

PETUNJUK PRAKTIS  
APLIKASI  
BIOMARKER  
SEDERHANA

DR. IR. KHUSNUL YAQIN, M.SC

**PETUNJUK PRAKTIS  
APLIKASI BIOMARKER SEDERHANA**



# **PETUNJUK PRAKTIS APLIKASI BIOMARKER SEDERHANA**

**DR. IR. KHUSNUL YAQIN, M.SC**

**Penerbit:**



**PETUNJUK PRAKTIS  
APLIKASI BIOMARKER SEDERHANA**

**Penulis :**

Dr. Ir. Khusnul Yaqin, M.Sc

**ISBN: 978-979-530-220-9**

**Desain sampul Layout :**

Nur Syamsul

**Penerbit:**

UPT UNHAS PRESS

**Alamat Penerbit:**

Gedung UPT Unhas Press (depan Fakultas Hukum)

Telpon: 0411 – 8997706 HP/WA 08535355569

Kampus Unhas Tamalanrea, Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10

E-mail: unhaspress@gmail.com

Hak Cipta © Khusnul Yaqin. *All rights reserved.* Hak cipta dilindungi undang-undang.

Cetakan I 2019

*Dilarang memperbanyak isi buku ini, baik sebagian maupun seluruhnya dalam bentuk apapun tanpa izin tertulis dari penulis/penerbit.*

# Daftar Isi

Daftar Isi .....	v
<b>Daftar Tabel</b> .....	Vi
Daftar Gambar .....	vii
Kata Pengantar .....	ix
Pendahuluan .....	1
Kerang hijau dan Biomarker .....	4
<i>Mengapa kerang hijau?</i> .....	4
<i>Biomarker</i> .....	10
Metode Aplikasi .....	18
<i>Indeks Kondisi</i> .....	21
<i>Growth Index</i> .....	25
<i>Analisis logam</i> .....	27
<i>Analisis statistik</i> .....	31
<i>Analisis Stress On Stress</i> .....	40
<i>Menghitung <math>LT_{50}</math> Kaplan-Meier</i> .....	41
Daftar Pustaka .....	47

## Daftar Tabel

Tabel 1. Hipotesis kriteria status pencemaran berdasarkan korelasi indeks kondisi dan IBLK. ....	36
Tabel 2. Nilai kekuatan korelasi (Fowler <i>et al.</i> , (2013). ...	39
Tabel 3. Data kematian kerang yang dipapar arsenik. Paparan arsenik dalam ppm. ....	42

# Daftar Gambar

Gambar 1. Benang bisus kerang (tanda panah).....	8
Gambar 2. Urutan respon biologis dari tingkat molekuler ke ekosistem (dimodifikasi dari Bayne et al, 1985).....	11
Gambar 3. Gari melintang: tempat memotong bisus kerang, agar kerang tidak cepat mengalami kematian.....	19
Gambar 5. Cara mengukur beberapa parameter morfologi kerang hijau, <i>Perna viridis</i> (Yaqin et al., 2015). ....	23
Gambar 6. Lingkaran umur kerang hijau, <i>Perna viridis</i> . .	26
Gambar 7. Hubungan antara kandungan Pb dalam daging dan beberapa biomarker sederhana.....	32
Gambar 8. Korelasi positif dan kuat. Nilai R= 0,99. ....	36
Gambar 9. Korelasi negatif dan kuat. Nilai R = 0,99. ....	37
Gambar 10. Korelasi sedang cenderung positif. Nilai R = 0,42.....	37

Gambar 11. Korelasi sedang cenderung negatif. Nilai R = 0,412.....	38
Gambar 12. Korelasi lemah cenderung positif. Nilai R = 0,30.....	38
Gambar 13. Korelasi lemah cenderung negatif. Nilai R = 0,28.....	39
Gambar 14. Survival dan Enter elapsed time as number of days.....	43
Gambar 15. Data sheet graphpad. ....	44
Gambar 16. Tampilan data sheet yang sudah diisi dengan data kematian. ....	44
Gambar 17. Tampilan kesimpulan data. ....	45
Gambar 18. Tampilan perbandingan kurva. ....	45
Gambar 19. LT50 menurut Kaplan-Meier test.....	46

# Kata Pengantar

Buku ini dibuat untuk memenuhi kelengkapan praktik matakuliah ekotoksikologi dan ditujukan sebagai *guide line* memraktekkan satu pokok bahasan di dalam bidang ekotoksikologi yaitu tentang biomarker. Biomarker yang digunakan dipilih biomarker sederhana. Hal ini dimaksudkan untuk memudahkan pelaksanaan praktikum dan penerapannya dalam kegiatan selanjutnya, seperti biomonitoring.

Biomarker sederhana yang dipilih yaitu Indeks Kondisi (IK), *Stress On stress* dan *Growth Index*. Blaise *et al.* (2016) telah menggunakan tiga biomarker tersebut dalam penelitiannya dan menunjukkan hasil bahwa ada korelasi positif antara biomarker yang sederhana itu dengan kerusakan lisosom kerang.

Dengan mempraktikkan tiga biomarker yang sederhana diharapkan mahasiswa dan pengguna buku ini dapat memunyai keterampilan dalam menggunakan biomarker sederhana baik dalam penelitian maupun

dalam hal-hal yang praktis misalnya untuk monitoring lingkungan. Di samping itu, buku ini disusun untuk menyetimulasi penelitian-penelitian tentang biomarker sederhana dalam kaitannya dengan keberadaan bahan pencemar baik secara *in vivo* maupun *in situ*. Intensifikasi penelitian-penelitian itu akan mengklarifikasi dan menvalidasi kegunaan biomarker sederhana dalam bidang ekotoksikologi. Karl Popper berujar; “ucapan atau teori belum bisa dikatakan ilmiah hanya karena sudah dibuktikan, melainkan karena sudah dapat diuji”. Dengan melakukan penelitian-penelitian ilmiah tentang biomarker sederhana, kita bisa mengujinya.

Makassar, 26 Juli 2019

Penulis

**Khusnul Yaqin**

## PENDAHULUAN

**T**erminologi ekotoksikologi pertama kali diperkenalkan oleh René Truhaut pada tahun 1969 yang mendefinisikan ekotoksikologi sebagai cabang dari toksikologi yang berfokus pada studi efek-efek toksik yang disebabkan oleh polutan natural maupun sintetik terhadap ekosistem, binatang, manusia, tanaman, bakteri dalam konteks yang terintegrasi.

Ekotoksikologi didefinisikan sebagai ilmu yang mempelajari efek toksik dari bahan-bahan kimia yang toksik terhadap organisme baik pada tingkat individu, populasi, komunitas maupun ekosistem. Ekotoksikologi adalah bidang ilmu multidisipliner yang mengintegrasikan toksikologi dan ekologi. Tujuan utama dari ilmu ini adalah untuk dapat memprediksi efek polutan sedemikian sehingga tindakan-tindakan preventif maupun remediatif yang efektif dan efisien dapat ditentukan.

Salah satu bidang yang dipelajari dalam ekotoksikologi adalah biomarker. Secara sederhana biomarker dapat didefinisikan sebagai respon biologis dari suatu organisme terhadap bahan pencemar atau tekanan lingkungan. Oleh karena itu biomarker ini dapat diukur atau dianalisis mulai dari tingkat molekuler hingga pada tingkat tingkah laku. Biomarker yang dijabarkan dalam buku ini yaitu biomarker morfologi; indeks kondisi (*Condition Index*), dan fisiologi; *Stress On Stress* dan *Growth Index*.

Pengaplikasian biomarker sederhana pada kegiatan praktik mahasiswa atau penelitian yang lebih terprogram diharapkan akan menjadi bahan evaluasi dan validasi penggunaan biomarker sederhana. Semakin sering masyarakat akademis dan manajer lingkungan menggunakan biomarker sederhana, maka akan semakin banyak data hasil penggunaannya yang dapat memberikan kontribusi dalam pengembangan aplikasi biomarker sederhana di laboratorium maupun di lapangan. Oleh karena itu penggunaan biomarker sederhana perlu

distimulasi. Disinilah pentingnya buku ini untuk memberikan *overview* dan petunjuk ringkas tentang biomarker sederhana dengan *sentinel organism* kerang hijau, *Perna viridis*.

