Mempunyai jenis yang sangat banyak, namun persebaran di wilayah Jawa terdapat 5 jenis tiram yang mendominasi yaitu *C. Iredalei*, *C. Gigas*, *C. Culculata*, *C. glomerata*, *C. virginica*.

2.1.1 *Crassostrea iredalei*

a. Taksonomi

Menurut Faustino (1932) dalam World Register of Marine Species (2014), klasifikasi tiram *Crassostrea iredalei* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia

Phylum : Mollusca

Class : Bivalvia

Subclass : Pteriomorphia

Order : Ostreida

Family : Ostreidae

Genus : *Crassostrea*

Species : *Crassostrea iredalei*

b. Morfologi

Crassostrea iredalei mempunyai bentuk cangkang tidak simetri seperti kerang. Jarak antara dorsal (lebar) dengan ventral (tinggi) adalah lebih besar daripada jarak anterior dengan posterior (panjang) sehingga membentuk cangkang yang tipis (Poutiers, 1998). Cangkang atas *C. iredalei* mempunyai bentuk kecil, rata, tipis dan bersisik pada bagian luar, sedangkan cangkang bawah *C. iredalei* mempunyai bentuk melengkung, tebal dan mempunyai permukaan licin pada bagian luarnya. Bagian cangkang dalam berwarna putih keabuan sedangkan otot perut di bagian posterior berwarna ungu kehitaman (Rosell, 1991) dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 2. *Crassostrea iredalei* (Idris, 2006).

c. Fisiologi

Tiram mendapatkan makanan dengan menyaring sari makanan dalam air (*filter feeder*), karena memiliki siphon yang pendek (Setyawati 1986 dalam Fitrianti 2003). Kebiasaan tiram dalam mendapatkan makanan dapat menyerap air dan kandungan-kandungan unsur di dalamnya. Plankton yang terdapat di perairan akan tersaring melalui mekanisme makan tiram tersebut. Tiram dapat dijadikan bioindikator karena seluruh partikel-partikel yang terdapat di dalam perairan akan tersaring (Suharyanto *et al.* 1996).

2.1.2 *Crassostrea glomerata*

Tiram merupakan organisme yang berada pada wilayah mangrove dan kebanyakan berjenis *Crassostrea* sp. Tiram (*Crassostrea* sp.) hidup menempel pada tegakan dan akar mangrove. Tiram dimanfaatkan sebagai penambah penghasilan masyarakat pesisir (Widiastuti, 1998). Tiram memiliki kandungan gizi yang tinggi dalam dagingnya yaitu terdiri atas 10,60% protein, 2,10% lemak, 85,80% air (Fachuri *et al.*, 1975 dalam Astuti *et al.*, 2001). Daging tiram juga merupakan sumber glikogen dan unsur – unsur dasar (*trace elements*) yang baik, seperti *zinc* (seng), *copper* (tembaga) dan *iron* (zat besi) (Watanabe, 2009).

Tiram *Crassostrea glomerata* tergolong dalam hewan yang mempunyai cangkang sangat keras dan tidak berbentuk simetris. Tiram merupakan hewan yang tidak mempunyai tulang belakang dan bertubuh lunak (Phylum mollusca) (Jamilah, 2015).

a. Taksonomi

Menurut Gould (1850) dalam Encyclopedia of Life (2013), klasifikasi tiram

Crassostrea glomerata adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Mollusca
Class	: Bivalvia
Order	: Ostreida
Family	: Ostreidae
Genus	: <i>Crassostrea</i>
Species	: <i>Crassostrea glomerata</i>

b. Morfologi

Tubuh tiram terdiri atas tiga bagian yaitu kaki, mantel dan kumpulan organ bagian dalam. Kaki merupakan salah satu bagian tubuh yang bersifat elastis, terdiri atas susunan jaringan otot yang dapat meregang. Tiram termasuk

monomeri, yaitu hewan yang memiliki otot tunggal yang berfungsi untuk membuka dan menutup cangkang. Mantel membungkus organ bagian dalam dan memisahkan dengan bagian cangkang, selain itu juga berfungsi untuk menyeleksi unsur-unsur yang terhisap ke dalam tubuh dan jika dalam tubuhnya terdapat kotoran maka mantel akan menyebarkan kotoran itu keluar (Syazili, 2011) dapat dilihat pada Gambar 2. Irianto, *et al.* (1994), umumnya tiram ditemui menempel pada batu dan tiang-tiang pelabuhan, keramba, dan pada akar-akar pohon di daerah pantai yang terkena pengaruh pasang surut air laut.



Gambar 3. Pandangan *Crassostrea glomerata* (Gould., 1850 dalam Encyclopedia of Life 2013).

2.2 Logam Berat

Logam berat adalah unsur-unsur yang mempunyai daya hantar panas dan daya hantar listrik yang tinggi serta mempunyai densitas lebih dari 5 (Hutagalung, 1991). Logam berat biasanya bernomor atom 22-29 dan periode 3 sampai 7 dalam susunan berkala unsur-unsur kimia. Beberapa unsur logam berat tersebut antara lain Hg, Pb, Cd, Cr, Zn dan Cu. Pada umumnya semua logam berat tersebar di seluruh permukaan bumi baik di tanah, air dan udara. Logam berat ini dapat berbentuk organik, anorganik terlarut atau terikat dalam suatu partikel (Harahap, 1991).

Logam berat memiliki sifat racun terhadap makhluk hidup, beberapa diantaranya diperlukan dalam jumlah yang kecil. Logam berat dapat menyebar

melalui berbagai perantara, seperti udara, makanan, maupun air yang terkontaminasi oleh logam berat, logam tersebut dapat terdistribusi ke bagian tubuh manusia dan sebagian akan terakumulasi. Jika keadaan ini berlangsung terus menerus, dalam jangka waktu lama dapat mencapai jumlah yang membahayakan kesehatan manusia (Supriyanto, 2007).

2.2.1 Timbal (Pb)

Pb atau yang biasa disebut sebagai timbal atau timah hitam, merupakan logam yang tergolong lunak dengan titik leleh pada suhu $327,502^{\circ}\text{C}$ serta titik didih pada suhu 1.620°C . timbal (Pb) termasuk kedalam logam golongan IV-A pada Tabel Periodik unsur kimia. Walaupun timbal (Pb) bersifat lunak dan lentur, timbal sangat rapuh dan mengkerut pada pendinginan, sulit larut dalam air dingin, air panas dan air asam. Timbal (Pb) sebagai salah satu logam berat namun timbal merupakan unsur yang potensial menyebabkan pencemaran lingkungan perairan (Fernanda, 2012).

Pb dan persenyawaannya dapat berada di dalam badan perairan secara alamiah dan sebagai dampak dari aktivitas manusia. Secara alami pengkristalan Pb di udara dengan bantuan air hujan. Di samping itu proses herotifikasi dari bantuan mineral akibat hempasan gelombang yang merupakan salah satu jalur sumber Pb yang akan masuk ke badan perairan lalu ke laut. Akibat aktivitas kehidupan manusia diantaranya adalah air buangan (limbah) industri dan dari pertambangan biji timah hitam. Senyawa Pb dalam badan perairan dalam bentuk Pb dapat mengadsorpsi Pb dapat permukaan tubuh dan makanan yang dikonsumsinya. Kerang dapat mengakumulasi Pb dalam jumlah besar (Palar, 1994). Batas kandungan maksimum logam berat timbal pada bivalvia adalah sebesar $1,5 \text{ mg/kg}$ sedangkan kandungan ambang batas dalam perairan logam berat timbal sebesar $0,05 \text{ mg/l}$ (Menteri Negara Lingkungan Hidup, 2004; SNI, 2009).

2.2.2 Kadmium (Cd)

Kadmium (Cd) merupakan logam berat yang paling banyak ditemukan pada lingkungan, khususnya lingkungan perairan, serta memiliki efek toksik yang tinggi, bahkan pada konsentrasi yang rendah (Almeida *et al.*, 2009). Kadmium diketahui memiliki waktu paruh yang panjang dalam tubuh organisme hidup dan umumnya terakumulasi di dalam hepar dan ginjal (Flora, 2009; Patrick, 2003). Pada manusia, kadmium dapat bersifat karsinogenik, merusak kelenjar endokrin, sistem kardiovaskular dan juga terdapat pada sistem saraf yang memicu kerusakan neurologis dan berasosiasi dengan kanker paru-paru, prostat, pankreas dan ginjal (Boboccea *et al.*, 2008; Flora, 2009).

Kadmium (Cd) memiliki karakteristik berwarna putih keperakan seperti logam aluminium, tahan panas, tahan terhadap korosi. Kadmium (Cd) digunakan untuk elektrolisis, bahan pigmen untuk industri cat, enamel, dan plastik. Kadmium (Cd) merupakan salah satu jenis logam berat yang berbahaya karena elemen ini beresiko tinggi terhadap pembuluh darah. Kadmium berpengaruh terhadap manusia dalam jangka waktu panjang dan dapat terakumulasi pada tubuh khususnya hati dan ginjal (Palar, 2004). Batas kandungan maksimum logam berat kadmium pada bivalvia adalah sebesar 1,0 mg/kg, sedangkan kandungan ambang batas dalam perairan logam berat kadmium tidak boleh melebihi sebesar 0,01 mg/l (Menteri Negara Lingkungan Hidup, 2004).

2.2.3 Merkuri (Hg)

Secara biologis merkuri dapat berakumulasi pada rantai makanan yang terdapat pada suatu perairan, merkuri juga akan mempengaruhi kesehatan manusia. Masuknya logam berat berupa merkuri kedalam tubuh hewan maupun manusia dapat melalui udara, makanan dan air. Dalam waktu yang lama merkuri akan menumpuk pada tubuh dan dapat merusak jaringan yang ada pada tubuh (Tugaswati *et al.*, 1997).

Merkuri bersifat neutrotoksin, masuk ke ekosistem akuatik melalui deposisi atmosferik maupun bersumber dari eksternalisasi limbah industri. (Suseno *et al.* 2010). Bioakumulasi bahan-bahan kimia pada organisme perairan merupakan suatu kriteria yang penting terhadap dampak yang ditimbulkan. Khususnya terhadap manusia yang terpapar melalui makanan misalnya ikan (Geyer *et al.* 2000). Organisme perairan dapat mengakumulasi merkuri dari air, sedimen, dan makanan yang dikonsumsi (Lasut, 2009). Batas kandungan maksimum logam berat merkuri pada bivalvia adalah sebesar 1 mg/kg (SNI, 2009), sedangkan kandungan ambang batas dalam perairan logam berat merkuri tidak boleh melebihi sebesar 0,003 mg/l (Menteri Negara Lingkungan Hidup, 2004).

2.2.4 Mekanisme penyerapan logam pada Tiram

Logam berat dalam suatu perairan dapat dibutuhkan dan dimanfaatkan oleh beberapa biota perairan dengan pemanfaatan yang sangat kecil kadarnya. Masuknya logam berat dalam tubuh tiram melalui jaringan pernafasan yang berupa insang serta melalui rantai makanan yang berhubungan dengan tiram itu sendiri. Logam berat yang terserap dalam tubuh tiram lebih besar kandungannya dibandingkan dengan yang terakumulasi dalam perairan tiram berada (Apriadi, 2005).

Tiram maupun kerang mencari makannya dengan cara menyaring makanan yang larut di dalam air yang diberi istilah *vacuum cleaner*. Oleh karena itu, akan dapat memfiltrasi seluruh zat-zat yang dibawa oleh air terutama yang berasal dari limbah. Namun seiring dengan semakin meningkatnya industri di Indonesia, buangan limbah dari industri juga akan meningkat baik yang berasal dari bahan organik maupun anorganik, yang berupa padatan atau cairan yang mengandung logam berat contohnya seperti Kadmium (Cd). Kadmium (Cd)

merupakan salah satu logam berat yang dapat menimbulkan efek negatif terhadap ekosistem dan manusia (Liliandari dan Ainurohim, 2013).

Logam berat dapat masuk ke dalam tubuh tiram dengan melalui beberapa mekanisme yaitu dengan melewati membran sel melalui empat cara, yaitu difusi pasif lewat membran, filtrasi lewat pori pori membran, transport dengan perantara organ pengangkut dan penyerapan oleh sel (Frank, 1991). Logam berat yang terakumulasi dalam tubuh tiram dari waktu ke waktu akan semakin banyak sesuai lingkungan tiram tersebut hidup, hal tersebut juga akan menyebabkan dampak negatif bagi tubuh tiram yaitu berupa kematian tiram.

Selain melalui sistem pencernaan, masuknya logam berat ke dalam tubuh tiram juga melalui dua cara yaitu transport pasif dan transport aktif. Transport pasif adalah proses ketika ion logam berat terikat pada dinding sel biosorben, sebagai contoh dengan pertukaran ion, dimana ion yang berada di dinding sel digantikan oleh ion logam berat. Sedangkan transport aktif adalah proses masuknya logam berat melalui membran sel sama halnya dengan proses masuknya logam esensial ke dalam tubuh. Hal ini terjadi karena logam berat dan logam esensial memiliki sifat kimia-fisika yang mirip (Ridhowati, 2013). Apabila terjadi akumulasi logam berat semakin meningkat berbanding lurus dengan waktu dan peningkatan konsentrasi logam berat ke perairan maka bivalvia akan mengalami gangguan dalam melakukan kegiatan filtrasi makanan, kemudian akan terjadi penurunan dalam pertumbuhan kerang tersebut dan bahkan dimungkinkan dapat mengalami kematian pada tiram akibat tercamar paparan logam yang sangat berat (Suryono, 2006 dalam Selpiani, *et al.* 2015).

2.3 Metallothionein (MT)

Metallothionein merupakan sistem utama yang dimiliki oleh tubuh dalam mendetoksifikasi air raksa, timbal, dan logam berat lain. Metallothionein (MT)

merupakan peptida dengan berat molekul rendah dan mempunyai konsistensi yang tinggi, metallothionein yang ada pada kelas invertebrata air memiliki peran yang penting dalam melakukan detoksifikasi logam berat dan dapat digunakan sebagai biomarker yang berguna untuk logam beracun (Desouky, 2012).

Metallothionein adalah protein sitosol yang ditemukan pada beberapa organisme prokariotik dan eukariotik termasuk vertebrata, invertebrata, tumbuhan dan mikroorganisme (Simes *et al.*, 2003). Metallothionein juga sebagai protein pengikat logam (metal-binding protein) yang berperan dalam proses pengikatan ataupun penyekapan logam di dalam jaringan setiap makhluk hidup. Biomarker merupakan akhir dari uji ekotoksikologi yang menunjukkan efek pada organisme hidup. Salah satu kunci fungsi dari biomarker adalah sebagai tanda peringatan dini, dari suatu pengaruh senyawa toksik secara biologi; dan biomarker dipercaya sebagai respon pada sub organisme (molekuler, biokimia dan fisiologi) reaksi awal sebelum respon terjadi pada tingkatan organisasi (spektrum) biologi yang lebih tinggi (Hanson 2008). Metallothionein berfungsi sebagai biomarker pencemaran logam berat, sehingga dapat digunakan sebagai alat untuk monitoring lingkungan perairan yang tercemar logam berat seperti Cd, Pb dan Hg (Dewi *et al.* 2014).

Struktur metallothionein menurut Carpenne *et al.*, (2007) adalah sebagai berikut:

1. **Thionein**: Asam amino yang mempunyai kandungan sistein tinggi, tidak mempunyai asam amino aromatik dan tidak stabil oleh panas. Gugus tiol (-SH) dari kelompok ini merupakan residu sistein yang memungkinkan MT dapat mengikat logam berat.
2. **Metallation**: Proses pengikatan logam oleh thionein setelah disintesis dalam ribosom sesuai dengan jumlah konsentrasi logam yang tersedia. Dimana dalam teknik Electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry (ESI-TOF-

MS) dengan pelarutan MT-3 menunjukkan bahwa MT-3 mengikat ion Zn dan Cd lebih lemah dari MT-2, tetapi mempunyai kapasitas dan plastisitas mengikat logam yang lebih tinggi.

3. Dimerization (dimerisasi): Proses MT mengikat logam dimana domain-domain β (N-terminal) bertanggung jawab membentuk kondisi anaerobik untuk berikatan dengan logam-dimer. Pada kondisi aerobik, suatu disulfide antar molekul tertentu terbentuk diantara domain α (C-terminal). Kedua bentuk dimer tersebut menunjukkan perbedaan muatan dan membentuk ikatan ionik dengan logam-logam.

2.4 Pengikatan Logam Berat oleh Metallothionein (MT)

Hewan laut memiliki protein yang dapat mengikat dan menyerap logam berat di perairan. Protein tersebut sering dikenal dengan 'methallotionein' (MT). Dengan adanya protein yang berperan sebagai perangkap logam pada semua organisme laut, baik vegetasi maupun hewan vertebrata dan anvertebrata, dengan alat ukur yang sama memungkinkan pengukuran konsentrasi logam berat yang diserap menjadi lebih akurat dibandingkan dengan mengukur pada fisik air di suatu perairan laut (Lasut, 2002).