## KERANG HIJAU DAN BIOMARKER

*Mengapa kerang hijau?*

**D**alam ekotoksikologi dikenal terminologi *sentinel organisms*. Makna harafiah terminologi ini yaitu organisme penjaga. Penggunaan istilah ini berawal dari kegiatan para penambang yang menyusuri gua-gua untuk mencari barang atau sesuatu yang berkaitan dengan tambang. Untuk memastikan apakah gua-gua itu aman untuk ditelusuri, mereka menggunakan burung kenari yang ada di sangkar dan dimasukkan ke dalam gua. Jika burung kenari itu tidak mati, maka gua itu dianggap aman. Begitu juga sebaliknya.

Selanjutnya seiring dengan perkembangan waktu, teknik itu dielaborasi oleh para ahli pencemaran atau ekotoksikolog untuk kegiatan pengujian atau penelitian di laboratorium maupun di lapangan. Istilah *sentinel*

*organism* seringkali dikacaukan dengan istilah bioindikator. *Sentinel organism* adalah organisme yang dijadikan sebagai alat atau boleh disebut “kelinci percobaan”--di tingkat laboratorium— untuk monitoring lingkungan atau dikenal dengan nama biomonitoring. Sedangkan bioindikator adalah suatu spesies atau kelompok spesies yang siap merefleksikan kondisi biotik atau abiotik suatu lingkungan yang merepresentasikan dampak perubahan lingkungan pada habitat, komunitas atau ekosistem atau indikasi keanekaragaman dari sekumpulan *taxa* atau keseluruhan keanekaragaman di dalam suatu area (Gerhardt 2002). Sederhananya bioindikator dapat dikatakan sebagai respon biologis atas tekanan-tekanan lingkungan pada tingkat populasi, komunitas dan ekosistem (Gambar 2). Akan tetapi, Van Gestel dan Van Brummelen (1996) mendefinisikan bioindikator yaitu suatu organisme yang memberikan informasi tentang kondisi lingkungan habitatnya dengan ada dan tidak adanya ia atau dengan tingkah lakunya. Sedangkan, suatu parameter ekosistem yang

mendeskripsikan struktur dan fungsi ekosistem disebut indikator ekologi.

Terlepas dari perbedaan pendapat di atas, penggunaan kerang sebagai *sentinel organism* dalam bidang monitoring lingkungan perairan sudah dilakukan sejak 42 tahun yang lalu. Yang terkenal yaitu penggunaan kerang dalam program “*mussel watch*” untuk mendeteksi pencemaran logam di laut (Gerhardt, 2002).

Kerang hijau atau *Perna viridis* dijadikan sebagai *sentinel organism*, karena memiliki beberapa karakteristik yang relevan secara ekologis dan ekonomis. Di antara karakteristik itu adalah, kerang hijau mempunyai distribusi yang luas. Dengan distribusi yang luas, para pengguna biomarker dapat melakukan komparasi data biomarker secara global. Kerang hijau hidupnya *sessile* (melekatkan diri pada substrat) dan *filter feeder* (cara makannya dengan menyaring). Karakteristik ini menjadikan kerang sebagai *sentinel organism* yang dengan tepat mewakili tempat di mana mereka hidup. Dengan demikian, keberadaan bahan pencemar atau respon biologis di

dalam tubuh kerang merupakan refleksi dari keberadaan bahan pencemar dan efeknya di habitat kerang. Hal ini tentunya akan sangat berbeda dengan organisme yang mempunyai mobilitas tinggi, yang bisa bergerak menghindari bahan pencemar. Konsentrasi bahan pencemar pada tubuh organisme yang mobilitasnya tinggi sangat mungkin bukan berasal dari perairan di mana ia di sampling. Organisme dengan mobilitas tinggi kurang tepat dijadikan sebagai *sentinel organism*, kecuali pada beberapa kondisi tertentu. Kerang hijau hidup dengan melekatkan diri pada benda-benda keras yang ada di perairan dengan organ yang namanya bisus (Gambar 1). Mereka juga hidup di wilayah pantai yang mudah dijangkau oleh manusia, sehingga kerang mudah dicuplik (disampling).

Kerang hijau mempunyai toleransi yang lebar terhadap salinitas. Karakteristik seperti ini memungkinkan pengguna biomarker sederhana dapat melakukan komparasi di antara beberapa habitat di pantai yang

memunyai kadar salinitas yang berbeda, seperti antara perairan estuari dengan perairan non estuari.



**Gambar 1.** Benang bisus kerang (tanda panah).

Kerang hijau tergolong biota air yang mempunyai resistensi yang moderat terhadap tekanan lingkungan. Dengan karakter ini kerang hijau tidak mudah mengalami kematian ketika bahan pencemar sebetulnya mempunyai konsentrasi tingkat sedang di perairan, sehingga efek bahan pencemar yang “melekat” pada beberapa organ dan jaringan dapat direkam oleh biomarker. Karena mempunyai enzim detoksifikasi yang lebih sedikit dibandingkan dengan biota vertebrata, kerang hijau cenderung mengakumulasi bahan pencemar di dalam dirinya. Bisus kerang dapat mengakumulasi logam 100 kali

8

lebih besar dibandingkan konsentrasi logam di perairan (Swann et al. 1998). Karakter ini menjadikan kerang sebagai biota bioakumulator bahan pencemar yang korelatif dengan bahan pencemar yang ada di perairan.

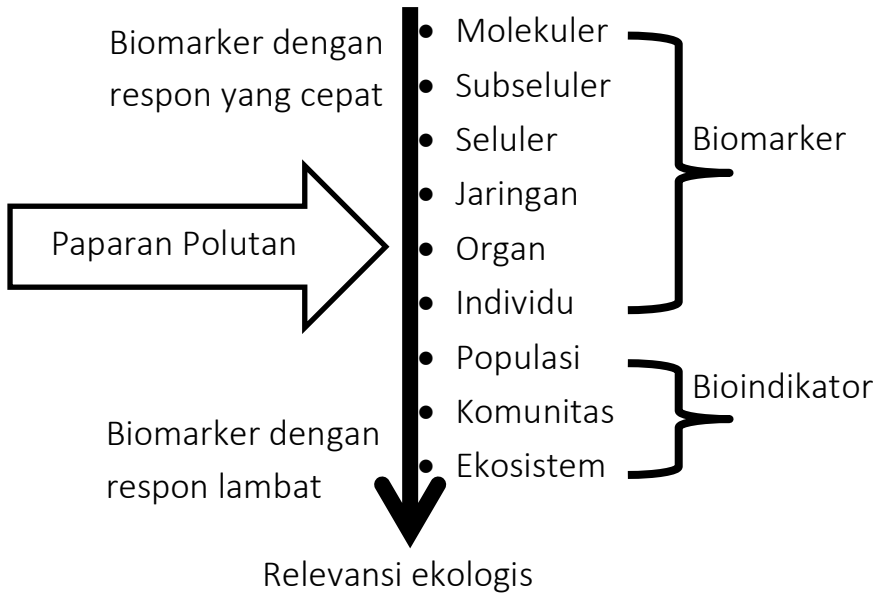
Kandungan protein yang relatif tinggi menjadikan kerang hijau terasa lebih gurih dibandingkan biota perairan lainnya sehingga menjadi bahan pangan laut yang digemari masyarakat. Hal ini akan memudahkan pakar ekotoksikologi dalam melakukan asesmen resiko ekologis dan kesehatan manusia yang mengonsumsi kerang. *Last but not least*, kerang hijau adalah organisme yang paling mudah dibudidayakan. Karakter ini menjadikan kerang hijau mudah disampling dan mudah dilakukan translokasi untuk memastikan efek bahan pencemar terhadap biota air dalam durasi yang relatif pendek.

Dengan demikian penggunaan kerang hijau sebagai *sentinel organism* akan memastikan keberadaan dan efeknya terhadap biota yang digunakan sebagai *sentinel organism*. Di samping itu penggunaan kerang hijau sebagai *sentinel organism* akan memudahkan dalam

melakukan komparasi hasil penelitian atau monitoring dan prediksi atas dampak tekanan lingkungan terhadap manusia.

### *Biomarker*

Banyak definisi tentang biomarker, di antaranya adalah definisi biomarker yang diajukan oleh Peakall (1994). Dia mendefinisikan biomarker sebagai suatu perubahan dalam suatu respon biologis (dari tingkat molekuler sampai tingkah laku) yang dapat dikaitkan dengan adanya paparan atau efek racun dari bahan kimia yang ada di lingkungan. Kelemahan definisi Peakall (1994) ini adalah membatasi stresor lingkungan pada bahan kimia yang ada di lingkungan. Padahal tekanan lingkungan bisa berupa apa saja, mulai dari fisik (suhu), kimiawi (bahan pencemar logam) sampai hayati (bakteri). Oleh karena itu, sederhananya biomarker dapat didefinisikan sebagai respon biologis dari organisasi biologis suatu organisme terhadap tekanan lingkungan (Gambar 2).



**Gambar 2.** Urutan respon biologis dari tingkat molekuler ke ekosistem (dimodifikasi dari Bayne et al, 1985).

Menurut NRC (1987) dan WHO (1993) biomarker dapat dibagi menjadi tiga kelompok :

1. Biomarker paparan (*Biomarker of exposure*): meliputi deteksi dan pengukuran substansi eksogenus<sup>1</sup> atau metabolitnya atau hasil suatu interaksi antara agen *xenobiotic* dan beberapa molekul atau sel target yang diukur di dalam suatu kompartemen di dalam suatu organisme.

<sup>1</sup> Subtansi eksogenus sama dengan istilah *xenobiotic* yaitu subtansi atau bahan-bahan yang berasal dari luar tubuh.

2. Biomarker efek (*Biomarker of effect*): meliputi perubahan fisik, biokimiawi atau yang lainnya di dalam jaringan atau cairan suatu organisme yang dapat dikenali sebagai suatu yang sudah diestablisikan atau kemungkinan penurunan nilai kesehatan atau penyakit.
3. Biomarker kerentanan (*Biomarker of suceptability*) : Indikasi kemampuan *inheren* atau yang didapat dari suatu organisme untuk merespon tantangan paparan terhadap zat *xenobiotic* tertentu, termasuk faktor genetik dan perubahan dalam reseptor yang mengubah kerentanan suatu organisme terhadap paparan tersebut. Dengan kata lain tingkat kerentanan akibat tekanan lingkungan yang menjadi patokan dari biomarker kerentanan.

Biomarker yang dibahas dalam buku ini, yaitu SOS, indeks kondisi dan *Growth Index* dapat digolongkan sebagai biomarker efek dan kerentanan. Hal ini karena ketiga biomarker itu mencerminkan kemampuan kerang dalam beradaptasi dengan lingkungan (SOS), kerusakan

morfologi (indeks kondisi)<sup>2</sup> dan fisiologi (*Growth Index*). Biomarker seperti ini dalam ekotoksikologi disebut sebagai biomarker yang mempunyai relevansi ekologis yang tinggi, karena efek bahan pencemar terhadap organisme terekam dan muncul pada tingkat kerentanan dan pada muaranya terefleksi pada tingkat ekosistem.

Pada awalnya biomarker merupakan alat yang digunakan dalam ilmu farmasi dan kedokteran sebagai penanda biologis suatu penyakit tertentu. Seiring dengan perkembangan ilmu dan teknologi, biomarker mulai digunakan oleh ilmuan dalam bidang ekotoksikologi sebagai alat atau suatu *end point* untuk uji di laboratorium maupun untuk keperluan biomonitoring di lapangan.

Secara konsep biomarker digunakan sebagai substitusi dalam monitoring lingkungan yang mengandalkan pendekatan klasik berbasis pada informasi konsentrasi bahan-bahan kimia yang ada di lingkungan. Pendekatan klasik ini dinilai mahal dan memerlukan peralatan yang canggih serta membutuhkan keterampilan

---

<sup>2</sup> Beberapa pakar ekotoksikologi menyebut indeks kondisi sebagai biomarker fisiologi (Revel, et al.2019).

yang mumpuni untuk menjalankan alat analisis seperti GC-MS (*Gas Chromatography Mass-Spectrometry*) dan sejenisnya. Di samping itu, pendekatan monitoring klasik tidak memberikan informasi efek yang ditimbulkan oleh bahan-bahan kimia atau stresor secara langsung. Kemudian – sebagaimana dijelaskan di atas – ilmuwan ekotoksikologi “meminjam” konsep biomarker dari rumpun ilmu kedokteran untuk diaplikasikan dalam bidang ekotoksikologi dalam mendeteksi respon biologis suatu *sentinel organism* terhadap tekanan lingkungan sebagai alat substitusi dalam kegiatan monitoring klasik.

Harapannya bahwa biomarker yang digunakan dapat memberikan informasi yang cepat, berbiaya murah dan tidak memerlukan alat yang canggih. Di samping itu biomarker yang digunakan dalam biomonitoring sebaiknya mempunyai relevansi ekologis. Dengan begitu respon biologi pada berbagai tingkat organisasi biologis dapat diterjemahkan secara ekologis.

Dalam suatu organisasi biologis suatu organisme, respon apa saja yang dapat digunakan sebagai biomarker?

Jawbannya yaitu mulai dari tingkat molekuler, seperti kerusakan DNA sampai pada tingkat perilaku individu, seperti buka tutup cangkang kerang. Seiring dengan perkembangan studi dan aplikasi biomarker, ilmuwan dalam bidang ekotoksikologi mencoba untuk memanfaatkan seluruh organisasi biologi biota untuk digunakan sebagai biomarker, termasuk di dalamnya adalah biomarker pada tingkat molekuler dan seluler. Tak ayal lagi, inovasi-inovasi studi ekotoksikologi yang menggunakan biomarker pada akhirnya menghasilkan biomarker yang berbiaya mahal dan tidak sederhana.

Oleh karena itu penggunaan biomarker perlu dikembalikan kepada azas awalnya yaitu sebagai substitusi monitoring klasik yang tidak berbiaya mahal dan tidak membutuhkan alat yang canggih yang sudah pasti harganya mahal. Beberapa biomarker yang berkaitan dengan kondisi morfologi kerang dapat dijadikan sebagai kandidat biomarker sederhana yang mempunyai relevansi ekologis. Problem yang ada pada biomarker sederhana, apakah biomarker-biomarker itu sensitif dalam

mendeteksi keberadaan berbagai bahan pencemar yang ada di perairan.

Secara teoritis biomarker yang sensitif terhadap bahan pencemar mempunyai relevansi ekologis yang kurang, tetapi dapat mendeteksi efek bahan pencemar dengan cepat, seperti biomarker pada tingkat molekuler. Sebaliknya biomarker yang mempunyai relevansi ekologis yang kuat memiliki sensitifitas yang kurang dan oleh karenanya tidak cepat dalam mendeteksi efek bahan pencemar (Gambar 2).

Penggunaan biomarker sederhana baik di laboratorium maupun di lapangan secara kontinyu akan memproduksi data yang dapat digunakan untuk mengevaluasi dan memvalidasi data biomarker sederhana. Selanjutnya data biomarker sederhana dapat digabungkan dengan data lingkungan yang lain untuk menghasilkan suatu kebijakan dalam menata suatu ekosistem.

Ada enam kriteria yang harus dipenuhi agar suatu biomarker dapat diterima atau digunakan sebagai alat biomonitoring (Van der Oost, et al. 2003):

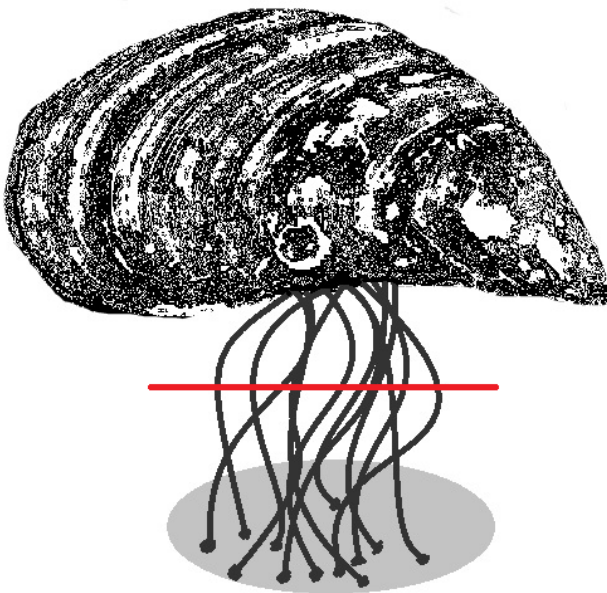
1. Prosedur pengujian yang digunakan harus tangguh (*reliable*), relatif tidak mahal, dan mudah dilakukan.
2. Respon sebaiknya sensitif terhadap paparan bahan pencemar agar dapat digunakan sebagai sistem peringatan dini.
3. Data dasar sebaiknya sudah ada dan terdefiniskan dengan baik sebagai patokan untuk membedakan mana yang merupakan pengaruh dari bahan pencemar dan mana yang diakibatkan oleh faktor yang bersifat alami.
4. Dampak faktor pengganggu terhadap penggunaan biomarker sudah diketahui dan diestabilkan.
5. Sudah establis pengetahuan tentang sesuatu yang mendasari hubungan antara biomarker dan bahan pencemar.
6. Relasi antara biomarker dan dampak jangka panjangnya terhadap organisme sudah harus diestabilkan.