Metallothionein mempunyai fungsi yang dapat digunakan sebagai biomarker pencemaran karena karakteristiknya yang peka dan akurat dalam pengikatan logam berat. Terdapat kejadian dalam organisme alam yang membuat logam-logam dapat tersekap di dalam jaringan tubuh organisme yang dimungkinkan karena adanya protein tersebut (Bebiano *et al.*, 2003). Dapat disimpulkan apabila terjadi paparan logam berat yang memiliki afinitas tinggi terhadap thioenin maka logam tersebut memiliki kemampuan yang tinggi dalam menginduksi metallothioenin, sehingga akan segera membentuk metallothionein dan logam tersebut akan segera terdetoksifikasi (Dewi *et al.*, 2014).

Logam berat akan diikat oleh protein yang akan membentuk metallothionein dalam sel. Logam berat akan ditransport oleh dinding sel dan akan berikatan dengan metallothionein dengan secara transport pasif. Selanjutnya metallothionein akan mengurangi dampak racun logam berat selanjutnya menuju vakuola tempat dimana ion-ion dan metabolit. Metallothionein akan terus terbentuk seiring dengan logam berat yang masuk kedalam tubuh tiram hingga kandungan logam berat hilang menjadi protein metallothionein (Artanti, 2005 dalam Rakhmawati, 2006).

MT mengikat logam dengan sangat kuat namun pertukaran ikatan dengan protein lain juga dapat berlangsung dengan mudah. Kondisi ini disebabkan karena ikatan MT terhadap logam memiliki kestabilan termodinamik yang tinggi tetapi dengan stabilitas kinetik yang rendah (Zangger *et al.* 2001). Karena alasan ini, MT mempunyai fungsi biologis sebagai distributor dan mediator intraseluler terhadap logam-logam yang diikatnya (Kagi 1987). Regulasi ion logam oleh gen Mt dilakukan melalui perantara yaitu suatu motif sekuen spesifik yang disebut MRE (*metal responsive element*), yang berada di daerah promoter. MRE mengikat faktor transkripsi dan menunjukkan peran esensial dalam respon terhadap logam berat, dan juga terlibat didalam perkembangan jaringan dan reaksi fisiologis.

Menurut Lu (1995) dalam Fernanda (2012), toksisitas setiap logam berat berbeda-beda. Daya toksisitas logam berat dalam perairan terhadap biota yang ada di dalamnya dipengaruhi oleh karakteristik dari logam, keberadaan logam-logam lain, pengaruh lingkungan dan kemampuan organisme dalam mengaklimatisasi logam-logam yang bersifat toksik. Selain kandungan logam berat, ukuran tiram juga dapat mempengaruhi sintesis metallothionein, Amiard *et al.* (2006), menyatakan bahwa faktor usia, ukuran, jenis kelamin, tingkat

kematangan gonad dan perbedaan spesies dapat mempengaruhi produksi MT dalam tubuhnya.

2.5 Pengamatan Metallothionein (MT) dengan Metode ELISA

Tes ELISA bisa dimanfaatkan untuk mendeteksi antibodi maupun antigen yang ada pada tubuh hewan maupun manusia. ELISA merupakan uji serologi yang sensitif dan spesifik, membutuhkan sangat sedikit antigen, dapat menguji banyak sampel dengan mudah di laboratorium (Cruickshank dan Mackenzie, 1981). Metode ini dinilai dapat dijadikan sebagai metode pendeteksi pencemaran logam berat yang sangat mudah dilakukan dan sangat sensitif (Rachmawati *et al.*, 2004).

Metode ELISA memiliki prinsip secara umum adalah antibodi yang terdapat dalam serum yang kemudian dimasukkan ke dalam antigen yang sudah difiksasi pada penyangga padat (plat mikrotiter), kemudian diinkubasi selama waktu tertentu dan dicuci untuk menghilangkan antibodi yang berlebihan. Selanjutnya ditambahkan antibodi anti-spesies yang dikonjugasi dengan enzim. Aktifitas enzim ditentukan setelah ditambahkan substrat yang spesifik, setelah kegiatan tersebut substrat akan berinteraksi warnanya sesuai antibodi yang dites (Setiawan, 2007).

Menurut Ryvolova *et al.* (2011), metode ELISA telah banyak digunakan untuk mendeteksi kandungan metallothionein pada jumlah sampel penelitian termasuk organ tikus yang terkena kadmium serta organ manusia yang terkena paparan pencemaran lingkungan. Metode ini diyakini juga dapat mendeteksi metallothionein dengan mudah dan akurat sesuai reaksi yang terjadi ketika ditambahkan enzim pada antibodi-antigen.

2.6 Kondisi Fisika dan Kimia Perairan

2.6.1 Suhu

Suhu merupakan faktor yang harus diperhatikan ketika melakukan penelitian dengan air dan laut. Data suhu dimanfaatkan untuk mempelajari gejala-gejala fisik di dalam laut serta kaitannya dengan kehidupan hewan atau tumbuhan (Nontji 1993). Suhu merupakan faktor pembatas bagi pertumbuhan dan distribusi benthos seperti bivalvia (Odum 1998). Suhu yang baik untuk kelangsungan hidup tiram berkisar 25-30°C. Suhu air pada kisaran 27-31°C juga dianggap layak untuk kehidupan tiram (Winanto 2004).

Menurut Hutagalung (1994), bahwa kenaikan suhu perairan tidak hanya dapat meningkatkan kerja metabolisme biota perairan, namun juga dapat meningkatkan toksisitas logam berat diperairan.

2.6.2 Derajat Keasaman (pH)

Derajat keasaman atau pH merupakan jumlah atau aktifitas ion hidrogen yang ada pada suatu perairan. Menurut Sastrawijaya (1991) adanya penambahan kadar organik ke dalam perairan akan menurunkan nilai air pH yang disebabkan penguraian bahan organik tersebut untuk menghasilkan CO₂.

Menurut Romimohtarto (1985) pH air laut permukaan Indonesia pada umumnya bervariasi dari lokasi ke lokasi antara 6,0-8,5, perubahan pH tersebut dapat mempunyai akibat buruk terhadap kehidupan biota laut. Menurut Winanto (2004), derajat keasaman air yang layak untuk kehidupan tiram berkisar 7,8-8,6.

Nilai pH perairan memiliki hubungan yang erat dengan sifat kelarutan logam berat. Pada pH alami laut logam berat sukar terurai dan dalam bentuk partikel atau padatan tersuspensi. Pada pH rendah, ion bebas logam berat dilepaskan ke dalam kolom air. Selain hal tersebut, pH juga mempengaruhi toksisitas suatu senyawa kimia. Secara umum logam berat akan meningkat

toksistas nya pada pH rendah, sedangkan pada pH tinggi logam berat akan mengalami pengendapan (Novotny dan Olem, 1994).

2.6.3 Oksigen Terlarut (DO)

Oksigen terlarut (DO) adalah salah satu faktor penting dalam setiap sistem perairan. DO (dissolved oxygen) merupakan kebutuhan dasar bagi organisme akuatik termasuk bentos, karena digunakan untuk respirasi (Michael 1994). Menurut Sastrawijaya (1991) kehidupan di air dapat bertahan jika ada oksigen terlarut minimum sebanyak 4 mg/l, selebihnya tergantung kepada ketahanan organisme, derajat keaktifan, kehadiran pencemar, temperatur air dan sebagainya.

Proses pengadukan sedimen oleh arus tidak hanya menyebabkan terangkatnya sedimen dasar perairan, tetapi bersamaan dengan itu juga menyebabkan terangkatnya bahan-bahan organik dan anorganik yang bersifat toksik. Hal ini menyebabkan oksigen digunakan untuk mendekomposisi bahan organik dan mengoksidasi bahan anorganik, sehingga kandungan oksigen dalam air menjadi rendah. Rendahnya nilai kandungan oksigen terlarut dapat menyebabkan tingkat toksistas logam berat meningkat, sehingga daerah tersebut tidak menunjang untuk kehidupan biota perairan.

2.6.4 Salinitas

Salinitas disebut juga sebagai kadar garam yaitu jumlah berat semua garam yang terlarut dalam satu liter air, biasanya dinyatakan dalam satuan ppt (gram per liter) (Nontji 1993). Salinitas menunjukkan jumlah ion-ion terlarut. Perubahan salinitas berpengaruh pada proses difusi dan osmotik. Pola gradien salinitas bergantung pada musim, topografis, pasang surut dan jumlah air tawar yang masuk (Nybakken 1992). Menurut Romimohtarto (1985) variasi salinitas di Indonesia berkisar antara 15-32 ppt.

Salinitas dapat mempengaruhi keberadaan logam berat di dalam perairan, bila terjadi penurunan kadar salinitas di perairan karena adanya proses desalinasi maka akan menyebabkan peningkatan daya toksik logam berat dan tingkat bioakumulasi logam berat semakin besar sehingga dapat mencemari biota yang ada dalam perairan (Erlangga, 2007). Salinitas suatu perairan berkaitan dengan suhu perairan dalam menentukan tingkat bioakumulasi dalam perairan. Dimana salinitas dan suhu ini berbanding terbalik. Pada salinitas rendah akumulasi akan meningkat, karena pada salinitas tinggi menyebabkan konsentrasi logam berat berkurang (Suryono, 2006 dalam Selpiani, *et al.* 2015).



3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

Materi dalam penelitian ini mengetahui kadar metallothionein pada insang dan lambung tiram *Crassostrea iredalei* dan tiram *Crassostrea glomerata* dengan kadar Pb, Cd dan Hg di pesisir Kecamatan Gresik, Kabupaten Gresik Jawa Timur. Parameter kualitas air yang digunakan untuk mendukung dalam penelitian ini yaitu suhu, derajat keasaman (pH), oksigen terlarut (DO) dan salinitas.

3.2 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini terdapat pada berbagai prosedur diantaranya: pengukuran kualitas air, pembedahan dan pengambilan lambung dan insang tiram *Crassostrea iredalei* dan *Crassostrea glomerata*, pengukuran kadar logam berat Pb, Cd, Hg serta pengujian kadar Metallothionein pada tiram *Crassostrea iredalei* dan *Crassostrea glomerata*. Alat yang digunakan dalam penelitian dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.1.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini terdapat pada berbagai prosedur diantaranya: pengukuran kualitas air, pembedahan dan pengambilan lambung dan insang tiram *Crassostrea iredalei* dan *Crassostrea glomerata*, pengukuran kadar logam berat Pb, Cd, Hg serta pengujian kadar Metallothionein pada tiram *Crassostrea iredalei* dan *Crassostrea glomerata*. Alat yang digunakan dalam penelitian dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.3 Metode Penelitian

Metode pengambilan data yang digunakan pada penelitian ini adalah metode deskriptif. Menurut Dharma (2008), penelitian deskriptif adalah penelitian

yang berusaha mendeskripsikan suatu gejala, peristiwa, kejadian yang terjadi saat sekarang. Penelitian deskriptif memusatkan perhatian kepada masalah-masalah aktual sebagaimana adanya pada saat penelitian berlangsung. Melalui penelitian deskriptif, peneliti berusaha mendeskripsikan peristiwa dan kejadian yang menjadi pusat perhatian tanpa memberikan perlakuan khusus terhadap peristiwa tersebut. Variabel yang diteliti bisa tunggal (satu variabel) bisa juga lebih dari satu variabel.

Dalam penelitian ini, peneliti mengamati kandungan metallothionein pada insang dan lambung tiram dari beberapa stasiun yang ada di pesisir Kecamatan Gresik. Peneliti selanjutnya menguji kadar metallothionein dengan membedah lambung dan insang tiram serta menganalisis dengan menggunakan metode ELISA. Dalam menganalisis kadar metallothionein peneliti mengacu pada penelitian Jeremias H. R. Kagi dan Yutaka Kojima, (1987) berjudul tentang Metallothionein 2 yang menjelaskan bahwa satuan kadar metallothionein adalah ng/ml. Selain itu, penulis juga mengamati kualitas perairan pesisir Kecamatan Gresik dengan mengambil sampel air tersebut.

3.4 Jenis dan Sumber Data

Data yang diambil dan digunakan dalam pelaksanaan penelitian adalah data primer dan data sekunder.

3.4.1 Data Primer

Data primer yaitu data yang dibuat oleh peneliti untuk maksud khusus menyelesaikan permasalahan yang sedang ditanganinya (Sugiyono, 2009).

Dalam pelaksanaan Penelitian ini data primer yang diambil meliputi parameter utama yaitu kandungan metallothionein pada tiram di daerah Kecamatan Gresik, serta parameter kualitas air pendukung yang mempengaruhi data penelitian.

Data primer dalam penelitian ini diperoleh dari hasil observasi, wawancara,

dokumentasi serta kuisisioner yang diberikan kepada masyarakat dengan pihak terkait. Data primer yang diambil dalam penelitian ini meliputi parameter utama kualitas perairan yang diukur meliputi suhu, pH, salinitas dan Oksigen terlarut (DO), kandungan logam berat Pb, Cd, dan Hg serta kadar Metallothionein pada tiram *Crassostrea iredalei* dan *Crassostrea glomerata*.

a. Observasi

Secara umum pengertian observasi adalah cara menghimpun bahan-bahan keterangan yang dilakukan dengan mengadakan pengamatan dan pencatatan secara sistematis terhadap fenomena-fenomena yang dijadikan objek pengamatan (Djaali dan Muljono, 2007). Metode observasi meliputi pengamatan dan pencatatan secara langsung terhadap keadaan tiram pada wilayah pesisir Kecamatan Gresik dan data kualitas air yang telah diukur.

b. Wawancara

Wawancara adalah salah satu bentuk kegiatan berbicara yang dapat diterapkan dalam pembelajaran, bentuk pembelajaran tersebut sesuai dengan yang akan diteliti (Sumiani, 2014). Dalam pelaksanaan Penelitian ini dilakukan pengambilan data dengan cara memberikan pertanyaan langsung masyarakat pesisir sekitar daerah pesisir Kecamatan Gresik tentang kandungan bahan pencemar logam yang mempengaruhi perairan tersebut.

c. Dokumentasi

Dokumentasi adalah suatu kegiatan yang digunakan untuk menerangkan suatu peristiwa baik dalam bentuk tulisan, foto, rekaman dan berbagai cara-cara lain seiring dengan kemajuan teknologi yang pada akhirnya menjadi salah satu sumber informasi tentang peristiwa tersebut (Sudarsono, 2003). Dalam pelaksanaan Penelitian dokumentasi dilakukan dengan cara mengambil gambar atau foto kegiatan dengan menggunakan kamera.

3.4.2 Data Sekunder

Data sekunder adalah data yang diperoleh atau dikumpulkan oleh orang yang melakukan penelitian dari sumber-sumber yang telah ada (Hasan, 2002).

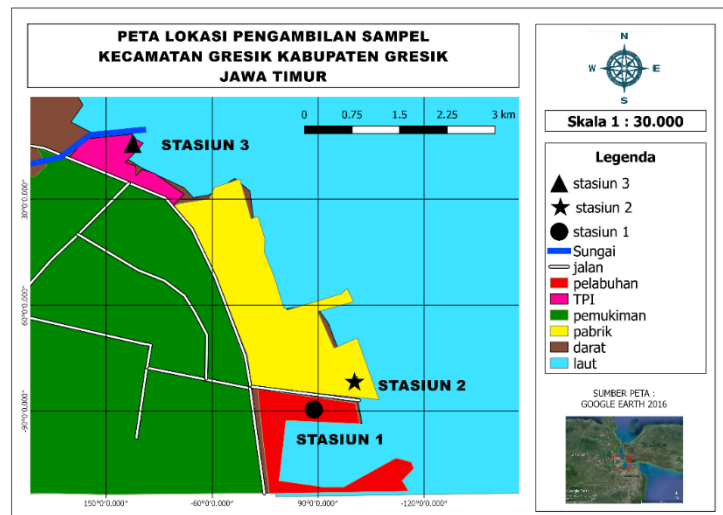
Data sekunder bertujuan untuk mendukung data primer yang telah di dapatkan pada saat di lapang dengan data yang didapatkan dari jurnal, skripsi, thesis, serta kepustakaan ilmiah lainnya yang berhubungan dengan penelitian ini.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Penentuan Stasiun Penelitian

Stasiun pengambilan sampel tiram dilakukan pada 3 stasiun yang berbeda namun masih termasuk dalam satu wilayah pesisir Kecamatan Gresik.

Stasiun yang akan dijadikan pengambilan sampel penelitian yaitu stasiun 1 berlokasi di pelabuhan utama Gresik, pada stasiun tersebut terdapat aktivitas transportasi kapal besar yang mengangkut penumpang ke pulau bawean dan mengangkut barang ekspor impor seperti batu bara, pupuk, kayu, serta bahan makanan yang akan di kirim ke seluruh wilayah indonesia maupun luar negeri. stasiun 2 berlokasi di dekat muara sungai dan pelabuhan, pada stasiun tersebut terdapat aktivitas pemukiman penduduk di sekitar pelabuhan yang membuang limbah ke muara sungai. Sedangkan stasiun 3 berlokasi di daerah dekat muara sungai, pemukiman warga, dan terdapat adanya aktivitas manusia untuk melakukan pengolahan ikan dan TPI. Membedakan daerah dan karakteristik stasiun bertujuan untuk membandingkan kondisi pencemaran logam berat dan faktor yang mempengaruhinya. Pada setiap stasiun terdapat 2 sampel tiram yaitu tiram *Crassostrea iredalei* dan tiram *Crassostrea glomerata* yang akan diteliti kandungan metallothionein. Lokasi stasiun pengambilan sampel dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Peta lokasi stasiun pengambilan sampel tiram

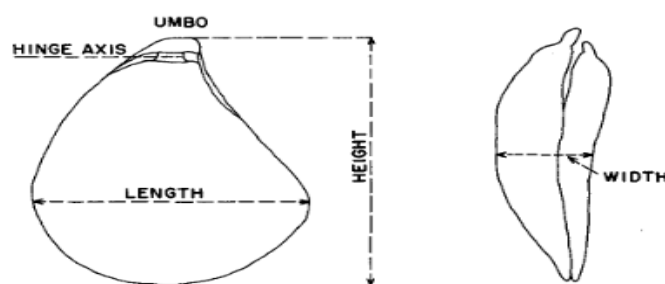
3.5.2 Pengambilan sampel tiram *Crassostrea iredalei* dan *Crassostrea glomerata*.

Pengambilan sampel tiram *Crassostrea iredalei* dan *Crassostrea glomerata* yang hidup menempel pada batuan tebing pelabuhan atau beton penyangga dermaga dan kayu dermaga yaitu dengan cara mencongkel organisme menggunakan palu dan cetok pada saat air surut, kemudian dimasukkan ke dalam coolbox. Sampel tiram diambil total sebanyak 24 tiram pada 3 lokasi stasiun yang berbeda, pada setiap stasiun diambil sampel tiram secara acak di 2 titik yang berbeda, hal ini diasumsikan sampel tiram sudah mewakili keseluruhan sampel pada lokasi stasiun. Pada setiap titik diambil 2 jenis tiram yang akan diteliti organ insang dan lambung dengan metode ELISA. Sampel air diambil secara langsung dan ditempatkan pada botol mineral 600 ml, air sampel yang diambil adalah air pada permukaan. Air sampel dimasukkan ke dalam coolbox untuk kemudian dianalisis di laboratorium.

Menurut Wulandari *et al.* (2012), Metode penelitian survei dilakukan dengan teknik pengambilan data tiram secara sampling acak pada 3 stasiun dengan 3 sub stasiun dan kemudian data yang didapatkan dianalisis secara deskriptif.

3.5.3 Pengukuran sampel tiram *Crassostrea iredalei* dan *Crassostrea glomerata*

Sampel tiram *Crassostrea iredalei* dan *Crassostrea glomerata* yang sudah diambil kemudian diukur panjang, lebar dan tinggi cangkangnya dengan menggunakan jangka sorong untuk mengetahui ukuran tiram *Crassostrea iredalei* dan *Crassostrea glomerata*, kemudian hasil pengukuran dicatat sebagai data. Tinggi tiram adalah jarak antara umbo dan katup ventral, panjang cangkang tiram merupakan jarak maksimum antara posterior dan anterior yang diukur secara sejajar dengan sumbu engsel sedangkan lebar cangkang tiram yaitu jarak terlebar cangkang (Galtsoff, 1964), keterangan cangkang dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Cangkang tiram (Galtsoff, 1964)

3.6 Analisis Kualitas Air

Parameter analisa kualitas air dalam penelitian ini adalah suhu, pH, oksigen terlarut (DO) dan salinitas di Teluk Lamong, Gresik. Tujuan analisa kualitas air mendukung, menunjang serta untuk mengetahui kondisi lingkungan perairan tempat hidup *Crassostrea iredalei* dan *Crassostrea glomerata*.

a. Suhu

Pengukuran suhu diukur dengan menggunakan Termometer Hg. Menurut Subarijanti (1990), prosedur pengukuran suhu adalah sebagai berikut:

- a. Memasukkan termometer Hg ke dalam perairan, dan ditunggu beberapa saat sampai air raksa dalam termometer berhenti pada skala tertentu

- b. Mencatat hasil pengukuran suhu dalam skala °C
- c. Membaca skala hasil pengukuran pada saat termometer yang masih ada dalam air, dan diusahakan bagian tubuh kita jangan sampai menyentuh bagian air raksa thermometer agar tidak mempengaruhi nilai dari suhu tersebut.

b. Derajat Keasaman (pH)

Menurut Kordi dan Tancung (2007), derajat keasaman (pH) yaitu logaritma dari kepekatan ion-ion H (Hidrogen) yang terlepas dalam satu cairan. pH sangat penting untuk mengukur derajat keasaman perairan, pH yang baik dan ideal bagi ikan dan biota perairan yaitu berkisar 7,5 - 8,5.

Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan alat pH meter merk ROHS 009 (I), adapun cara penggunaan adalah sebagai berikut :

- a. Membuka penutup pH meter.
- b. Menghidupkan pH meter dengan menggeser tombol yang terdapat dibagian atas pH meter.
- c. Mengkalibrasi elektroda dengan menggunakan aquades.
- d. Mencelupkan pH meter kedalam air yang akan diukur, kemudian ditunggu beberapa saat hingga angka yang muncul tidak berubah-ubah.
- e. Mematikan pH meter dengan menggeser tombol diatas ph meter,
- f. Membersihkan kemudian elektroda menggunakan aquades dan ditutup kembali.

c. Oksigen Terlarut (DO)

Menurut Simanjuntak (2012), DO (*Disolved Oxygen*) adalah jumlah oksigen terlarut dalam perairan yang dimanfaatkan oleh organisme perairan untuk respirasi dan penguraian zat-zat anorganik oleh mikroorganisme. Manfaat DO sebagai respirasi, dekomposisi dan oksidasi unsur kimia serta sebagai indikator kesuburan perairan.

Pada pengukuran suhu perairan, alat yang digunakan adalah DO Meter.

Sesuai dengan prosedur penggunaan DO meter merk YSI 550 A, prosedur pengukuran suhu sesuai prosedur penggunaan alat DO Meter YSI 550 A sebagai berikut:

- a. Menyiapkan DO meter.
- b. Mengkalibrasi elektroda dengan menggunakan aquades.
- c. Menekan tombol on/off untuk menyalakan layar DO meter.
- d. Memasukkan elektroda kedalam air yang akan diukur kadar oksigen terlarut.
- e. Melakukan pencatatan hasil yang tertera pada layar DO meter.
- f. Mencatat hasil pengukuran DO dengan skala ppm.
- g. Menekan tombol on/off untuk mematikan DO meter.
- h. Membersihkan elektroda dengan menggunakan aquades.

d. Salinitas

Salinitas didefinisikan sebagai total jumlah material padat dalam gram yang terlarut dalam satu kilogram air laut ketika semua karbonat telah dikonversi menjadi oksida, brom dan iod diganti dengan klorine dan seluruh bahan organik telah teroksidasi secara penuh (Stewart, 2002).

Menurut Sudarmaji *et al.* (1997) dalam Lailiyah *et al.*, (2014) prosedur pengukuran salinitas di lakukan dengan menggunakan salinometer Atago PAL-06S refraktometer adalah sebagai berikut:

- a. Mengkalibrasi alat menggunakan blangko akuades
- b. Menetaskan larutan sampel pada lempengan alat tersebut
- c. Mengamati hasilnya dan catat
- d. Membilas salinometer dengan aquades serta dikeringkan dengan tissue
- e. Menyimpan salinometer di tempat semula

3.7 Prosedur Pengujian Sampel

3.7.1 Prosedur Pengukuran Kadar Logam Berat pada *Crassostrea iredalei* dan *Crassostrea glomerata*

Pengukuran kadar logam berat pada *Crassostrea iredalei* dan *Crassostrea glomerata* dilakukan dengan menggunakan metode AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometry*) yang dilakukan di Laboratorium Kimia Analitik, Fakultas MIPA Universitas Brawijaya, Malang:

1. Menimbang sampel kering sebanyak 2 gram kemudian dimasukkan ke dalam *beaker glass*.
2. Menambahkan HNO_3 pekat sebanyak 30 ml dan didiamkan 1 malam untuk permulaan dekomposisi.
3. Memanaskan sampel selama 2 jam dan dijaga agar tidak sampai meluap.
4. Menambahkan HNO_3 pekat sebanyak 10 ml kedalam *beaker glass* dan dipanaskan lagi selama 2 jam.
5. Menambahkan HNO_3 pekat lagi sebanyak 10 ml dan dipanaskan lagi selama 3 jam atau sampai diperoleh larutan jernih kekuning-kuningan (pemanasan dianjurkan sampai sisa HNO_3 menguap kemudian didinginkan).
6. Memindahkan larutan kedalam labu ukur 50 ml dan ditambahkan pelarut akuades sampai tanda batas.
7. Mengukur sampel menggunakan AAS dengan memakai lampu katoda yang sesuai dengan logam yang akan diuji dan mencatat absorbansinya.

3.7.2 Prosedur Pengukuran Kadar Logam Berat pada Air

Pengukuran logam berat air sampel dilakukan dengan menggunakan metode AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometry*) yang dilakukan di Laboratorium Kimia Analitik, Fakultas MIPA Universitas Brawijaya, Malang.

Pengukuran sampel (dalam bentuk cairan) dilakukan dengan menggunakan

lampu katoda, metode yang biasa digunakan di laboratorium tersebut adalah sebagai berikut :

1. Mengambil air sampel dengan pipet volume 50 ml kemudian dimasukkan erlenmeyer (100 ml).
2. Menambahkan aquaregia sebanyak 5 ml kemudian dipanaskan diatas *hot plate* sampai kering lalu didinginkan.
3. Menambahkan HNO₃ 2,5 N sebanyak 10 ml kemudian dipanaskan hingga mendidih.
4. Mendinginkan sampel. Kemudian menyaring sebanyak 50 ml ke dalam labu ukur dan menambahkan aquadest sampai tanda batas, dihomogenkan.
5. Mengukur sampel menggunakan AAS dengan memakai lampu katoda yang sesuai dengan logam yang akan diuji dan mencatat absorbansinya. (Misal : jika ingin menentukan kadar logam Pb maka menggunakan lampu Pb, begitu juga dengan logam lainnya menggunakan lampu yang sesuai) hingga didapatkan hasil.

3.7.3 Prosedur Pengukuran Kadar Metallothionein pada Lambung dan Insang Tiram *Crassostrea iredalei* dan *Crassostrea glomerata*

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

1. Tahap Pengambilan Sampel

- Mengambil Sampel organ lambung dan insang tiram *Crassostrea iredalei* dan *Crassostrea glomerata* sebanyak 0,5 gram dan dicuci dengan PBS sebanyak tiga kali.
- Memasukkan sampel ke dalam kantong plastik dengan diberi es batu (maksimum 4 jam untuk proses homogenasi)

- Bila sampel akan dihomogenasikan lebih dari 4 jam maka sampel harus segera dibekukan pada suhu -20°C .

2. Tahap Homogenasi

- Menggerus jaringan dalam mortal yang sudah didinginkan 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.
- Menghomogenisasikan jaringan dengan menggunakan homogenizer jaringan.
- Menambahkan kedalam homogenate dengan Aliquot (larutan induk) (3 ml).
- Sebagai kontrol, jumlah yang diketahui dari standar Metallothionein untuk mengkalibrasi hasil sampel yang diperoleh. Aliquot dapat disimpan pada suhu -20°C .
- Percobaan dapat berhenti di langkah ini.

3. Tahap Ekstraksi

- Mensentrifugasi homogenate di $30.000 \times g$ 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 $6000 \times g$ 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 x g selama 10 menit.
- Pellet yang dihasilkan, dicuci dengan etanol: kloroform: buffer homogenisasi (87 : 1 : 12)
- Mensentrifugasi lagi pada 6000 x g selama 10 menit
- Mengeringkan di bawah aliran gas nitrogen untuk menyelesaikan penguapan
- Resuspended pellet kering dalam 300 ml dari 5 mM Tris-HCL, 1 mM EDTA, pH 7
- Mensuspensikan fraksi Metallothionein menjadi 4,2 ml dengan konsentrasi 0,43 mM dengan penambahan 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 dengan Metode ELISA (Suwarno, 2003)

- Pembuatan denah plate ELISA dan coating buffer. Denah dibuat berdasarkan kode sampel. Coating buffer dibuat fresh.
- Coating antigen dengan kadar antigen yang digunakan adalah (1 : 40) diencerkan dengan coating buffer dan diinkubasi dengan suhu 4 °C semalam.
- Keesokan harinya plate dicuci menggunakan larutan PBS Tween 0,2 % sebanyak 100 µl dan diulang 6 kali.
- Menambahkan 100 µl antibodi primer anti MTT (1 : 400) dalam assay buffer.
- Menginkubasi plate ELISA pada suhu ruang selama 2 jam sambil dishaker dengan shaker ELISA plate.

- Pencucian dengan PBS Tween 0,2% sebanyak 200 μ l dan diulang 6 kali.
- Menambahkan 100 μ l antibodi sekunder IgG biotin anti rabbit (1 : 800) dalam assay buffer lalu inkubasi pada suhu ruang selama 1 jam sambil dishaker.
- Mencuci dengan PBS Tween 0,2% dan diulang 6 kali.
- Menambahkan 100 μ l larutan SAHRP (1 : 800) dalam assay buffer lalu inkubasi pada suhu ruang selama 1 jam sambil dishaker.
- Mencuci dengan PBS Tween 0,2% sebanyak 200 μ l dan diulang 6 kali.
- Menambahkan 100 μ l masing-masing lubang substrat sure blue TMB microwell lalu inkubasi 20–30 menit pada ruang gelap. Jika terjadi reaksi antara antigen dengan antibodi maka akan berubah menjadi biru
- Menambahkan 100 μ l HCL 1 N sebagai stop reaksi. 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 Metallothionein.

3.8 Analisis Data

Hasil data penelitian ini didapatkan dari analisa deskriptif yaitu dengan menampilkan data dalam bentuk tabel, gambar dan grafik dari tahapan penelitian, sehingga menghasilkan informasi untuk mengetahui tingkat pencemaran logam berat di perairan Teluk Lamong, Gresik. Penelitian ini menggunakan analisa data regresi korelasi dengan menggunakan model regresi linier sederhana pada aplikasi SPSS 16.0, SPSS merupakan perangkat lunak statistik multiguna yang bermanfaat untuk mengolah dan menganalisis data penelitian. SPSS menggunakan menu serta kotak dialog untuk memudahkan dalam memproses data (Besral, 2010).

Analisa regresi merupakan alat analisa yang mampu menjelaskan pola hubungan antara dua variabel atau lebih yang terdiri atas variabel dependen (Y) dan variabel independen (X), sedangkan koefisien korelasi menunjukkan arah hubungan antara variabel X dan Y. Menurut Purba *et al.*, (2014) uji regresi bertujuan untuk mengetahui hubungan pengaruh antara satu variabel terhadap variabel lain. Variabel yang dipengaruhi disebut variabel tergantung atau dependen sedangkan variabel yang mempengaruhi disebut variabel bebas atau variabel independen. Setelah itu, ditentukan kategori tingkat hubungan variabel pada interval korelasi menurut Walpole (1995), 0.00 – 0.199 tergolong sangat rendah, 0.20 – 0.399 tergolong rendah, 0.40 – 0.599 tergolong cukup, 0.60 – 0.799 tergolong kuat, 0.80 – 1.000 tergolong sangat kuat.

Menurut Gujarati (2009) regresi adalah kajian terhadap ketergantungan satu variabel, yaitu variabel tergantung terhadap satu atau lebih variabel lainnya atau yang disebut sebagai variabel – variabel eksplanatori dengan tujuan untuk membuat estimasi dan / atau memprediksi rata – rata populasi atau nilai rata-rata variabel tergantung dalam kaitannya dengan nilai – nilai yang sudah diketahui dari variabel eksplanatorinya. Sedang menurut Levin & Rubin (1998), regresi digunakan untuk menentukan sifat – sifat dan kekuatan hubungan antara dua variabel serta memprediksi nilai dari suatu variabel yang belum diketahui dengan didasarkan pada observasi masa lalu terhadap variabel tersebut dan variabel-variabel lainnya.