## METODE APLIKASI

Pengguna biomarker sederhana sebaiknya mengumpulkan kerang hijau, *P. viridis*, sebanyak 200 ekor atau lebih dari dua tempat yang dianggap tercemar dan tercemar ringan misalnya perairan Makassar dan perairan Mandalle, Pangkajene Kepulauan (Pangkep) Sulawesi Selatan. Perairan Makassar mewakili perairan yang tercemar, sedangkan perairan Mandalle mewakili perairan yang tercemar ringan. Hal ini dilakukan agar dapat melakukan komparasi hasil analisis biomarker dari tempat yang tercemar dan relatif tidak tercemar atau tercemar ringan.

Dalam proses pengumpulan kerang di lapangan, yang menempel pada benda-benda keras di laut, harus dilakukan secara hati-hati, agar pangkal bisus tidak

tercerabut. Bila pangkal bisus tercerabut, kerang hijau lebih cepat mengalami kematian dibandingkan dengan yang tidak tercerabut. Sebaiknya bisus kerang dipotong dengan gunting di bagian tengah antara tempat melekat dan pangkal bisus, sehingga masih tersisa bisus pada kerang (Gambar 3).



**Gambar 3.** Garis melintang: tempat memotong bisus kerang, agar kerang tidak cepat mengalami kematian.

Setelah itu, kerang diangkut dengan *cool box* ke laboratorium. Dalam proses pengangkutan, kerang tidak perlu dimasukkan ke dalam air yang diambil dari perairan di mana kerang tersebut hidup. Hal ini karena kerang bisa

bertahan hidup di udara lebih dari 24 jam. Setelah dibuang *biofouling* (organisme pengotor) (Gambar 4) yang menempel pada cangkang kerang, kerang diukur morfometrinya. Sebelum dilakukan pengukuran *Stress On Stress* (SOS), kerang dikelompokkan menjadi tiga kelompok ukuran panjang, misalnya 3-4,9, 5-6,9, 7-8,9 cm. Tentunya hal ini tergantung pada temuan ukuran panjang cangkang kerang di lapangan.

Dalam pengukuran SOS, kerang dibiarkan selama 24 jam atau lebih di dalam kotak dengan suhu ruangan, untuk melihat kematian kerang. Pengamatan kematian kerang dilakukan selama enam atau dua jam sekali. Secara umum semakin pendek periode pengamatan akan semakin bagus hasilnya. Kerang yang mati ditandai dengan tidak responsifnya kerang ketika cangkangnya disentuh. Selanjutnya daging kerang dikeluarkan untuk dikeringkan sebagai bahan analisis indeks kondisi, *Growth Index* dan analisis logam. Pengeringan daging dan cangkang dilakukan dengan oven pada suhu 80°C selama 2x24 jam atau bobot daging dan cangkang sudah dianggap stabil.



**Gambar 4.** *Biofouling* (lingkaran putus-putus ) pada kerang hijau.

### *Indeks Kondisi*

Indeks kondisi (IK) merupakan indeks yang merefleksikan perubahan morfologis dan fisiologis kerang sebagai respon terhadap kondisi lingkungan yang ada. Indeks kondisi ini dalam studi biomarker digunakan sebagai salah satu biomarker pada tingkat morfologis (Yaqin et al., 2018) dan fisiologis. Karena kemudahannya dalam aplikasi, maka indeks kondisi tersebut diuraikan penggunaannya dalam buku ini. Ada beberapa indeks kondisi yang digunakan dalam penelitian ekotoksikologi (Yaqin, et al. 2018) di antaranya adalah :

1. Lundebye et al (1997) mengajukan beberapa cara pengukuran indeks kondisi. Pertama yaitu dengan rumus bobot daging kering (g) dikalikan 1000 dibagi volume internal cangkang (VIC). Volume internal cangkang diukur dengan cara mengisi dua cangkang dengan air. Hasil pengukuran volume air ini disebut volume internal cangkang.

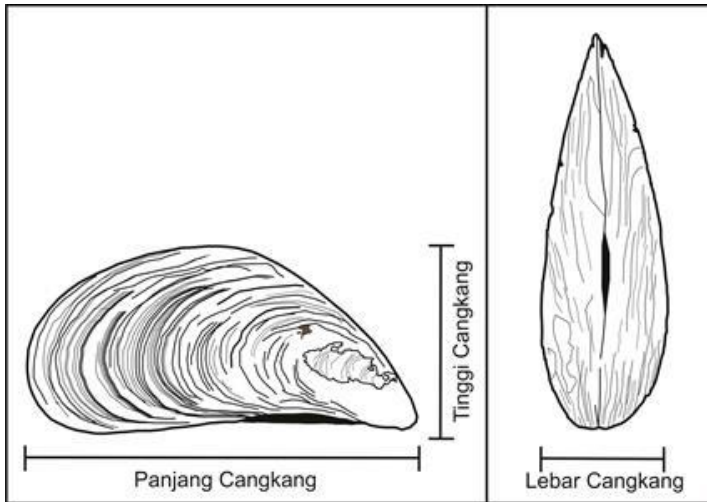
$$IK = \frac{\text{Bobot Daging Kering} \times 1000}{VIC}$$

2. Rumus indeks kondisi kedua yaitu bobot daging kering (g) dikali dengan hasil bagi 1000 dengan kapasitas ruang internal cangkang (KRIC). Kapasitas ruang internal cangkang adalah hasil pengurangan bobot total kerang dengan bobot cangkang kering.

$$IK = \text{Bobot Daging Kering} \times \frac{1000}{KRIC}$$

3. Formula ketiga Ludebye et al (1997) yaitu bobot daging kering (g) dibagi dengan Panjang x lebar/tinggi cangkang (Gambar 5).

$$IK = \frac{\text{Bobot Daging Kering}}{\text{Panjang} \times \text{Lebar} / \text{Tinggi Cangkang}}$$



**Gambar 5.** Konsensus pengukuran panjang, tinggi, dan lebar cangkang kerang hijau, *Perna viridis* (Yaqin et al., 2015).

4. Rumus indeks kondisi ke empat yaitu bobot daging kering (g) dibagi dengan hasil bagi 1000 dengan panjang cangkang (Lundebye, et al. 1997).

$$IK = \frac{\frac{\text{Bobot Daging Kering}}{1000}}{\text{Panjang Cangkang}}$$

5. Indeks kondisi menurut Freeman (1974) diukur dengan formula bobot daging kering (g) dibagi dengan bobot cangkang kering dikalikan 100.

$$\frac{\text{Bobot Daging Kering}}{\text{Bobot Cangkang Kering}} \times 100$$

6. Versteegh (2012) mengajukan dua jenis pengukuran indeks kondisi yaitu Indeks kondisi cangkang (IKC) yang dihitung dengan rumus bobot cangkang basah dibagi volume luar.

$$IKC = \frac{\text{Bobot Cangkang Basah}}{\text{Volume Luar}}$$

7. Indeks kondisi tubuh (IKT) yang diukur dengan rumus bobot total kerang dibagi volume luar. Volume luar diukur dengan cara mengalikan konstanta 0,445 dengan panjang x lebar x tinggi (Versteegh, 2012).

$$IKT = \frac{\text{Bobot Total Kerang}}{\text{Volume Luar}}$$

8. Indeks kondisi menurut Ismail and Yap (1999) yaitu bobot daging kering dibagi hasil kali panjang, lebar dan tinggi, dan hasil itu dikalikan 1000. Dalam makalah yang lain Yap & Al Barwarni (2012) menyebut panjang x lebar x tinggi dengan istilah volume cangkang. Oleh karena itu satuan dari indeks ini adalah g/cm<sup>3</sup>.

$$IK = \frac{\text{Bobot Daging Kering}}{\text{Volume Cangkang}} \times 1000$$

9. Indeks kondisi yang disarankan oleh Lucas and Beninger, (1985) yaitu bobot daging kering dibagi bobot cangkang kering.

$$IK = \frac{\text{Bobot Daging Kering}}{\text{Bobot Cangkang Kering}}$$

10. Indeks Kebundaran Cangkang (IKbC). Indeks ini diukur dengan rumus ; Standard Deviasi(SD)<sub>populasi</sub> Panjang x Tinggi x Lebar dibagi rata Rata-rata Panjang x Tinggi x Lebar dan dikalikan 100% (Reimer and Tedengren, 1996).

$$IKbC = \frac{SD \text{ populasi Panjang x Tinggi x Lebar}}{\text{Rata - rata Panjang x Tinggi x Lebar}} \times 1000$$

### *Growth Index*

Pengukuran indeks pertumbuhan (Growth index) dapat kita lakukan dengan dua cara yaitu: 1. Garis-garis pertumbuhan sebagaimana yang terlihat pada Gambar 6 dibagi dengan bobot daging kering. 2. Garis-garis umur itu dibagi dengan panjangnya (Gambar 5 ). Rasio itu diberi satuan persen setelah dikali dengan 100.



**Gambar 6.** Lingkaran umur kerang hijau, *Perna viridis*.

Dalam menentukan lingkaran pertumbuhan, pengguna biomarker harus berlatih sedemikian sehingga dapat secara terampil menentukan lingkaran pertumbuhan dengan tepat. Kerang yang mengalami erosi pada ujung cangkangnya harus dihindari agar tidak menyebabkan bias dalam pengukuran (Blaise et al. 2017). Di samping itu di setiap daerah yang terdapat kerang hijau perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui pola garis-garis umur kerang mulai dari juvenil hingga dewasa selama satu tahun. Penelitian ini akan menjadi *base-line* data yang dapat dijadikan dasar atau faktor koreksi penggunaan *growth index* (GI).

## *Analisis logam*

Analisis Logam<sup>3</sup> Pb pada biota (Afriansyah, 2009) adalah sebagai berikut:

Lakukan penimbangan daging kerang hijau  $\pm$  2 gram bobot kering. Setelah itu masukkan ke teflon bomb. Tambahkan 10 ml HNO<sub>3</sub> 65% ke dalam teflon dan tutuplah. Biarkan sampel selama 24 jam, lalu panaskan di atas penangas air selama 8 jam atau sampai larutannya jernih dengan suhu 100 °C. Setelah itu tambahkan tiga mili akuades dan panaskan hingga larutan hampir kering. Kemudian dinginkan larutan pada suhu ruangan. Lakukan dekantasi sampel menggunakan kertas saring whatman 0,41  $\mu$ m. Sebelum dianalisis dengan AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometry*)<sup>4</sup> tambahkan dengan akuades 20 ml ke dalam sampel.

---

<sup>3</sup> Istilah logam berat tidak digunakan dalam buku ini. Terminologi logam berat adalah terminologi yang salah kaprah dan tidak mempunyai arti. Baca makalah Duffus, J. H. (2002). "Heavy metals" a meaningless term? (IUPAC Technical Report). *Pure and applied chemistry*, 74(5), 793-807.

<sup>4</sup> Prinsip kerja AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometry*) didasarkan pada serapan cahaya dengan panjang gelombang tertentu dari jenis atom atau molekul suatu zat yang dianalisis secara kuantitatif. Penemuan alat ini diinspirasi oleh kerja Fraunhofer yang mengamati garis-gari hitam pada spektrum cahaya matahari. Selanjutnya Alan Wals pada tahun 1995

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = (A \times V \times V_p) / B$$

Dimana A : konsentrasi yang terbaca pada AAS

V : volume penempatan akhir (ml)

B : bobot sampel (gr)

V<sub>p</sub>: volume pengenceran (ml), bila dilakukan pengenceran.

Pengukuran beberapa parameter di atas harus diurutkan seperti berikut ini :

1. Bobot total kerang
2. Panjang cangkang
3. Lebar cangkang
4. Tinggi cangkang
5. Keluarkan daging kerang untuk pengukuran bobot daging kering dan logam
6. Bobot daging basah
7. Garis pertumbuhan kerang
8. Bobot cangkang basah
9. Volume internal cangkang
10. Kapasitas ruang internal cangkang

---

memanfaatkan prinsip-prinsip serapan atom pada bidang analisis suatu unsur.

11. Bobot daging kering.
12. Bobot cangkang kering .
13. *Stress On Stress* (SOS)

Contoh data sheet pengukuran beberapa parameter kerang hijau, *Perna viridis*

Nama Spesies :

Lokasi pengambilan sampel :

Tanggal/waktu :

Kolektor:

NO	BTK	PC	LC	TC	BCB	BDB	VIC	KRIC	BCK	BDK
1										
2										
3										
4										
5										
6										
7										
8										

#### Catatan

BTK : Bobot total kerang, BDK : Bobot daging kering, PC : Panjang cangkang, LC : Lebar cangkang, TC : Tinggi cangkang, BCB: Bobot Cangkang Basah, BDB : Bobot Daging Basah, VIC :Volume Internal Cangkang, KRIC : Kapasitas ruang internal cangkang, BCK : Bobot Cangkang Kering.

### *Indeks bioavailabilitas logam dalam kerang.*

Estimasi bioavailabilitas (keberadaan biologis) logam dengan menganalisa kandungan logam di dalam daging kerang dinilai kurang tepat (Soto, et al. 2000). Hal ini karena logam dapat mengurangi laju pertumbuhan daging (pertumbuhan) kerang. Sebagai alternatifnya digunakan *metal/shell-weight index* atau diterjemahkan sebagai Indeks Bioavailabilitas Logam dalam Kerang (IBLK) (Yaqin, et al., 2018). IBLK ini disebut oleh Soto, et al (2000) sebagai indeks bioavailabilitas logam yang tidak dipengaruhi oleh faktor-faktor alami dan perubahan biometri yang disebabkan oleh logam. Formula IBLK yang *reliable* (tangguh) menurut Soto, et al., (2000) adalah formula yang diusulkan oleh Fisher (1983). Formulanya adalah sebagai berikut (Soto, et al. 2000):

$$\text{IBLK} = \frac{\text{KLD} \times \text{BDK}}{\text{BCK}}$$

IBLK = Indeks bioavailabilitas logam dalam kerang ( $\mu\text{g/g}$ ).

KLD = Konsentrasi logam di dalam daging ( $\mu\text{g/g}$ ).

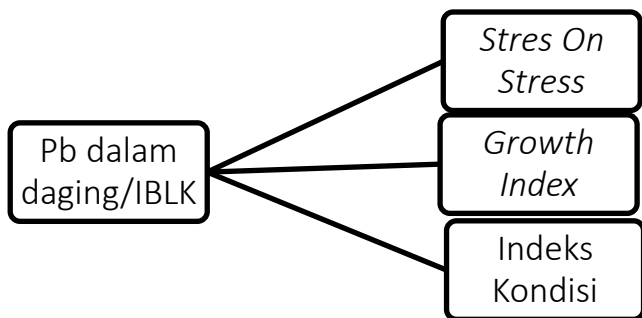
BDK = Bobot Daging Kering

BCK = Bobot Cangkang Kering

### *Analisis statistik*

Dalam penggunaan biomarker sederhana beberapa parameter indeks kondisi, *Stress On Stress* dan *Growth Index* dan kandungan logam di dalam daging saling dikorelasikan. Sebelum melakukan analisis korelasi, data yang diperoleh harus diuji distribusinya. Apakah data berdistribusi normal? Jika data berdistribusi normal maka dapat dilanjutkan dengan analisis korelasi *Pearson*. Namun demikian, apabila data tidak berdistribusi normal, maka dilakukan transformasi. Selanjutnya data diuji kembali normalitasnya. Jika data hasil transformasi sudah berdistribusi normal maka data diuji dengan analisis korelasi *Pearson*. Namun demikian, jika data hasil transformasi tidak berdistribusi normal, maka data dianalisis dengan uji korelasi non parametrik seperti *Kendall's Tau*, *Spearman* dan lain lain.

Matrik dari korelasi itu adalah sebagai berikut :



**Gambar 7.** Hubungan antara kandungan Pb (timbel) dalam daging dan beberapa biomarker sederhana.

Dari hasil analisis korelasi inilah kita akan mengetahui seberapa kuat hubungan masing-masing parameter dengan kandungan Pb dalam daging kerang hijau, *P. viridis*.