Menurut Crammer & Howitt, 2006, Persamaan regresi akan terlihat seperti di bawah ini:

$$Y = a + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \dots + \beta_k X_k$$

Keterangan :

- X: merupakan nilai sebenarnya suatu kasus (data)

- β : merupakan koefisien regresi jika hanya ada satu prediktor dan koefisien regresi parsial jika terdapat lebih dari satu prediktor. Nilai ini juga mewakili mewakili koefisien regresi baku (*standardized*) dan koefisien regresi tidak baku (*unstandardized*). Koefisien regresi ini merupakan jumlah perubahan yang terjadi pada Y yang disebabkan oleh perubahan nilai X. Untuk menghitung perubahan ini dapat dilakukan dengan cara mengkalikan nilai prediktor sebenarnya (observasi).
- a: merupakan intercept yang merupakan nilai Y saat nilai prediktor sebesar nol.



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Keadaan Umum Pesisir Kecamatan Gresik

Secara geografis, Pesisir Kecamatan Gresik terletak dibagian kanan atas dari peta wilayah Gresik. Pesisir Kecamatan Gresik terletak bersebelahan dengan selat madura. Kabupaten Gresik terletak antara 112^o sampai 113^o BT dan 7^o sampai 8^o LS. Pesisir Kecamatan Gresik mempunyai karakter suhu panas, dan terdapat banyak pabrik berdiri disepanjang pesisir tersebut. Lintang Selatan dan merupakan dataran rendah dengan ketinggian 2 sampai 12 meter di atas permukaan air laut, kecuali Kecamatan Panceng yang mempunyai ketinggian 25 meter di atas permukaan laut.

Sebagian wilayah Kabupaten Gresik merupakan daerah pesisir pantai, yaitu memanjang mulai dari Kecamatan Kebomas, Gresik, Manyar, Bungah, Sidayu, Ujungpangkah dan Panceng serta Kecamatan Sangkapura dan Tambak yang lokasinya berada di Pulau Bawean. Jenis tanah di wilayah Kabupaten Gresik sebagian besar merupakan tanah kapur yang relatif tandus.

Adapun batas-batas Perairan pesisir Gresik adalah :

- Sebelah Utara : Laut Jawa
- Sebelah Selatan : Kabupaten Sidoarjo
- Sebelah Barat : Kabupaten Lamongan
- Sebelah Timur : Selat Madura (Teluk Surabaya)

Wilayah Pesisir Kecamatan Gresik merupakan wilayah yang sangat terpengaruh oleh berbagai macam kegiatan, misalnya keluar masuknya kapal barang bahan baku industri, adanya industri yang berdiri disekitar wilayah pesisir, pemukiman warga yang sangat menyumbangkan limbah cair ke perairan, kemudian adanya pengolahan ikan hasil tangkapan serta kegiatan perkapalan warga. Sebelum berkembangnya industri di sekitar wilayah Pesisir Kecamatan

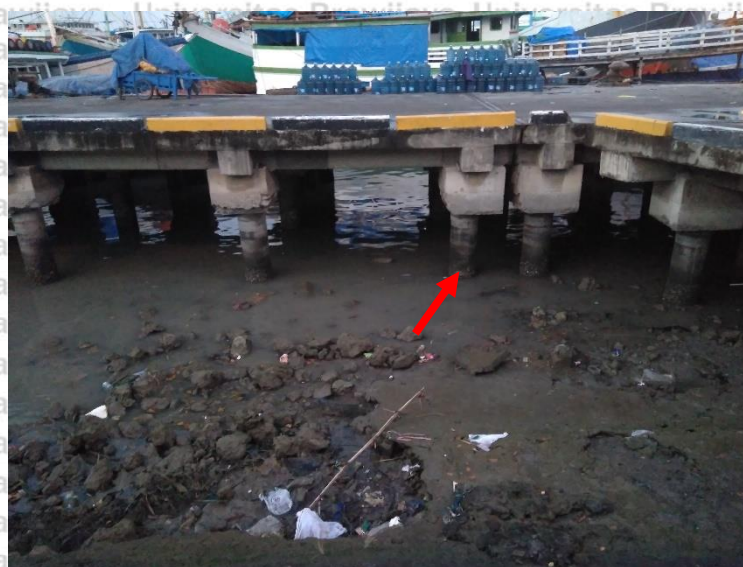
Gresik, pesisir ini banyak memiliki hasil alam yang dapat dimanfaatkan oleh warga sekitarnya.



Gambar 6. Peta Wilayah Gresik

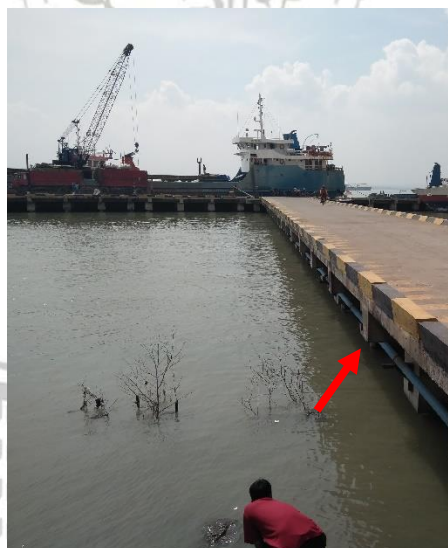
4.2 Deskripsi Stasiun Pengamatan

Pada penelitian ini, saya menggunakan 3 stasiun pengambilan sampel yang tersebar di sepanjang pesisir Kecamatan Gresik. Stasiun 1 terletak pada Pelabuhan Utama Gresik yaitu tempat berlabuhnya dan bersandarnya kapal nelayan ikan dan kapal wisata yang mengantarkan penumpang ke wisata Bawean serta kapal pengangkut bahan baku industri yang berada di Gresik. Pada pelabuhan tersebut banyak tiram menempel pada tiang – tiang beton penyangga dermaga pelabuhan. Kualitas perairan pada sekitar dermaga banyak dipengaruhi oleh adanya limbah yang disebabkan oleh bahan bakar kapal, limbah rumah tangga dan limbah industri yang di buang kebadan perairan sekitar Pelabuhan Utama Gresik. Warna dari perairan di sekitar dermaga juga tidak jernih namun berwarna coklat kehijauan serta terdapat beberapa lapisan minyak pada permukaan air.



Gambar 7.Stasiun Pengambilan Sampel 1

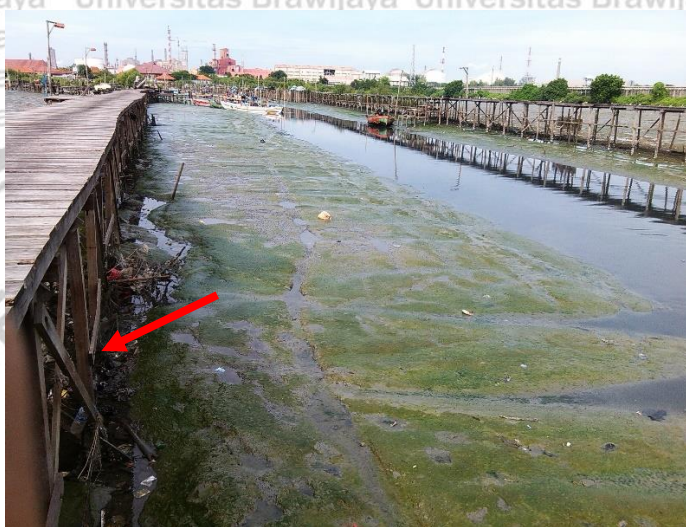
Pada Stasiun 2 terletak di muara sungai pembuangan dari penduduk di sekitar pesisir Kecamatan Gresik. Muara tersebut berada di dekat pelabuhan dan bermuara pada laut pesisir. Pada muara tersebut banyak terdapat tiram yang menempel pada batu dan dinding muara serta muara tersebut sangat di pengaruhi oleh buangan limbah dari pemukiman warga sekitar.



Gambar 8. Stasiun Pengambilan Sampel 2

Sedangkan pada stasiun 3 terletak di Tempat Pelelangan Ikan Gresik, daerah tersebut dipengaruhi adanya muara sungai dari pemukiman warga daerah Lumpur Gresik serta adanya pengolahan ikan di sekitar perairan. Pada

stasiun 3 terdapat banyak kapal nelayan dimana kapal tersebut digunakan oleh penduduk sekitar untuk mencari ikan namun kegiatan kapal tersebut menyumbangkan pencemaran logam berat melalui limbah bahan bakar kapal yang tumpah ketika melakukan pengisian ulang serta oli yang bocor dari mesin kapal - kapal tersebut. Selain dari kapal pada stasiun ini juga mendapat masukan pencemaran dari sungai yang berasal dari pemukiman warga sekitar TPI Gresik.

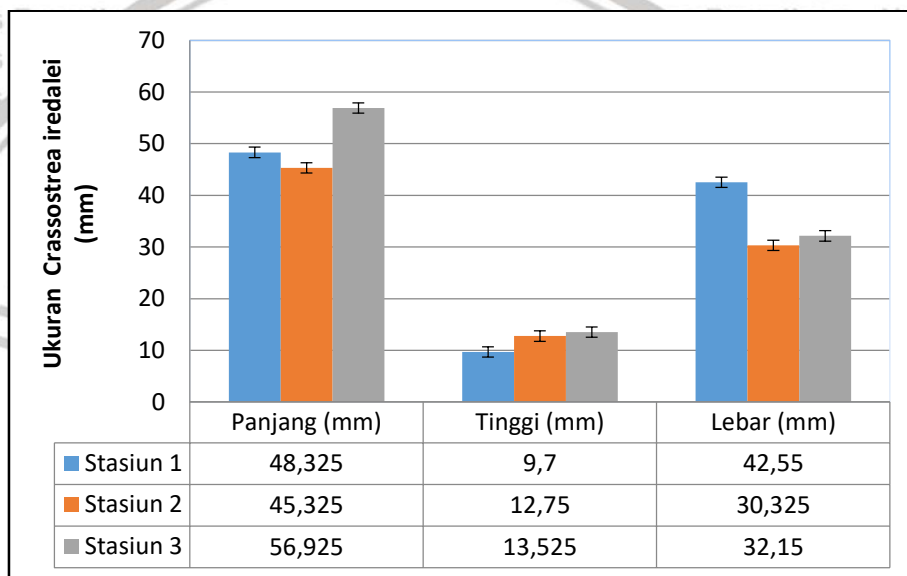


Gambar 9. Stasiun Pengambilan Sampel 3

4.3 Sebaran Ukuran Tiram *Crassostrea iredalei* dan *Crassostrea glomerata*

Sebaran ukuran sampel tiram *Crassostrea iredalei* dan tiram *Crassostrea glomerata* yang didapatkan di lokasi penelitian pesisir Kecamatan Gresik yang terbagi atas tiga stasiun pengambilan dan dilakukan dua kali pengulangan, diukur dengan menggunakan bantuan alat jangka sorong meliputi pengukuran panjang, lebar dan tinggi tiram. Mengetahui sebaran ukuran tiram bermaksud guna mendapatkan ukuran tiram yang mengandung kadar metallothionein yang tinggi, dikarenakan ukuran tiram memiliki pengaruh terhadap kemampuan tiram dalam menyerap bahan pencemar terutama logam berat. Hal tersebut sesuai dengan Rahayu (2014), menyatakan bahwa semakin besar ukuran bivalvia maka kandungan logam berat dalam tubuh bivalvia akan semakin tinggi.

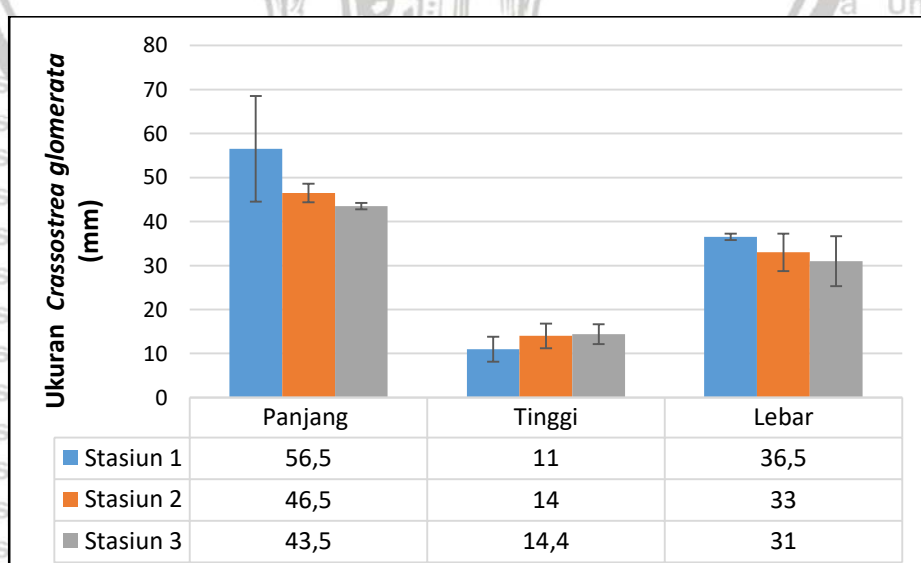
Sebelum dilakukan pengukuran, tiram dipisahkan dengan tiram lainnya yang menempel, kemudian sampel tiram dibersihkan dari lumpur dan kotoran yang menempel pada cangkang tiram. Sampel tiram yang akan diukur harus memiliki bentuk cangkang yang utuh. Sampel tiram yang didapatkan memiliki ukuran yang berbeda, ukuran sampel tiram harus di seleksi sehingga didapatkan hasil yang seragam di setiap ulangnya. Berdasarkan hasil pengukuran yang telah dilakukan, maka didapatkan hasil rata-rata ukuran tiram *Crassostrea iredalei* yang disajikan pada Gambar berikut :



Gambar 10. Grafik Hasil Ukuran Tiram *Crassostrea iredalei*

Berdasarkan grafik diatas mengenai pengukuran sampel tiram *Crassostrea iredalei*, dapat diketahui pada stasiun 1 tiram *Crassostrea iredalei* memiliki panjang antara 47,15-49,5 dengan panjang rata-rata 48,32 mm, tinggi berkisar 9,1-10,3 mm dengan tinggi rata-rata sebesar 9,7 mm dan lebar tiram *Crassostrea iredalei* berkisar 42-43,1 mm dengan lebar rata-rata sebesar 42,55 mm. Pada stasiun 2, didapatkan panjang tiram *Crassostrea iredalei* sebesar 42,15-48,5 mm dengan panjang rata-rata sebesar 45,32 mm, tinggi tiram *Crassostrea iredalei* sebesar 10,2-15,3 dengan tinggi rata-rata sebesar 12,75 dan memiliki lebar berkisar antara 39,35-21,3 mm dengan lebar rata-rata sebesar 30,32 mm.

Sedangkan pada pengukuran yang dilakukan di stasiun 3 didapatkan panjang tiram *Crassostrea iredalei* sebesar 66,45-47,4 mm dengan panjang rata-rata sebesar 56,92 mm, sedangkan pengukuran terhadap tinggi tiram *Crassostrea iredalei* didapatkan hasil sebesar 16,8-10,25 mm dengan tinggi rata-rata sebesar 13,52 mm dan lebar tiram *Crassostrea iredalei* berkisar sebesar 36,2-28,1 mm dengan lebar rata-rata sebesar 32,15 mm. Data hasil pengukuran tiram *Crassostrea iredalei* dapat dilihat pada Lampiran 3. Ukuran tiram yang digunakan pada penelitian ini memiliki pengaruh terhadap kemampuan tiram dalam menyerap bahan pencemar terutama logam berat. Dimana semakin besar ukuran tiram maka bahan pencemar yang terakumulasi dalam tubuhnya akan semakin besar yang akan memacu semakin banyaknya produksi metallothionein dalam tubuh. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Apriadi (2005), rata-rata konsentrasi logam berat tertinggi pada kerang yang berukuran sedang (4 - 6 cm) lebih tinggi dibandingkan kerang berukuran kecil (<4 cm) karena menunjukkan hasil yang berbeda jauh dan tingkat akumulatif terhadap logam berat rendah. Sedangkan pengukuran tiram *Crassostrea glomerata* disajikan pada Gambar berikut:



Gambar 11. Grafik Hasil Ukuran Tiram *Crassostrea glomerata*

Berdasarkan grafik di atas maka dapat diketahui ukuran tiram *Crassostrea glomerata* pada stasiun 1 memiliki panjang antara 65-48mm dengan rata-rata panjang sebesar 56,75 mm, tinggi tiram *Crassostrea glomerata* berkisar antara 9-13 mm dengan tinggi rata-rata sebesar 11,25 mm lebar tiram *Crassostrea glomerata* berkisar antara 36-37 mm dengan lebar rata-rata sebesar 36,5 mm,.

Pada stasiun 2, tiram *Crassostrea glomerata* memiliki panjang antara 48-45 mm dengan panjang rata-rata sebesar 46,5 cm, tinggi tiram *Crassostrea glomerata* 12-16 mm dengan rata-rata 14 mm, dan lebar tiram sebesar 36-30 dengan rata-rata 33mm. Sedangkan pada stasiun 3 didapatkan panjang tiram *Crassostrea glomerata* antara 43-44 mm dengan panjang rata-rata sebesar 43,5 mm, tinggi tiram *Crassostrea glomerata* berkisar 16-12,8 mm dengan tinggi rata-rata sebesar 14,4 mm sedangkan lebar tiram *Crassostrea glomerata* berkisar 35-27 mm dengan lebar rata-rata sebesar 31 mm. Data hasil pengukuran tiram *Crassostrea glomerata* dapat dilihat pada Lampiran 3. Berdasarkan hasil tersebut ukuran tiram mempunyai pengaruh terhadap tingkat penyerapan logam, selain dipengaruhi oleh ukuran dan usia tiram, akumulasi bahan pencemar didalam tubuh bivalvia juga dipengaruhi oleh konsentrasi bahan pencemar yang terkandung di dalam air, kemampuan akumulasi dan lamanya pernafasan (Irnidayanti, 2013).

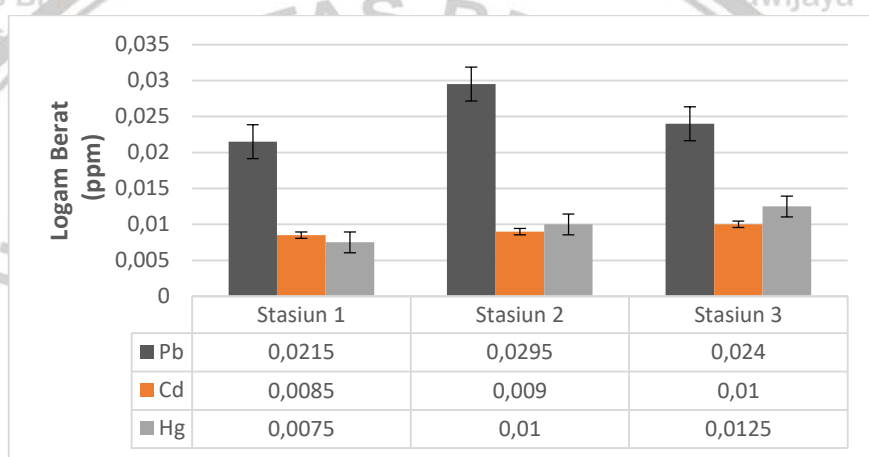
4.4 Analisis Logam Berat

4.4.1 Kadar Logam Berat di Air

Pengambilan sampel logam berat pada air di lokasi pesisir Kecamatan Gresik yang terbagi atas 3 stasiun. Pengambilan di stasiun 1 dilakukan di daerah pelabuhan tempat banyak kapal melakukan kegiatan transportasi laut, stasiun 2 dilakukan di daerah muara sungai tempat limbah warga sekitar pesisir Kecamatan Gresik dibuang dan pengambilan stasiun 3 dilakukan di sekitar

Tempat Pelelangan Ikan (TPI) dan pemukiman, dimana limbah yang dihasilkan dari ikan yang sudah tidak digunakan serta bahan bakar kapal yang tumpah akibat kebocoran mesin kapal. Analisis logam berat dilakukan di Laboratorium Lingkungan Kimia Dasar Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya, Malang.

Adapun logam berat yang dianalisis adalah logam berat Pb, Cd dan Hg dimana sampel logam berat yang diambil di setiap stasiun pengamatan memiliki konsentrasi yang berbeda-beda. Data mengenai hasil perbandingan logam berat di tiga stasiun disajikan pada Gambar berikut dan dapat dilihat pada Lampiran 4:



Gambar 12. Data Hasil Logam Berat di Perairan

Berdasarkan grafik di atas mengenai hasil pengukuran logam berat, dapat diketahui bahwa logam berat Pb memiliki konsentrasi yang paling tinggi di semua stasiun penelitian kemudian diikuti dengan logam berat Hg dan Cd. Pada stasiun1 logam berat Pb memiliki kandungan rata-rata sebesar 0,0215 ppm, Cd memiliki kandungan rata-rata sebesar 0,0085 ppm dan Hg memiliki kandungan rata-rata 0,0075 ppm. Pada stasiun 2 kandungan rata-rata Pb sebesar 0,0295 ppm, Cd memiliki rata-rata 0,009 ppm, dan logam berat Hg memiliki kandungan rata-rata sebesar 0,01 ppm. Sedangkan pada stasiun 3 logam berat Pb memiliki kandungan rata-rata sebesar 0,024 ppm, logam berat Cd memiliki kandungan



rata-rata sebesar 0,01 ppm, dan Hg dengan kandungan rata-rata sebesar 0,0125 ppm.

Berdasarkan data dan grafik di atas dapat diketahui logam berat Pb memiliki kandungan yang sangat tinggi dengan kisaran 0,0215 – 0,0295 ppm dengan rata-rata dari ketiga stasiun yaitu sebesar 0,025 ppm. Mengacu berdasarkan Peraturan Pemerintah No. 82 Tahun 2001 ambang batas logam berat Pb di air tidak boleh melebihi 0,03 mg/l. Dan berdasarkan Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup No 51 Tahun 2004 mengenai baku mutu air terhadap kandungan logam berat, kandungan Pb yang optimal bagi lingkungan perairan tidak boleh melebihi 0,05 mg/l, Hg kurang dari 0,003 mg/l dan Cd tidak boleh melebihi 0,01 mg/l. Dari hasil tersebut maka dapat dikatakan bahwa kandungan logam berat Pb di perairan pesisir Kecamatan Gresik termasuk kategori yang aman untuk mendukung kehidupan organisme perairan dan digunakan manusia, akan tetapi dapat dilihat bahwa kandungan Hg pada perairan pesisir Gresik telah melebihi ambang batas yang telah ditentukan yaitu dengan rata-rata dari semua stasiun sebesar 0,01 ppm. Berdasarkan pernyataan Peraturan Pemerintah No. 82 Tahun 2001 yang menyatakan bahwa ambang batas logam berat Hg di air tidak boleh melebihi 0,005 mg/l, oleh sebab itu perairan pesisir Gresik sudah tercemar oleh logam berat Hg.

Berdasarkan pemaparan diatas dapat diketahui bahwa stasiun yang mengandung logam berat di air yang tertinggi adalah pada stasiun 3 yaitu disekitar Tempat Pelelangan Ikan (TPI). Hal ini dirasa cukup masuk akal mengingat kegiatan yang ada di Tempat Pelelangan Ikan (TPI) sangat beragam contohnya banyak kapal masuk dan bersandar di dekat Tempat Pelelangan Ikan (TPI), kemudian terdapat sungai aliran pasar dan rumah tangga (detergen) yang bermuara di dekat Tempat Pelelangan Ikan (TPI), sehingga dari banyaknya kegiatan tersebut juga akan menghasilkan limbah yang banyak juga sehingga

dapat mencemari perairan di lingkungan tersebut. Pernyataan tersebut sesuai dengan Ruaney *et al.*, (2012), yaitu tingkat akumulasi logam berat dapat melalui rantai makanan, organisme puncak mempunyai tingkat akumulasi logam yang tinggi seperti ikan merupakan organisme utama rantai makanan yang dapat mengakumulasi sejumlah besar logam-logam tertentu.

Logam berat dominan yang terkandung di dalam air adalah timbal (Pb) dan kandungan tertinggi berada di stasiun 2 yang merupakan muara sungai lingkungan pesisir Kecamatan Gresik dengan kadar 0,0295 ppm. Sesuai dengan pernyataan Menteri Negara Lingkungan Hidup (2004) ambang batas timbal pada perairan yaitu sebesar 0,05 mg/l, sehingga dapat dikatakan bahwa kandungan Pb dalam pesisir Kecamatan Gresik termasuk dalam ambang batas yang optimum bagi kehidupan organisme perairan. Tingginya logam berat Pb terutama di stasiun 2 diduga berasal dari limbah rumah tangga seperti pembuangan air sabun, endapan sampah, buangan pelumas dan bahan bakar minyak. Kemudian disebabkan juga oleh adanya limbah industri seperti pembuangan gas pembangkit listrik tenaga uap, industri batu bara, pembuangan limbah pupuk dan semen di sekitar yang bercampur dengan air sungai sehingga dapat menambah kandungan Pb yang ada di perairan muara sungai tersebut.

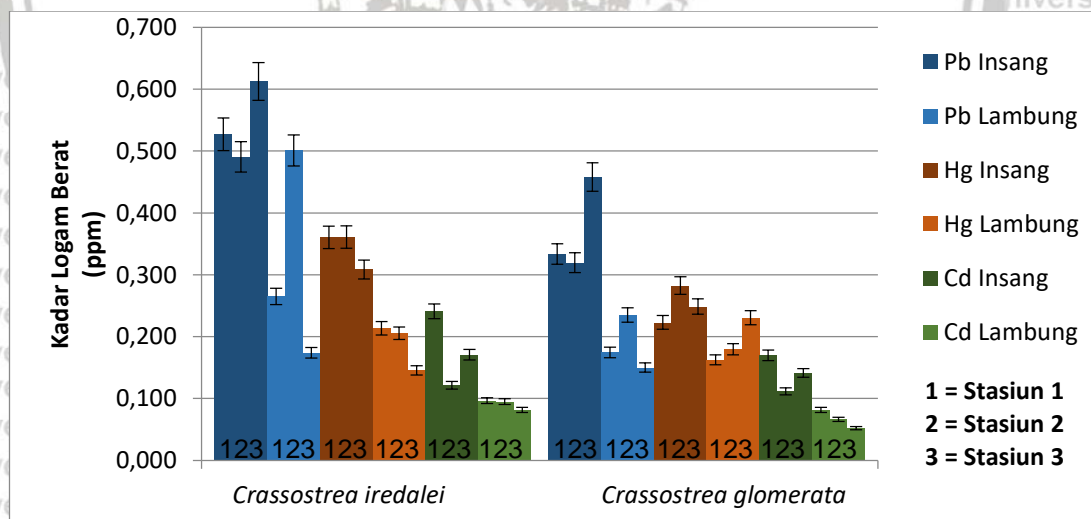
Menurut Surani (2002), emisi Pb dari gas buangan mesin kapal maupun pabrik dimanapun sumber pencemar tersebut berada, akan tetap menimbulkan pencemaran. Tahapannya sebagai berikut: 10% akan mencemari lokasi dalam radius kurang dari 100 m, 5% akan mencemari lokasi dalam 20 km, dan 35 % akan terbawa atmosfer dalam jarak yang cukup jauh. Merkuri dalam perairan dapat berasal dari buangan limbah industri kelistrikan dan elektronik, baterai, pabrik bahan peledak, fotografi, pelapisan cermin, pelengkap pengukur, industri bahan pengawet, pestisida, industri kimia, petrokimia, limbah kegiatan

laboratorium dan pembangkit tenaga listrik yang menggunakan bahan baku bakar fosil (Suryadiputra, 1995).

4.4.2 Kadar Logam Berat di Insang Lambung *Crassostrea iredalei* dan *Crassostrea glomerata*

Menurut Apriadi (2005), Sifat hidupnya yang sessil dan *filter feeder*, mengakibatkan kerang hijau dapat menyerap logam berat di kolom air dan sedimen melalui proses makan memakan. Biota laut seperti bivalvia yang didalamnya termasuk kerang dan tiram merupakan organisme yang rentan menerima kontaminasi logam berat dalam perairan yang selanjutnya akan terakumulasi dalam tubuh. Hal ini disebabkan karena bivalvia memiliki gerakan yang lambat bahkan cenderung menempel pada substrat (Irawan et al., 2015).

Pada penelitian ini dilakukan pengukuran kadar logam berat (Pb, Hg, Cd) pada 2 jenis tiram yang diambil dan didapatkan kadar logam berat di insang dan lambung dari kedua tiram yaitu seperti yang tertera pada gambar di bawah :



Gambar 13. Grafik Rata- Rata Hasil Pengukuran Kadar Logam Berat pada *Crassostrea iredalei* dan *Crassostrea glomerata*

Berdasarkan grafik di atas dapat dijelaskan bahwa hasil pengukuran kadar logam berat pada kedua tiram mengalami keadaan yang berbeda dan fluktuatif. Keadaan paling tinggi terdapat pada insang di kedua tiram hal tersebut dikarenakan insang merupakan tempat menyaring makanan dan air yang

diserap. Hal tersebut juga mempengaruhi kondisi logam berat pada jaringan tersebut sehingga dapat mengakibatkan penumpukan logam berat pada jaringan insang di kedua tiram yang diambil.

Berdasarkan grafik diatas dapat diketahui bahwa kadar logam berat yang tinggi pada kedua organisme adalah Timbal (Pb) diikuti oleh logam berat merkuri (Hg) dan kadmium (Cd). Sedangkan untuk kandungan logam berat secara keseluruhan tertinggi terdapat pada organ jaringan insang tiram *Crassostrea iredalei* maupun *Crassostrea glomerata*.

Rata-rata kandungan logam berat timbal (Pb) pada insang *Crassostrea iredalei* pada setiap stasiun berturut-turut adalah sebesar 0,527 mg/l, 0,491 mg/l, 0,613 mg/l dan pada lambung berturut-turut adalah sebesar 0,265 mg/l, 0,501 mg/l, 0,174 mg/l. Sedangkan pada tiram *Crassostrea glomerata* kandungan rata-rata timbal (Pb) pada insang berturut-turut sebesar 0,334 mg/l, 0,320 mg/l, 0,458 mg/l dan pada lambung rata-rata timbal (Pb) berturut-turut sebesar 0,175 mg/l, 0,235 mg/l, 0,150 mg/l. Berdasarkan hasil perbandingan kandungan logam berat antara insang dan lambung dari kedua jenis tiram, maka didapatkan hasil yang menyatakan bahwa kandungan logam berat pada jaringan insang lebih tinggi dibandingkan kandungan logam berat pada jaringan lambung. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Rahayu (2014), bahwa batas maksimum pencemaran logam berat pada Hg dan Cd adalah 1 ppm, sedangkan batas maksimum pencemaran logam berat pada Pb adalah 1,5 ppm. Data pengukuran logam berat pada tiram dapat dilihat pada Lampiran 5 dan 6.

Tinggi rendahnya kadar logam berat pada jaringan tergantung pada tiram yang memiliki ukuran besar, hal tersebut dikarenakan selama spesies tersebut mengalami pertumbuhan, maka kemampuannya untuk mengakumulasi logam berat juga akan meningkat (Amriani, 2011). Logam berat yang masuk ke dalam jaringan tubuh melalui beberapa jalan yaitu, pada saluran pernapasan (insang),

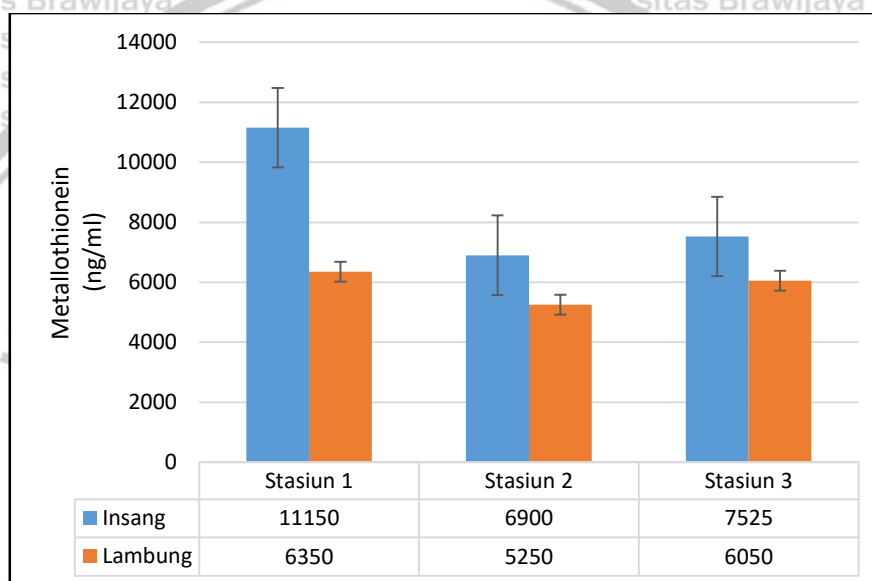
pencernaan, dan penetrasi kulit yang diabsorpsi oleh darah dan disalurkan ke seluruh jaringan tubuh. Insang merupakan organ yang berperan dalam menyaring partikel bahan yang masuk ke dalam tubuh, sehingga nilai kadar logam beratnya tinggi. Akumulasi logam berat dalam insang menyebabkan menurunnya aktivitas respirasi sehingga secara tidak langsung akan berpengaruh pada penyerapan makanan (Suryono, 2015). Kadar logam berat Pb cenderung lebih tinggi disebabkan letak masing-masing lokasi dengan aktivitas pembuangan limbah industri berdekatan. Akumulasi Pb dalam kerang terjadi karena penyerapan timbal dari air media oleh kerang sehingga Pb akan terakumulasi pada jaringan lunak tiram. Unsur logam dapat masuk ke dalam tubuh biota laut melalui tiga cara yaitu, melalui rantai makanan, insang, dan difusi melalui permukaan kulit. Semakin tinggi ketersediaan logam Pb di perairan maka semakin tinggi pula tingkat bioakumulasinya, dan kecepatan penyerapan secara langsung untuk beberapa logam sesuai dengan tingkatan ketersediaannya (konsentrasi) di lingkungannya (Rahmawati, 2015).