Gambar 8 menunjukkan korelasi positif dan kuat antara IBLK Pb dengan indeks kondisi. Artinya dua variable di sumbu X dan Y menunjukkan hubungan yang seiring atau berbanding lurus, penambahan nilai X akan diikuti oleh penambahan nilai Y. Sebaliknya, pada Gambar 9 menunjukkan hubungan korelasi negatif yang kuat antara IBLK Pb dengan indeks kondisi. Hal itu berarti dua variable X dan Y menggambarkan hubungan yang berbanding terbalik, penambahan nilai X akan diikuti pengurangan pada nilai Y, begitu juga sebaliknya.

Gambar 10 dan Gambar 11 menunjukkan korelasi yang lemah, hanya saja ada kecenderungan korelasi yang positif pada Gambar 10, sedangkan pada Gambar 11 kecenderungan korelasi negatif atau berbanding terbalik.

Dari sini kita akan mengetahui biomarker mana yang memungkinkan untuk kita jadikan alat untuk memonitor suatu logam target. Akan tetapi perlu diingat bahwa hubungan korelatif tidak meniscayakan hubungan kausalitas (sebab-akibat), meskipun hubungan korelatif itu dapat digunakan sebagai indikasi adanya keterkaitan antara satu variabel dengan variabel yang lain. Untuk mengetahui model yang tepat, data dari kegiatan praktik aplikasi biomarker sederhana dapat menjadi bahan studi pendahuluan untuk kegiatan penelitian selanjutnya dengan model regresi, analisis jalur atau *structural equation modeling*.

Dalam kaitannya dengan konsentrasi logam dan indeks kondisi, Yaqin et al (2015) menghipotesiskan bahwa jika hubungan indeks kondisi kerang dan logam kuat dan berbanding lurus, maka perairan di mana kerang hidup tidak tercemar. Dalam kondisi ini bahan pencemar masih

dalam batas toleransi atau bahkan sebagian dari apa yang disebut bahan pencemar itu justru dibutuhkan oleh organisme dalam proses hidupnya, seperti untuk pertumbuhan dan reproduksi. Akan tetapi jika indeks kondisi kerang dan logam korelasinya kuat dan berbanding terbalik, maka perairan yang dihuni kerang itu tercemar. Perairan seperti ini mengandung bahan-bahan atau stresor lingkungan yang tidak saja mengganggu proses hidup suatu organisme tetapi juga sudah membahayakan kehidupannya, meskipun belum sampai menimbulkan kematian. Oleh karena itu, semakin banyak bahan pencemar maka akan semakin menurun nilai indeks kondisi kerang.

Selanjutnya, apabila hubungan antara indeks kondisi kerang dan konsentrasi logam di daging lemah, maka perairan yang dihuni oleh kerang, tercemar sedang. Kondisi perairan seperti ini memperlihatkan sebagian populasi kerang dapat mengasimilasi bahan pencemar dengan baik dan sebagian yang lain sudah mulai menurun kemampuannya dalam merespon bahan pencemar. Hal ini karena bahan pencemar konsentrasinya masih dalam kadar yang dapat ditoleransi oleh kerang sehingga belum

menyebabkan gangguan yang serius dalam proses pertumbuhan kerang.

Hipotesis ini masih perlu diuji secara lebih serius dengan berbagai bahan pencemar baik dengan studi *in vivo* maupun *in situ*. Di sisi yang lain validasi dan elaborasi hipotesis di atas memungkinkan untuk menghasilkan tambahan kriteria baru yaitu sebelum dan sesudah kriteria tercemar sedang.

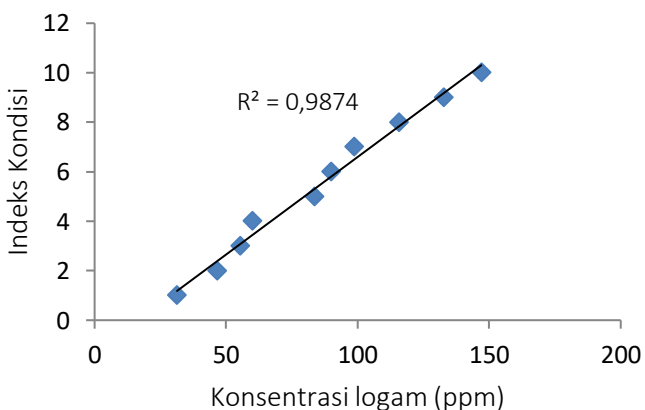
Dengan demikian, kriterianya bisa menjadi, bersih, tercemar ringan, tercemar sedang, tercemar, sangat tercemar (Tabel 1). Kriteria bersih merujuk pada grafik korelasi positif dan kuat atau sangat (gambar 8).

Kriteria tercemar ringan merujuk pada grafik korelasi sedang dan cenderung positif (Gambar 10). Selanjutnya, kriteria tercemar sedang merujuk pada grafik korelasi lemah dan cenderung positif atau negatif (Gambar 12 dan Gambar 13). Untuk kriteria tercemar merujuk pada grafik korelasi sedang cenderung negatif (Gambar 11). Terakhir, kondisi sangat tercemar merujuk pada grafik korelasi kuat atau sangat kuat dan negatif (Gambar 9). Dalam penelitiannya Soto, et al. (2000) menemukan bahwa indeks kondisi kerang meningkat ketika dipapar

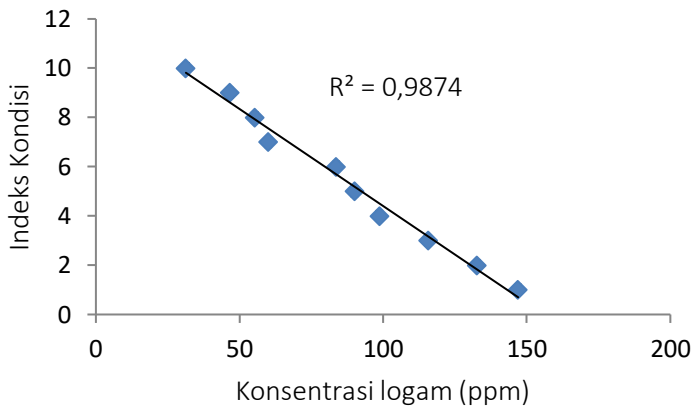
dengan logam dengan kisaran konsentrasi rendah sampai menengah, dan mengalami penurunan ketika dipapar dengan konsentrasi tinggi.

Tabel 1. Hipotesis kriteria status pencemaran berdasarkan korelasi indeks kondisi dan IBLK.

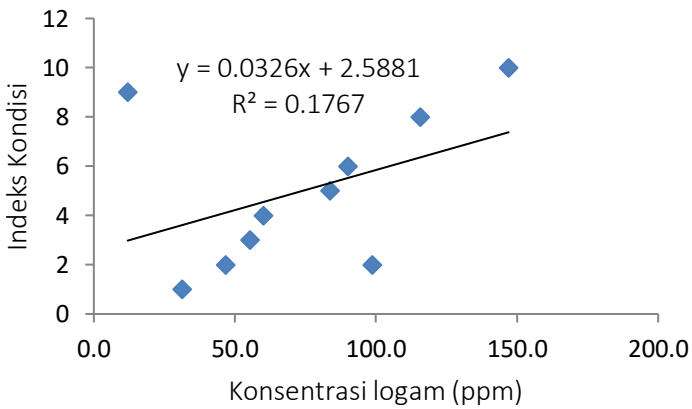
Kriteria	Korelasi	
Bersih	Kuat atau sangat kuat	Positif
Tercemar ringan	Sedang	Positif
tercemar sedang	Lemah	Positif/Negatif
Tercemar	Sedang	Negatif
Sangat tercemar	Kuat atau sangat kuat	Negatif



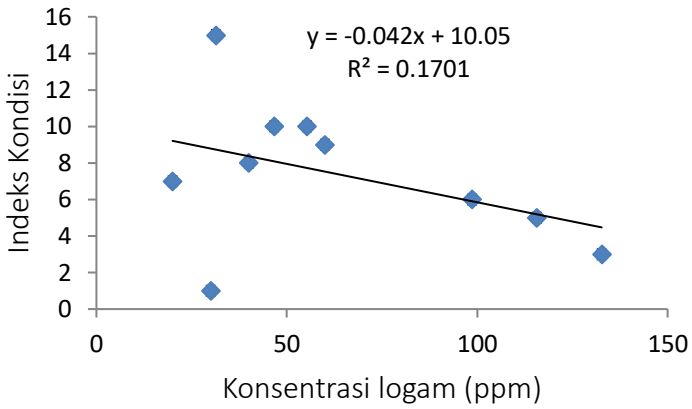
Gambar 8. Korelasi positif dan sangat kuat. Nilai  $R = 0,99$ .