Berdasarkan data rata-rata logam berat pada perairan dan hasil rata-rata logam berat pada jaringan didapatkan bahwa rata-rata kadar logam berat pada jaringan lebih tinggi dibandingkan di perairan. Pernyataan tersebut sesuai dengan Apriadi (2005), nilai kandungan berat (Hg, Pb dan Cr) yang ada pada kerang lebih tinggi dibanding pada kolom air dan sedimen. Hal ini disebabkan kerang mempunyai kemampuan untuk mengakumulasi logam berat di dalam tubuhnya. Sifat hidupnya yang sesil dan *filter feeder*, mengakibatkan kerang dapat menyerap logam berat di kolom air dan sedimen melalui proses makan-memakan. Hal ini terlihat dari nilai faktor konsentrasi, kerang mampu menyerap logam berat di kolom air hingga ratusan kali dan bahkan untuk logam berat Pb dan Cr menunjukkan nilai hingga ribuan kali, yang artinya mempunyai tingkat akumulatif yang tinggi terhadap kedua logam tersebut.

4.5 Analisis Metallothionein

4.5.1 Kadar Metallothionein pada *Crassostrea iredalei*

Pada penelitian ini dilakukan pengukuran kadar metallothionein pada insang dan lambung *Crassostrea iredalei* dan *Crassostrea glomerata*. Kadar metallothionein diukur menggunakan metode ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) dimana dari setiap masing-masing organ dari setiap tiram memiliki hasil yang berbeda-beda. Nilai rata-rata kadar metallothionein disajikan pada Gambar 14 dan Gambar 15 berikut ini dan dapat dilihat pada Lampiran 7 :



Gambar 14. Grafik Rata-Rata MT pada *Crassostrea iredalei*

Gambar di atas menjelaskan tentang rata-rata kadar metallothionein pada insang dan lambung tiram *Crassostrea iredalei* di mana dapat diketahui berdasarkan grafik tersebut kadar metallothionein tertinggi berada pada insang di seluruh stasiun pengamatan. Pada insang tiram *Crassostrea iredalei* didapatkan kadar metallothionein tertinggi yaitu pada stasiun 1 yang disusul oleh stasiun 3 dan stasiun 2. Pada pengulangan 1 kadar metallothionein didapatkan sebesar 10200 ng/ml dan pada pengulangan 2 didapat kadar metallothionein sebesar 12100 ng/ml dengan rata-rata sebesar 11150 ng/ml, stasiun 3 dengan kadar metallothionein sebesar 7400 ng/ml pada ulangan 1 dan 7650 ng/ml pada

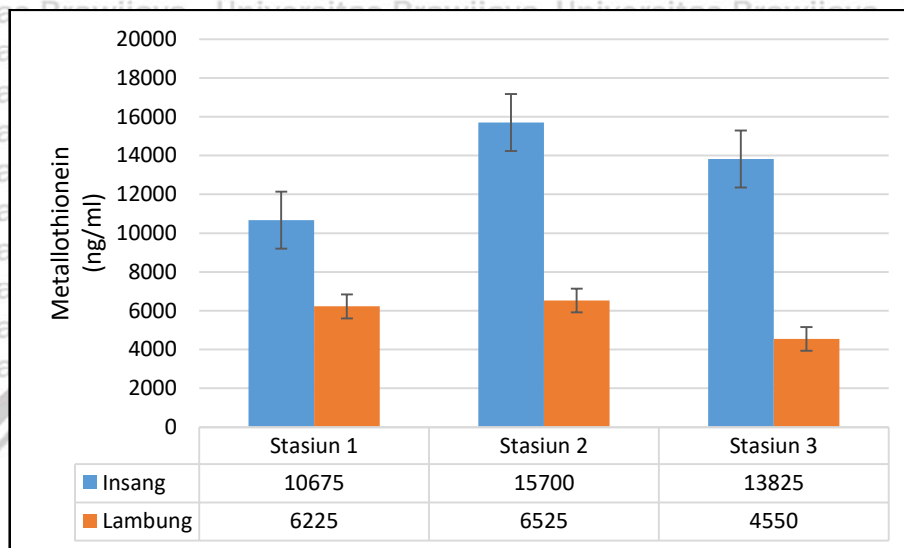
ulangan 2 dengan rata-rata kadar metallothionein sebesar 7525 ng/ml dan kadar metallothionein terendah berada pada stasiun 2 dengan kadar berkisar antara 5100 ng/ml pada ulangan 1 dan 8700 ng/ml pada ulangan 2 dengan kadar rata-rata metallothionein sebesar 6900 ng/ml.

Sedangkan pada lambung tiram *Crassostrea iredalei* didapatkan kadar metallothionein yang berbeda disetiap stasiunnya. Rata-rata kadar metallothionein tertinggi berada pada stasiun 1 diikuti oleh stasiun 3 dan stasiun 2. Pada stasiun 1 didapatkan kadar metallothionein pada pengulangan 1 sebesar 8350 ng/ml dan pada pengulangan 2 mempunyai kadar 4350 ng/ml dengan rata-rata kadar metallothionein sebesar 6350 ng/ml. Pada stasiun 3 kadar metallothionein pengulangan 1 sebesar 4350 ng/ml dan pada pengulangan 2 didapatkan kadar metallothionein sebesar 4750 ng/ml dengan rata-rata sebesar 6050 ng/ml dan pada stasiun 2 didapatkan kadar metallothionein pada pengulangan 1 sebesar 6000 ng/ml dan pada ulangan 2 sebesar 4500 ng/ml dengan rata-rata sebesar 5250 ng/ml. Data pengukuran kadar metallothionein dapat dilihat pada lembar Lampiran 6.

4.5.2 Kadar Metallothionein pada *Crassostrea glomerata*

Sedangkan pada pengukuran kadar metallothionein di organ insang dan lambung tiram *Crassostrea glomerata* di dapatkan hasil kadar metallothionein yang berbeda-beda di setiap stasiunnya. Hasil pengukuran kadar metallothionein pada insang *Crassostrea glomerata* didapatkan data yang berbeda kadar metallothionein disetiap stasiun dengan hasil rata-rata kadar tertinggi berada pada stasiun 2 diikuti oleh stasiun 3 dan stasiun 1. Pada stasiun 2 didapatkan kadar metallothionein pada pengulangan 1 sebesar 18400 dan pada pengulangan 2 sebesar 13000 ng/ml dengan rata-rata kadar metallothionein sebesar 15700 ng/ml. Pada stasiun 3 kadar metallothionein pengulangan 1 sebesar 15550 ng/ml dan pada pengulangan 2 didapatkan kadar metallothionein

sebesar 12100 ng/ml dengan rata-rata sebesar 13825 ng/ml dan pada stasiun 1 di dapatkan kadar metallothionein pada pengulangan 1 sebesar 7650 ng/ml dan 13700 ng/ml pada ulangan 2 dengan rata-rata sebesar 10675 ng/ml, seperti pada gambar di bawah ini dan dapat dilihat pada Lampiran 7 :



Gambar 15. Grafik Rata-Rata MT pada *Crassostrea glomerata*

Berdasarkan grafik di atas didapatkan kadar metallothionein pada lambung tiram selama penelitian dapat diketahui berdasarkan grafik yaitu kadar metallothionein pada lambung tiram *Crassostrea glomerata* tertinggi didapatkan pada stasiun 2 yang diikuti oleh stasiun 1 dan stasiun 3. Pada stasiun 2 kadar metallothionein pada pengulangan 1 didapatkan kadar sebesar 9050 ng/ml dan pada pengulangan 2 didapatkan kadar sebesar 4000 ng/ml dengan rata-rata sebesar 6525 ng/ml, pada stasiun 1 didapatkan kadar metallothionein pada ulangan 1 sebesar 4250 ng/ml dan pada ulangan 2 8200 ng/ml dengan rata-rata sebesar 6225 ng/ml. Sedangkan kadar metallothionein yang didapatkan pada stasiun 3 pada ulangan 1 sebesar 4350 ng/ml dan pada ulangan 2 sebesar 4350 ng/ml dengan rata-rata kadar metallothionein sebesar 4550 ng/ml. Data pengukuran kadar metallothionein dapat dilihat pada lembar Lampiran 7.

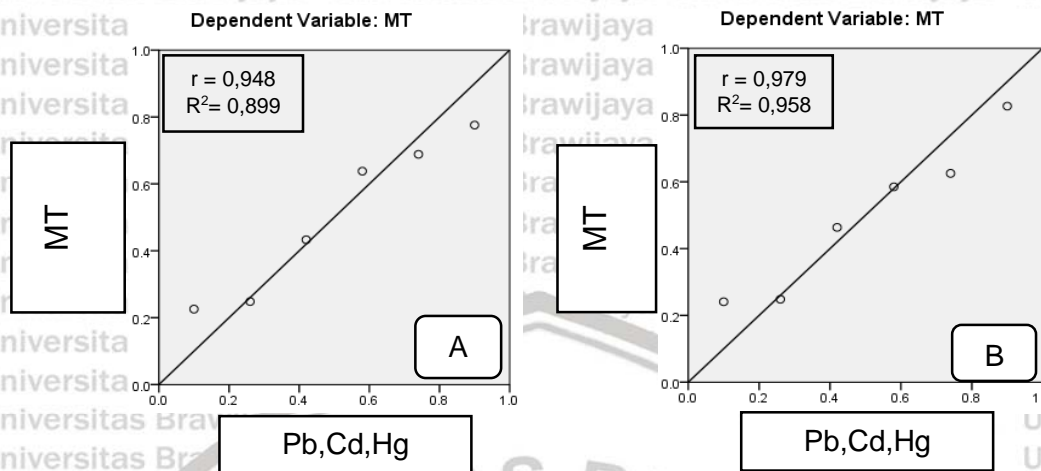
Insang merupakan jaringan yang mampu mengakumulasi logam berat lebih banyak dibanding dengan organ lainnya. Hal ini dikarenakan insang merupakan organ yang mengalami kontak langsung dengan perairan yang mengandung logam berat serta insang memiliki luas permukaan yang luas yang memungkinkan proses difusi logam berat pada perairan ke insang (Shaari et al., 2016). Terakumulasinya bahan pencemar seperti bahan organik dan logam berat pada perairan kedalam tubuh bivalvia masuk melalui insang, ginjal dan lambung. Bahan organik akan dikeluarkan melalui ginjal dan logam berat akan disintesis oleh metallothionein pada insang dan lambung (Gosling, 2004).

4.6 Hubungan Kadar Logam Berat Pb, Cd, Hg Dengan Metallothionein pada Tiram *Crassostrea iredalei* dan *Crassostrea glomerata*

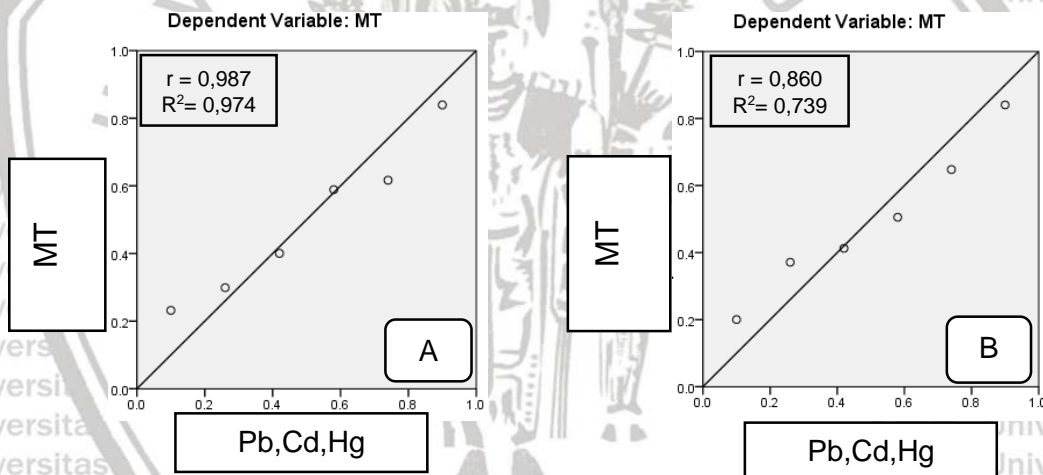
Pada penelitian ini untuk mengetahui hubungan antara kadar Metallothionein dengan logam berat dapat menggunakan analisis regresi. Menurut Sungkawa (2013), analisis regresi dikenal dua jenis peubah, yaitu peubah yang bersifat bebas (independen) yang dinotasikan sebagai X serta variabel yang bersifat tidak bebas (dependen) yang dinotasikan sebagai Y.

Hasil analisis regresi menunjukkan besarnya kandungan logam berat yang terpapar pada insang lambung mempengaruhi besarnya kandungan metallothionein yang ada pada insang lambung tiram. Umumnya kadar metallothionein pada tiram akan meningkat seiring dengan peningkatan kadar logam berat yang masuk pada tubuh tiram tersebut. Dalam penelitian ini dilakukan analisa regresi untuk mengetahui hubungan antara logam berat (Pb, Hg dan Cd) sebagai variabel bebas/independen (X) dengan kadar metallothionein sebagai variabel terikat/dependen (Y). Menurut Amiard et al., (2006), analisis regresi dapat digunakan untuk menunjukkan parameter yang paling mempengaruhi konsentrasi metallothionein diantara faktor alami (salinitas, jenis kelamin, musim, total konsentrasi protein) maupun dari faktor kontaminan.

Berdasarkan hasil analisis regresi, maka diperoleh hasil penelitian pada gambar 16 dan 17 sebagai berikut.



Gambar 16. (A) Hubungan logam berat dengan MT pada insang *C.iredalei*, (B) Hubungan logam berat dengan MT pada lambung *C.iredalei*



Gambar 17. A) Hubungan logam berat dengan MT pada insang *C.glomerata*, (B) Hubungan logam berat dengan MT pada lambung *C. glomerata*

4.6.1 Hubungan Kadar Logam Berat Pb, Cd dan Hg, dan Metallothionein pada Insang dan LambungTiram *Crassostrea iredalei*

Berdasarkan hasil regresi antara kadar metallothionein terhadap logam berat Pb pada insang tiram *Crassostrea iredalei* didapatkan nilai koefisien determinasi (R_2) sebesar 0,96 dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,922 yang berarti logam berat Pb memiliki kaitan dengan kadar metallothionein pada insang tiram *Crassostrea iredalei* sebesar 92,2% dan dipengaruhi oleh faktor lain



sebesar 7,8%. Sedangkan pengaruh logam berat Pb terhadap kadar metallothionein pada lambung tiram *Crassostrea iredalei* didapatkan hasil koefisien determinasi (R_2) sebesar 0,984 dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,969 serta memiliki hubungan fungsional sebesar 96,9% dan sekitar 3,1% dipengaruhi oleh faktor lain. Dari kedua nilai koefisien korelasi (r) antara hubungan logam berat Pb dengan kadar metallothionein pada insang dan lambung tiram *Crassostrea iredalei* didapatkan korelasi yang sangat kuat dengan koefisien korelasi (r) yaitu sebesar 0,922 sedangkan pada lambung didapatkan hubungan korelasi (r) sebesar 0,969. Hal ini sesuai dengan pernyataan Walpole (1995) yang menyatakan bahwa koefisien korelasi (r) sebesar 0,80-1000 tergolong korelasi yang sangat kuat.

Berdasarkan hasil regresi antara hubungan logam berat Cd terhadap kadar metallothionein pada insang tiram *Crassostrea iredalei* didapatkan hasil koefisien determinasi (R_2) sebesar 0,736 dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,542 yang berarti Cd berpengaruh 54,2% terhadap tersintesisnya metallothionein dalam insang tiram *Crassostrea iredalei* sedangkan hasil regresi yang dilakukan pada lambung tiram *Crassostrea iredalei* didapatkan hasil koefisien determinasi (R_2) sebesar 0,778 dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,605 yang artinya logam berat Cd mempengaruhi 60,5% kadar metallothionein pada lambung tiram *Crassostrea iredalei*. Berdasarkan hasil koefisien korelasi (r) yang dilakukan pada insang dan lambung tiram dapat diketahui bahwa logam berat Cd berpengaruh kuat terhadap kadar metallothionein pada lambung tiram. Hal ini sesuai dengan pernyataan Walpole (1995) yang menyatakan bahwa koefisien korelasi (r) sebesar 0,600-0,799 tergolong kuat.

Berdasarkan hasil regresi antara hubungan logam berat merkuri (Hg) terhadap kadar metallothionein pada insang tiram *Crassostrea iredalei* didapatkan hasil koefisien determinasi (R_2) sebesar 0,945 dengan koefisien

korelasi (r) sebesar 0,893 yang berarti Hg berpengaruh 89,3% terhadap tersintesisnya metallothionein dalam insang tiram *Crassostrea iredalei* sedangkan hasil regresi yang dilakukan pada lambung tiram *Crassostrea iredalei* didapatkan hasil koefisien determinasi (R_2) sebesar 0,797 dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,635 yang artinya logam berat Pb mempengaruhi 63,5% kadar metallothionein pada lambung tiram *Crassostrea iredalei*. Berdasarkan hasil koefisien korelasi (r) yang dilakukan pada insang dan lambung tiram, dapat diketahui bahwa logam berat Hg berpengaruh sangat kuat terhadap insang dan berpengaruh kuat terhadap kadar metallothionein lambung tiram. Hal ini sesuai dengan pernyataan Walpole (1995) yang menyatakan bahwa koefisien korelasi (r) sebesar 0,600-0,799 tergolong kuat dan bahwa apabila koefisien korelasi (r) sebesar 0,80-1000 tergolong korelasi yang sangat kuat.

Dari hasil yang didapatkan dari penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa terjadi koefisien korelasi yang kuat antara logam berat dengan kondisi kadar metallothionein, dilihat dari hasil pengukuran parameter logam berat dengan kadar metallothionein pada insang maupun lambung tiram. Hal tersebut sesuai dan berbanding lurus, ketika kondisi kadar logam berat tinggi maka pengukuran kandungan metallothionein dalam parameter jaringan tersebut juga mendapatkan hasil yang tinggi. Menurut Suparto (2014), korelasi sederhana digunakan untuk mengetahui hubungan di antara dua variabel, dan jika ada hubungan, bagaimana arah hubungan tersebut. Keeratan variabel satu dengan yang lain disebut dengan koefisien korelasi. Korelasi logam berat terhadap kadar metallothionein yang kuat sesuai dengan pernyataan Hertika *et al*, (2016), menjelaskan bahwa hasil analisis uji korelasi antara ukuran, logam berat terhadap nilai intensitas MT menunjukkan nilai korelasi (r) untuk Pb $r = 0,712$, Cd $r = 0,762$ dan Hg $r = 0,919$. Hasil analisis hubungan tersebut menunjukkan bahwa ukuran tiram dan kadar

logam berat Pb, Cd, Hg terhadap densitas intensitas MT pada Tiram tergolong kuat.

4.6.2 Hubungan Kadar Logam Berat Pb, Cd dan Hg, dan Metallothionein pada Insang dan Lambung Tiram *Crassostrea glomerata*

Berdasarkan hasil analisis regresi yang ditunjukkan pada gambar 17 dapat diketahui bahwa kadar metallothionein pada insang tiram *Crassostrea glomerata* terhadap logam berat Pb memiliki nilai koefisien determinasi (R_2) sebesar 0,854 dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,729 serta hubungan fungsional sebesar 72,9% dan dipengaruhi oleh faktor lain sebesar 27,1%. Sedangkan pengaruh logam berat Pb terhadap kadar metallothionein pada lambung tiram *Crassostrea glomerata* memiliki nilai koefisien determinasi (R_2) 0,978 dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,957 serta hubungan fungsional sebesar 95,7% dan 24,3% dipengaruhi oleh faktor lain. Berdasarkan hasil koefisien korelasi (r) maka dapat diketahui hubungan logam berat Pb pada kadar metallothionein insang tiram *Crassostrea glomerata* memiliki korelasi yang sangat kuat dan hubungan yang sangat kuat pada organ lambung. Hal ini sesuai dengan pernyataan Walpole (1995) bahwa koefisien korelasi (r) pada kisaran 0.60-0.799 termasuk dalam kategori kuat dan 0.80-1.000 tergolong dalam kategori sangat kuat.

Sedangkan hasil regresi yang dihasilkan antara hubungan kadar metallothionein pada insang tiram *Crassostrea glomerata* terhadap logam berat Cd didapatkan hasil koefisien determinasi (R_2) sebesar 0,947 dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,896 yang artinya logam berat Pb mempengaruhi 94,7% terhadap kadar metallothionein pada insang tiram *Crassostrea glomerata*.

Sedangkan pada lambung tiram *Crassostrea glomerata* didapatkan hasil koefisien determinasi (R_2) sebesar 0,689 dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,474 yang artinya bahwa Pb mempengaruhi 68,9% kadar metallothionein pada lambung tiram *Crassostrea glomerata* dan sekitar 31,1% dipengaruhi oleh faktor

lain. Berdasarkan pemaparan koefisien korelasi (r) diatas dapat diketahui bahwa hubungan logam berat Pb terhadap kadar metallothionein pada insang tiram *Crassostrea glomerata* memiliki korelasi yang sangat kuat. Hal ini sesuai dengan pernyataan Walpole (1995) yang menyatakan bahwa koefisien korelasi (r) antara 0,60-0,799 tergolong kuat dan kisaran antara 0,800-1,000 tergolong sangat kuat.

Hasil regresi yang ditunjukkan pada Gambar 17 menunjukkan hubungan antara kadar metallothionein pada insang dan lambung tiram *Crassostrea glomerata* terhadap logam berat Hg. Pada insang tiram *Crassostrea glomerata* nilai koefisien determinasi (R_2) sebesar 0,755 dengan koefisien korelasi (r) 0,569 serta memiliki hubungan fungsional sebesar 56,9% dan 43,1% dipengaruhi oleh faktor lain. Sedangkan hasil regresi hubungan kadar metallothionein pada lambung tiram terhadap logam berat Hg didapatkan hasil koefisien determinasi (R_2) sebesar 0,973 dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,947 serta memiliki hubungan fungsional sebesar 94,7% dan 5,3% dipengaruhi oleh faktor lain. Berdasarkan hasil koefisien korelasi (r) antara hubungan logam berat Hg dengan kadar metallothionein pada lambung tiram *Crassostrea glomerata* memiliki korelasi yang sangat kuat. Hal ini sesuai dengan pernyataan Walpole (1995) yang menyatakan bahwa koefisien korelasi (r) antara 0,80-1,000 tergolong sangat kuat.

4.7 Analisis Kualitas Air

Parameter kualitas air yang diukur pada penelitian ini meliputi suhu, derajat keasaman (pH), salinitas dan oksigen terlarut. Adapun hasil dari pengukuran parameter kualitas air disajikan pada tabel 1 berikut ini:

Tabel 1. Tabel Hasil Pengukuran Kualitas Perairan

Parameter	Stasiun 1	Stasiun 2	Stasiun 3
Suhu	22,4 °C	22,3 °C	29,9 °C
pH	8	8	8
Salinitas	28 ppt	16 ppt	18 ppt
DO	7,9 mg/l	7 mg/l	6 mg/l

4.7.1 Suhu

Suhu merupakan salah satu parameter kualitas air yang memiliki pengaruh terhadap parameter perairan lainnya karena suhu merupakan salah satu parameter pembatas perairan. Kisaran pengukuran suhu yang didapat di pesisir Kecamatan Gresik berkisar antara 22°C-29°C. Pada stasiun 1 suhu yang didapatkan sebesar 22,4°C, stasiun 2 sebesar 22,3°C dan pada stasiun 3 sebesar 29,9°C. Suhu tertinggi saat penelitian diperoleh dari stasiun 3 yang merupakan daerah Tempat Pelelangan Ikan (TPI) dimana lokasi ini merupakan hamparan laut lepas tanpa adanya tutupan pohon atau rumah. Menurut Broom (1985), suhu yang optimal bagi pertumbuhan bivalvia yaitu berkisar 25-32 °C.

Rakhmawati (2006) menambahkan bahwa suhu dapat mempengaruhi penyerapan logam berat kedalam makhluk hidup. Rendahnya suhu perairan dan tidak tersedianya energi dapat menghambat laju metabolisme yang kaitannya terhadap penyerapan logam berat dari lingkungan kedalam tubuh biota perairan.

Suhu memiliki peranan terhadap tinggi rendahnya kadar metallothionein yang diserap oleh bivalvia dimana semakin tinggi suhu suatu perairan maka kadar metallothionein dalam tubuh bivalvia juga akan semakin tinggi.

4.7.2 Derajat Keasamaan (pH/potensial Hydrogen)

Berdasarkan hasil penelitian tentang analisis kualitas air terhadap nilai derajat keasamaan (pH), diperoleh dari tiga stasiun penelitian memiliki nilai yang

sama yaitu dengan pH sebesar 8. Menurut Peraturan Presiden No. 82 Tahun

2001, pH yang optimal untuk mendukung kehidupan organisme air berkisar 5-9.

Rachmawaty (2011) menambahkan bahwa pH yang optimal bagi pertumbuhan bivalvia adalah sebesar 5,6-8,3. Berdasarkan hasil pengukuran pH diatas, dapat dikatakan bahwa nilai pH di lokasi penelitian yang terbagi atas tiga stasiun masih tergolong pH yang dapat mendukung proses kehidupan organisme perairan.

4.7.3 Salinitas

Kisaran salinitas di pesisir Kecamatan Gresik yaitu fluktuatif tergantung dengan kondisi stasiun. Pada stasiun 1 diperoleh nilai salinitas sebesar 28 ppt dan pada stasiun 2 diperoleh salinitas sebesar 16 ppt, dan pada stasiun 3 diperoleh data salinitas sebesar 18 ppt. Perbedaan nilai salinitas yang berbeda jauh ini dapat disebabkan karena titik pengambilan sampel antar stasiun memiliki karakter yang berbeda beda dari sumber air yang dialirkan. Menurut Islami (2013) organisme bivalvia dapat hidup pada salinitas perairan sebesar 25-40 ppt dan optimum pada salinitas 35 ppt. Distribusi dan konsentrasi logam berat dalam lingkungan perairan akan meningkat seiring dengan bertambahnya nilai salinitas (Sembel, 2011). Hal tersebut menunjukkan bahwa kondisi salinitas pada lokasi penelitian masih mendukung untuk kehidupan tiram.

4.7.4 Oksigen Terlarut (DO/Dissolved Oxygen)

Oksigen terlarut memiliki fungsi yang sangat penting terhadap kelangsungan hidup organisme perairan melalui proses respirasi. Oksigen dalam lingkungan perairan dapat berasal dari proses fotosintesis, organisme air yang memiliki klorofil dan difusi dari atmosfer. Berdasarkan hasil analisis kualitas air terhadap kadar oksigen terlarut (DO), kadar oksigen terlarut tidak memiliki perbedaan yang terlalu jauh yaitu berkisar 4-7,9 mg/l. Oksigen terlarut pada stasiun 1 didapatkan hasil sebesar 7,9 mg/l, stasiun 2 sebesar 7 mg/l dan pada stasiun 3 didapatkan kadar oksigen terlarut sebesar 6 mg/l. Pada stasiun 3

kondisi DO sangat minim dikarenakan lokasi penelitian yang kumuh dan dangkal serta terdapat banyak lumpur pada stasiun tersebut.

Tinggi-rendahnya kandungan oksigen terlarut dalam perairan juga dipengaruhi oleh faktor temperatur, tekanan dan konsentrasi berbagai ion yang terlarut dalam air pada perairan tersebut (Fitra, 2008). Selain untuk mendukung proses kehidupan, kadar oksigen terlarut memiliki hubungan terhadap kepadatan tiram. Semakin tinggi oksigen terlarut pada suatu perairan akan diikuti dengan meningkatnya kepadatan bivalvia terutama di daerah yang ternaungi seperti di daerah hutan mangrove (Suwondo *et al.*, 2012).



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan pemaparan hasil penelitian, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

- Hasil analisis logam berat pada Perairan Pesisir Kecamatan Gresik menunjukkan bahwa kadar logam berat (Pb, Cd) masih dalam ambang batas normal, sebaliknya kadar logam berat Hg sudah melebihi ambang batas normal dari Peraturan Pemerintah No. 82 Tahun 2001 yang menyatakan bahwa ambang batas logam berat Hg di air tidak boleh melebihi 0,005 mg/l yaitu dengan rata-rata dari stasiun 1, stasiun 2 dan stasiun 3 sebesar 0,01 ppm.
- Rata-rata hasil pengukuran kadar kandungan logam berat pada jaringan tiram menunjukkan hasil yang lebih tinggi dibandingkan kadar logam berat pada perairan dan kandungan logam berat pada jaringan insang lebih tinggi dibandingkan logam berat pada lambung. Rata-rata hasil pengukuran kadar metallothionein yang diperoleh pada kedua jenis tiram pada jaringan insang dan dan lambung menunjukkan hasil yang fluktuatif di pengaruhi oleh jaringan yang diambil serta kondisi lingkungan yang ada. Kadar Methallotionein pada insang tiram lebih tinggi dari pada di lambung tiram
- Berdasarkan hasil regresi menunjukkan hasil bahwa logam berat berpengaruh kuat hingga sangat kuat terhadap kadar metallothionein pada insang dan lambung kedua jenis tiram yang membuktikan bahwa semakin tinggi kandungan logam berat akan diikuti juga semakin tingginya kadar metallothionein yang terbentuk.

5.2 Saran

Kadar methallotionein yang sangat berkorelasi dengan kadar logam berat Pb, Cd dan Hg di perairan pesisir Kecamatan Gresik. Sehingga dengan melihat kadar metallothionein dapat digunakan untuk menduga keadaan lingkungan pesisir.



DAFTAR PUSTAKA

- Amiard, J. C., C. Amiard-Triquet, S. Barka, J. Pellerin dan P. S. Rainbow. 2006. Metallothioneins in aquatic invertebrates: their role in metal detoxification and their use as biomarkers. *Aquatic Toxicology*. 76: 160–202.
- Amnan, M. 1996. Evaluasi Kandungan Logam Berat Hg Dan Pb Pada Kerang *Polymesoda* sp Pada Ekosistem Sungai Di Kawasan Industri (Studi Kasus Sungai Donan, Cilacap). Tesis. Program Pascasarjana. Program Studi Ilmu Lingkungan. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Amriani., B,Hendrarto dan A,Hadiyanto. 2011. Bioakumulasi Logam Berat Timbal (Pb) Dan Seng (Zn) Pada Kerang Darah (*Anadara Granosa* L.) Dan Kerang Bakau (*Polymesoda Bengalensis* L.) Di Perairan Teluk Kendari. Program Studi Ilmu Lingkungan Program Pasca Sarjana UNDIP.
- Amriani., B.Hendrarto., A.Hadiyanto. 2011. Bioakumulasi Logam Berat Timbal (Pb) Dan Seng (Zn) Pada Kerang Darah (*Anadara granosa* L.) dan Kerang Bakau (*Polymesoda bengalensis* L.) Di Perairan Teluk Kendari. *Jurnal Ilmu Lingkungan*. Universitas Diponegoro Semarang. 9(2): 45-50
- Apriadi, D. 2005. Kandungan Logam Berat Hg, Pb Dan Cr Pada Air, Sedimen Dan Kerang Hijau (*Perna Viridis* L.) Di Perairan Kamal Muara, Teluk Jakarta. Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor: Bogor.
- Astuti,S., T,Resmiati., S,Diana. 2001. Analisis Isi Lambung Tiram *Crassostrea* Sp. Dari Perairan Batukaras, Ciamis. Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran: Bandung
- Badan Standarisasi Indonesia. 2009. Batas Maksimum Cemar Logam Berat dalam Pangan. SNI 7387:2009.
- Bebiano, M.J., Cravo, A., Miguel, C., dan Morais, S., 2003. Metallothionein Concentrations in A Population of *Patella aspersa*: Variation with Size. *Sci. Total Environ.*, 301:151–161.
- Besral. 2010. Pengolahan dan analisis data-1 menggunakan SPSS. Jakarta: Departemen Biostatistika- FKM UI.
- Bobocea, A. C., Fertig, E.T., Pislea, M., Seremet, T., Katona, G., Magdalena Mocanu,I.O., Doagă, I.O., Radu, E., Horváth, J., Tanos, E., Katona, L., and Katona, E. 2008. Cadmium and Soft Laser Radiation Effects on Human T Cells Viability and Death Style Choices. *Romanian J. biophys*, Vol. 18, pp, 179–193.
- Darmono, 2001. Lingkungan Hidup dan Pencemaran (Hubungannya dengan Toksikologi Senyawa Logam), Penerbit : Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Desouky, M.M.A. 2012. Metallothionein is Up-Regulated in Molluscan Responses to Cadmium, but not Aluminium, Exposure. *The Journal of Basic and Applied Zoology*. 65: 139-143.
- Dewi,N,K., Purwanto., Sunoko,H,R. 2014. Metallothionein Pada Hati Ikan Sebagai Biomarker Pencemaran Kadmium (Cd) Di Perairan Kaligarang Semarang. Jurusan Biologi, Fmipa Universitas Negeri Semarang