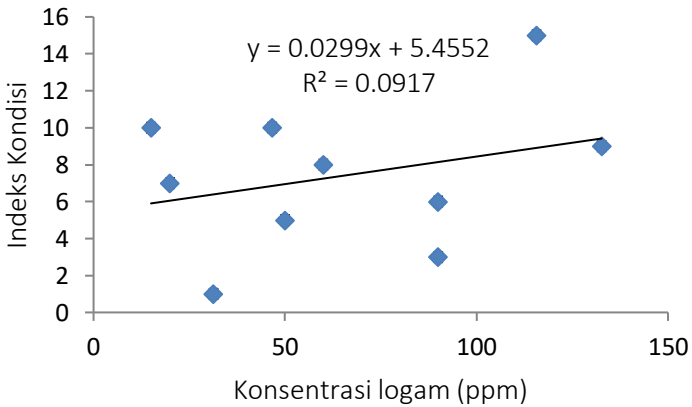
**Gambar 9.** Korelasi negatif dan sangat kuat. Nilai R = 0,99.



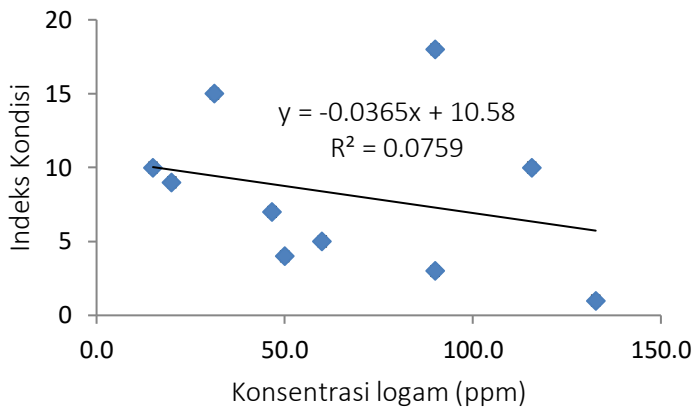
**Gambar 10.** Korelasi sedang cenderung positif. Nilai R = 0,42.



**Gambar 11.** Korelasi sedang cenderung negatif. Nilai R = 0,412.



**Gambar 12.** Korelasi lemah cenderung positif. Nilai R = 0,30.



**Gambar 13.** Korelasi lemah cenderung negatif. Nilai R = 0,28.

**Tabel 2.** Nilai kekuatan korelasi (Fowler *et al.*, 2013).

Nilai koefisien R (positif atau negatif)	Makna Korelasi
0,00 – 0,19	Sangat lemah
0,20-0,39	Lemah
0,40-0,69	Sedang
0,70-0,89	Kuat
0,90-1,00	Sangat kuat

## *Analisis Stress On Stress*

Analisis *Stress On Stress* dianalisis dengan konsep  $LT_{50}$ .  $LT_{50}$  diukur dengan menggunakan uji Kaplan-Meier yang mengukur 50% populasi yang mati pada periode yang ditentukan. Untuk menganalisis kurva Kaplan-Meier dapat digunakan *software Graphpad Prism* dan beberapa *software statistik* yang lain.

Uji Kaplan Meier adalah suatu alat penduga batas produk yang merupakan statistik non parametrik yang digunakan untuk memprediksi peluang sintasan atau *survival* suatu organisme (termasuk manusia). Estimator ini dirumuskan oleh dua ilmuan yaitu Edward L. Kaplan dan Paul Meier. Menariknya, dua orang itu masing-masing menulis rumusan itu dalam suatu manuskrip yang berbeda. Kemudian dua manuskrip dari dua pengarang yang berbeda itu dikirim ke *Journal of the American Statistical Association*. John Tukey, editor Jurnal, menyakinkan kedua penemu itu untuk menyatukan dua manuskrip menjadi satu manuskrip. Akhirnya, manuskrip itu diterbitkan tahun 1958 dengan judul "*Nonparametric*

*estimation from incomplete observations*” (Kaplan dan Meier 1958).

*Stress On Stress* adalah parameter kemampuan kerang untuk hidup di udara dalam waktu tertentu. Sebagaimana kita ketahui bahwa kerang mampu hidup di luar habitatnya atau di udara selama beberapa waktu tertentu. Kemampuan ini akan dipengaruhi oleh beberapa hal, salah satunya adalah bahan pencemar. Kerang yang sudah terpapar oleh bahan pencemar akan berkurang kemampuannya untuk hidup beberapa saat di udara. Semakin tinggi konsentrasi bahan pencemar dan lama waktu pemaparan, maka akan semakin berkurang kemampuan kerang untuk hidup di udara, begitu juga sebaliknya. Untuk mengukur kemampuan ini kita bisa menggunakan estimator Kaplan-Meier.

### *Menghitung $LT_{50}$ Kaplan-Meier*

$LT_{50}$  Kaplan-Meier dapat dihitung dengan berbagai *software* statistik, misalnya SPSS, *Graphpad Prism* dan lain-lain. Di sini akan dijabarkan cara menghitung  $LT_{50}$  Kaplan-Meier dengan menggunakan *Graphpad Prism* . Tabel 3

memuat data kematian kerang setelah dipapar dengan arsenik dan setelah itu dibiarkan dalam wadah dengan suhu 25°C selama enam hari. Setelah itu data kita pindahkan ke *Graphpad Prims*.

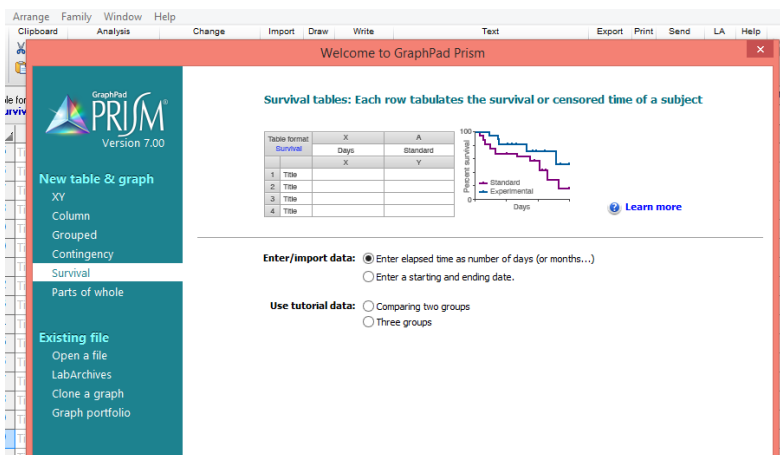
**Tabel 3.** Data kematian kerang yang dipapar arsenik. Paparan arsenik dalam ppm.

Hari	0	0,012	0,06	0,3
1	22	23	27	24
2	21	22	25	24
3	19	21	21	23
4	11	8	5	12
5	4	5	1	1
6	1	0	0	0

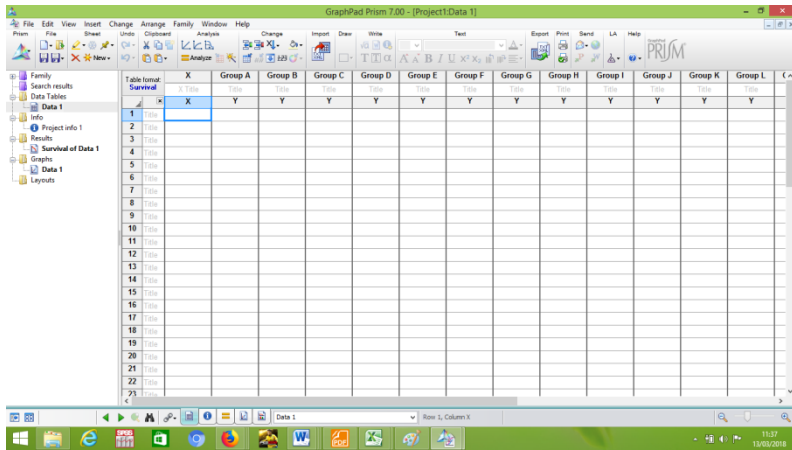
Tahapan memasukkan data ke *Graphpad Prims* untuk analisis  $LT_{50}$  Kaplan-Meier adalah sebagai berikut:

1. Buka *Graphpad Prism* dan pilih menu *new project*
2. Pilih *Survival* dan *Enter elapse times number of day* dan klik *create* (Gambar 14)
3. Masukkan data dari Tabel 3 ke dalam data *sheet graphpad* seperti pada Gambar 15 dan akan diperoleh susunan data seperti pada (Gambar 16)

4. Klik data *summary*. Dari data *summary* kita mendapatkan data kematian, dan median dari setiap kurva (Gambar 17).
5. Klik *Curve Comparison*. Dari perbandingan itu dapat diketahui bahwa tidak ada perbedaan yang nyata antar kurva. Oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan yang nyata  $LT_{50}$  masing-masing perlakuan (Gambar 18)
6. Klik data pada Graph. Dari Graphpad dapat kita lihat model kurva  $LT_{50}$  Kaplan Meier.