- Dharma, Surya. 2008. Pendekatan, Jenis, Dan Metode Penelitian Pendidikan. Direktorat Tenaga Kependidikan. Jakarta.
- Djaali Dan P. Muljono. 2007. Pengukuran Dalam Bidang Pendidikan. Program Pasca Sarjana Universitas Negeri Jakarta. Jakarta Timur.
- Encyclopedia of Life. 2013. *Crassostrea glomerata*. A. A. Gould, 1850. <http://www.eol.org/pages/4738583/names>.
- Erlangga, 2007. Efek pencemaran perairan Sungai Kampar di Propinsi Riau terhadap Ikan Baung (*Hemobagrus hemurus*). Thesis. Sekolah Pascasarjana IPB Bogor. 87 hal.
- Fabianto, M. D dan Berhиту, P. Th. 2014. Konsep Pengelolaan Wilayah Pesisir Secara Terpadu Dan Berkelanjutan Yang Berbasis Masyarakat. Jurnal TEKNOLOGI. 11(2): 2054-2058.
- Fernanda, L. 2012. Studi Kandungan Logam Berat Timbal (Pb), Nikel (Ni), Kromium (Cr) dan Kadmium (Cd) pada Kerang Hijau (*Perna viridis*) dan Sifat Fraksionasinya pada Sedimen Laut. Skripsi. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Departemen Kimia. Depok.
- Fitra,E. 2008. Analisis Kualitas Air Dan Hubungannya Dengan Keanekaragaman Vegetasi Akuatik Di Perairan Parapat Danau Toba. Pascasarjana Universitas Sumatera Utara: Medan.
- Flora, S. J. S., 2009. Metal Poisoning: Treatment and Management. Review Article. Al Ameen. J. Med. Sci, Vol 2, pp. 4-26.
- Galtsoff, P. S. 1964. The American Oyster. Northeast Fisheries Science Center. Oceanic And Atmospheric Administration.
- Gosling,E. 2004. Bivalve Molluscs: Biology, Ecology and Culture. Fishing News Books, a division of Blackwell Publishing.
- Hanson, N., 2008. Does Fish Health Matter ? The Utility of Biomarkers in Fish for Environmental Assessment. Ph.D. Thesis Department of Plant and Environmental Sciences. University of Gothenburg.
- Harahap. S. 1991. Tingkat Pencemaran Air Kali Cakung Ditinjau dari Sifat Fisika-Kimia Khususnya Logam Berat dan Keanekaragaman Jenis supriHewan Benthos Makro. IPB. 167 hal.
- Hasan, M. I. 2002. Pokok-pokok Materi Metodologi Penelitian dan Aplikasinya. Ghalia Indonesia. Bogor.
- Hertika, A. M. S., F. A. Hidayatullah., Mulyanto. 2016. Hubungan Kadar Logam Berat Timbel (Pb), Cadmium (Cd) Dan Merkuri (Hg) Terhadap Ekpresi Metallothionein (Mt) Pada Lambung Tiram (*Crassostrea Irradalei*). Seminar Nasional Peerikanan dan Kelautan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya. Malang
- Hutagalung, H. P. 1994. Kandungan Logam Berat Dalam Sedimen di Perairan Teluk Jakarta. Prosiding Seminar Pemantauan Pencemaran laut dan Interkalibrasi. Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseanografi- LIPI. Jakarta.
- Hutagalung. H.P. 1991. Pencemaran Laut Oleh Logam Berat. Puslitbang Oseanologi. Status Pencemaran Laut di Indonesia dan Teknik Pemantauannya. LIPI. Jakarta.

Idris, I. B. 2006. Pengaruh Faktor-faktor Persekitaran Terhadap Pertumbuhan dan Kemandirian Tiram Komersil *Crassostrea iredalei* (Faustino) di Kawasan Peternakan Tiram di KG. Telaga Nenas, Perak. Tesis. University Sains Malaysia.

Irawan, B., B. Amin., Thamrin. 2015. Analisis Kandungan Logam berat Cu, Pb dan Zn pada Air, Sedimen dan Bivalvia di perairan Pantai Utara Pulau Bengkalis. *Dinamika Lingkungan Indonesia*, Januari 2015, p 40-51.

Irnidayanti, Y. 2013. Ekspresi Protein Metallothionein on Hepatopancreas, Gill and Muscle of *Perna viridis* Caused by Bioaccumulation of Heavy Metal. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Jakarta.

Islami, M.M. 2013. Pengaruh Suhu dan Salinitas Terhadap Bivalvia. UPT Balai Konservasi Biota Laut Ambon LIPI: Jakarta.

Jamilah. 2015. Analisis Hidro-Oseanografi Untuk Budidaya Tiram Mutiara Di Perairan Baubau. *Jurnal biotek*. Vol 3(2): 92-105.

Kementerian Lingkungan Hidup. 2011. Status Lingkungan Hidup Indonesia 2010. Kementerian Lingkungan Hidup Republik Indonesia. Jakarta.

Kordi, K dan Andi Baso Tancung. 2007. Pengelolaan Kualitas Air dalam Budidaya Perairan. PT. Rhineka Cipta. Jakarta.

Lasut, M.T. 2002. Metallothionein: Suatu parameter kunci yang penting dalam penetapan baku mutu air laut (BMAL), Indonesia. *Ekoton* Vol 2, No. 1: 61-68. Pusat Penelitian Lingkungan Hidup dan Sumberdaya Alam (PPLH-SDA). Lembaga Penelitian, Universitas Sam Ratulangi, Manado, Indonesia. Hal 8.

Liliandari, P., Aunurohim. 2013. Kecepatan Filtrasi Kerang Hijau *Perna viridis* Terhadap *Chaetoceros* sp dalam Media Logam Tercemar Kadmium. *Jurnal sains dan Seni Pomits*. 2(1).

Linde, A. R., Garcia V. E. 2006. A simple assay to quantify metallothionein helps to learn about bioindicators and environmental health. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 34, 360-363.

Mandagi, A., Patrice N.K. dan Masengi K. 2013. Sebaran Suhu dan Salinitas di Teluk Manado. *Jurnal Perikanan dan Kelautan Tropis*. Vol 12(2):71-75.

Menteri Negara Lingkungan Hidup. 2004. Baku Mutu Air Laut Nomor 51 Tahun 2004.

Nontji, A. 1993. Laut Nusantara: Djembatan. Jakarta. 450 hlm.

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

Nybakken, W. J. 1992. Biologi Laut Suatu Pendekatan Ekologis. Jakarta: PT Gramedia.

Palar, H. Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat, Edisi ke-2. Rineka Cipta, 10-62.

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

Poutiers, J. E. 1998. FAO species identification guide for fisheries purposes. The living marine Resources of the Western Central Pacific. Volume I.



- Seaweeds, corals, bivalves and gastropods. Pp. 123-686. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Purba, D. K., Pujiono. W. P., Max. R. M. 2015. Analisis Kesuburan Perairan Sekitar Muara Sungai Tuntang, Morodemak Berdasarkan Hubungan Antara Nilai Produktivitas Primer Dengan NO₃ dan PO₄. Diponegoro Journal Of Maquares. Vol 4: 19-24.
- Putranto, T. T. 2011. Pencemaran Logam Berat Merkuri (Hg) Pada AirTanah. TEKNIK. 32(1).
- Rachmawati, S., A, Lee., T, B, Murdiati., I. Kennedy. 2004. Pengembangan Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Teknik Untuk Analisis Aflatoxin B1 Pada Pakan Ternak. Prosiding Seminar Parasitologi dan Toksikologi Veteriner
- Rachmawaty. 2011. Indeks Keanekaragaman Makrozoobentos Sebagai Bioindikator Tingkat Pencemaran Di Muara Sungai Jeneberang. Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Makassar.
- Rahayu Asih. 2014. Distribusi Logam Berat Pada Kerang Hijau (*Perna viridis*) Dari Perairan Kamal Muara, Tangerang-Jakarta. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Rahayu, A. 2014. Distribusi Logam Berat Pada Kerang Hijau (*Perna Viridis*) Dari Perairan Kamal Muara, Tangerang – Jakarta. Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor: Bogor.
- Rahmawati., B. Hamzah., S. Nuryanti. 2015. Analisis Kadar Timbal (Pb) Dalam Daging Kerang Bakau (*Polymesoda erosa*) Dan Kerang Darah (*Andara gramosa*) Di Perairan Salule Pesangkayu Sulawesi Barat. Universitas Tadulako. Palu. 4(2): 78-83
- Rakhmawati, A. 2006. Biosorpsi Ion Logam Kadmium Oleh *Aspergillus flavu*. Jurusan Pendidikan Biologi FMIPA UNY
- Ridhowati, S. 2013. Mengenal Pencemaran Ragam Logam. Graha Ilmu: Yogyakarta
- ROHS 009 (I). Prosedur penggunaan pH meter.
- Romimohtarto K. 1985. Kualitas Air dalam Budidaya Laut. Badan Penyimpanan Dokumen FAO Laporan Kerja Budidaya Laut, Bandar Lampung.
- Rosell, N. C. 1991. The Slipper-shaped Oyster (*Crassostrea iredalei*) in the Philippines. In estuarine and marine bivalve mollusk culture (ed. W. Menzel). 307-13. Boca Raton, Florida: CRC Press.
- Ruaeny, T. A., A Soegianto, S. Hariyanto. 2012. Konsentrasi Logam Berat Timbal (Pb), Tembaga (Cu) Dan Seng (Zn) Lima Jenis Ikan Yang Dikonsumsi Yang Diambil Dari Tempat Pelelangan Ikan Muncar-Banyuwangi. Jurnal Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Vol 15 (2).
- Ryvolova, M., S. Krizkova, V. Adam, M. Beklova, L. Trnkova, J. Hubalek dan R. Kizek. 2011. Analytical Methods for Metallothionein Detection. Current Analytical Chemistry. 7 (3): 243-261.
- Sastrawijaya, A., T. 1991. Pencemaran Lingkungan. PT. Rineka Cipta. Jakarta. 87 hlm.

- Selpiani, L., Umroh., dan D. Rosalina. 2015. Konsentrasi Logam Berat (Pb, Cu) pada Kerang Darah (*Anadara granosa*) di Kawasan Pantai Keranji Bangka Tengah dan Pantai Teluk Kelabat Bangka Barat. *Oseatek*. 9(1):21-34.
- Sembel, L. 2011. Analisis Logam Berat Pb, Cd Dan Cr Berdasarkan Tingkat Salinitas Di Estuari Sungai Belau Teluk Lampung. Jurusan Ilmu Kelautan, Fakultas Peternakan Perikanan Dan Ilmu Kelautan: Universitas Negeri Papua.
- Shaari, H., B. Raven., K. Sultan., Y. Mohammad dan K. Yunus. 2016. Status of Heavy Metals Concentrations in Oysters (*Crassostrea* sp.) from Setiu Wetlands, Terengganu, Malaysia. *Sains Malaysiana* 45(3)(2016): 417–424.
- Simanjuntak, M. 2012. Kualitas Air Laut Ditinjau dari Aspek Zat Hara, Oksigen Terlarut, dan pH di Perairan Banggai, Sulawesi Tengah. Bidang Dinamika Laut, Penelitian Oseanografi-LIPI. Jakarta
- Stewart, R.H. 2002. *Introduction to Physical Oceanography*. 342 p.
- Subarijanti, H. U. 1990. *Limnology*. Diktat Kuliah Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya Malang.
- Sudarsono, B. 2003. *Dokumentasi, Informasi Dan Demokratisasi*. Diskusi Jaringan Dokumentasi Dan Informasi Hak Asasi Manusia. Jakarta.
- Sugiyono. 2009. *Metode penelitian kuantitatif kualitatif dan R&D*. Alfabeta. Bandung. 137 hal.
- Suharyanto, M, A dan Sudrajat, A. 1996. Penggunaan Tiga Jenis Kerang sebagai Biofilter pada Pemeliharaan Udang Windu (*Penaeus monodon*) dalam Skala Laboratorium. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*. Balai Penelitian Perikanan Budidaya Pantai, Maros no. 2(1): 31-38.
- Sujianto. E. A. 2009. *Aplikasi Statistik dengan SPSS 16,0*. Jakarta: PT. Prestasi Pustakaraya.
- Sumiani, N. W. 2014. *Peningkatan Kemampuan Mengembangkan Hasil Wawancara Menjadi Karangan Naratif Dengan Pendekatan Integratif*. Skripsi. Program Studi Pendidikan Bahasa Dan Sastra Indonesia. Universitas Mahasaraswati Denpasar. Bali.
- Sungkawa, I. 2013. Penerapan Analisis Regresi dan Korelasi Dalam Menentukan Arah Hubungan Antara Dua Faktor Kualitatif Pada Tabel Kontingensi. *Jurnal Mat Stat*. Vol. 13 No. 1: 33-41.
- Supriyanto. 2007. Analisis Cemar Logam Berat Pb, Cu, dan Cd pada Ikan Air Tawar Dengan Metode, Spektrofotometri Nyala Serapan Atom, Yogyakarta
- Surani, R. 2002. *Kesehatan Lingkungan*. Gadjah Mada University Press, Jakarta.
- Suryadiputra, I. N.N. 1995. *Pengolahan air limbah dengan metode biologi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.
- Suryono Chrisna A. 2015. Kontaminasi Logam Berat pada Kerang Bulu *Anadara inflata* Secara Laboratorium. *Jurnal Kelautan Tropis*. Universitas Diponegoro. 18(3): 184-188



Suseno H, Hudiyo, Budiawan, Wisnubroto DS. 2010. Bioakumulasi Merkuri Anorganik Dan Metil Merkuri Oleh *Oreochromis Mossambicus*: Pengaruh Konsentrasi Merkuri Anorganik Dan Metil Merkuri Dalam Air. *Jurnal Teknologi Pengelolaan Limbah (Journal of Waste Management technology)*, Vol 13(1).

Suwarno. 2003. Prinsip dasar, optimalisasi, dan interpretasi hasil uji ELISA. Surabaya. Laboratorium Virology dan Immunologi, Fakultas Kesehatan Hewan, Universitas Airlangga

Suwondo.,E,Febrita dan N,Siregar. 2012. Kepadatan Dan Distribusi *Bivalvia* Pada Mangrove Di Pantai Cermin Kabupaten Serdang Bedagai Provinsi Sumatra Utara. Program Studi Pendidikan Biologi Jurusan Pmipa Fkip Universitas Riau: Pekanbaru.

Syazili, A. 2011. Biologi Tiram. <http://www.bumi-ilmu.htm.wordpress.com>. Diakses pada tanggal 13 Maret 2015.

Tugaswati, A. T., Athena, F. B., Agustina. L. 1997. Studi Pencemaran Merkuri Dan Dampaknya Terhadap Kesehatan Masyarakat Di Daerah Mundu Kabupaten Indramayu. *Bul.Peneliti Kesehatan*. 25(2).

Walpole, R. E. 1995. Pengantar Statistika. Edisi Ke-3. PT. Gramedia Pustaka Utama: Jakarta.

Watanabe, M. 2009. Antioxidant activity of *Crassostrea gigas* meat extract in diabetic mice. Special Edition of the Proceedings of the 1st and 2 International Oyster Symposiums. *Oyster Research Institute News*. No.24: 31 p.

Widiastuti, E. 1998. Distribusi dan Populasi Tiram (*Crassostrea cuculata*) di Tegakan Mangrove. Universitas Diponegoro: Semarang.

Winanto, T. 2004. Memproduksi Benih Tiram Mutiara. Penebar Swadaya, Jakarta. 95 hlm.

World Register of Marine Species. 2014. WoRMS taxon details: *Crassostrea iredalei*. <http://www.marinespecies.org/>

Wulandari, E., E.Y. Herawati., D.Arfiati. 2012. Kandungan Logam Berat Pb pada Air Laut dan Tiram *Saccostrea glomerata* sebagai Bioindikator Kualitas Perairan Prigi, Trenggalek, Jawa Timur. *Jurnal Penelitian Perikanan*. 1(1): 10 -14.

YSI 550A. Dissolved Oxygen Instrument, Operations Manual.