**Gambar 14.** Survival dan Enter elapsed time as number of days.



Gambar 15. Data sheet graphpad.

GraphPad Prism 7.00 - [Kaplan Meier LT50 (perbaikan).pzf:Data

Table format:	X	Group A	Group B	Group C	Group D	Group E	Group F	Group G
Survival	Time	0 mg/l	0.008 mg/l	0.038 mg/l	0.19 mg/l	Title	Title	
	X	Y	Y	Y	Y	Y	Y	
1	Title	6	0					
2	Title							
3	Title	2	1	1	1			
4	Title	2		1				
5	Title	3	1	1	1	1		
6	Title	3	1		1			
7	Title	3			1			
8	Title	3			1			
9	Title	4	1	1	1	1		
10	Title	4	1	1	1	1		
11	Title	4	1	1	1	1		
12	Title	4	1	1	1	1		
13	Title	4	1	1	1	1		
14	Title	4	1	1	1	1		
15	Title	4	1	1	1	1		
16	Title	4	1	1	1	1		
17	Title	4	1	1	1	1		

Gambar 16. Tampilan data sheet yang sudah diisi dengan data kematian.

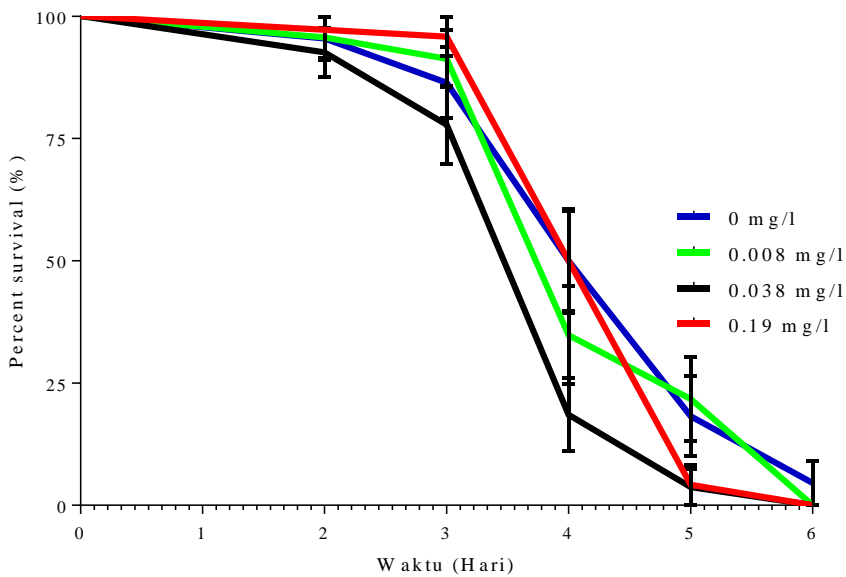
GraphPad Prism 7.00 - [Kaplan Meier LT50 (perbaikan).pzf.S

Survival Data summary		A	B	C	D	E
		0 mg/l	0.008 mg/l	0.038 mg/l	0.19 mg/l	Title
		Y	Y	Y	Y	Y
1	Number of rows	40	40	40	40	
2	# of blank lines	18	17	13	16	
3	# rows with impossible data	0	0	0	0	
4	# censored subjects	1	0	0	0	
5	# deaths/events	21	23	27	24	
6						
7	Median survival	4.5	4	4	4.5	

Gambar 17. Tampilan kesimpulan data.

Survival Curve comparison			
1	Comparison of Survival Curves		
2			
3	Log-rank (Mantel-Cox) test (conservative)		
4	Chi square	3.567	
5	df	3	
6	P value	0.3122	
7	P value summary	ns	
8	Are the survival curves sig different?	No	
9			
10	Logrank test for trend (conservative)		
11	Chi square	0.5471	
12	df	1	
13	P value	0.4595	
14	P value summary	ns	
15	Sig. trend?	No	

Gambar 18. Tampilan perbandingan kurva.



**Gambar 19.**  $LT_{50}$  menurut Kaplan-Meier test.

$LT_{50}$  perlakuan 0, 0,008, 0,038 dan 0,19 mg/l masing-masing adalah 4,5, 4, 4, dan 4,5 hari. Dari data di atas (Gambar 19) dapat kita lihat bahwa tidak ada perbedaan yang nyata secara statistik  $LT_{50}$  kerang hijau yang diberi perlakuan atau dipapar dengan arsen. Hal ini menunjukkan bahwa SOS tidak sensitif dalam mendeterminasi efek pemaparan arsen di laboratorium.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afriansyah, A. 2009. Konsentrasi kadmium (cd) dan tembaga (cu) dalam air, seston, kerang dan fraksinasinya dalam sedimen di perairan delta Berau, Kalimantan Timur. Skripsi IPB. Bogor.
- Bayne, B.L., Brown, D.A., Burns, K., Dixon, D.R., Ivanovici, A., Livingstone, D.A., Lowe, D.M., Moore, M.N., Stebbing, A.R.D., & Widdings, J. 1985. The Effects of Stress and Pollution on Marine Animals. Praeger, New York, USA.
- Blaise, C., Gagné, F., & Burgeot, T. 2017. Three simple biomarkers useful in conducting water quality assessments with bivalve mollusks Environmental Science and Pollution Research. 24(36): 27662-27669.
- Fischer, H. 1983. Shell weight as an independent variable in relation to cadmium content of molluscs. Marine ecology progress series. Oldendorf. 12(1): 59-75.
- Fowler, J. , Cohen, L. & Jarvis, P. 2013. Practical statistics for field biology. John Wiley & Sons. Toronto.
- Freeman, K.R. 1974. Growth, mortality and seasonal cycle of *Mytilus edulis* in two Nova Scotian embayments. Departament of the Environment, Fisheries and

- Marine Service, Canada, Technical Report N° 500: 1-112.
- Gerhardt, A. 2002. Bioindicator species and their use in biomonitoring. *Environmental monitoring*. 1: 77-123.
- Ismail, A & Yap, C.K. 1999. The relationship of heavy metals and condition indices of green-lipped mussel *perna viridis* from contaminated and uncontaminated environments. Malaysian Science and Technology Congress 1999: Update of R and D Findings and Commercialisation, Symposium A: Marine Science and Fisheries, Social and Management Sciences, Basic Sciences, Malaysia: Confederation of Scientific and Technological Associations in Malaysia COSTAM.
- Kaplan, E. L., & Meier, P. 1958. "Nonparametric estimation from incomplete observations". *Journal of American Statistic Association*. 53 (282): 457–481. doi:10.2307/2281868. JSTOR 2281868.
- Lucas, A., & Beninger, P. G. 1985. The use of physiological bivalve aquaculture condition indices in marine bivalve aquaculture: *Aquaculture*. 44:187–200.
- Lundebye, A.K., Langston, A.W., Depledge, M.H. 1997. Stress proteins and condition indeks as biomarkersr of tributyltin exposure and effect in mussels. *Ecotoxicology*. 6, 127-136.

- NRC: Committee on Biological Markers of the National Research Council. 1987. Biological markers in environmental health research. *Environ. Health Perspect.* 74:3-9.
- Peakall, D.W. 1994. Biomarkers: the way forward in environmental assessment. *Toxicology & Ecotoxicology News.* 1:55-60.
- Reimer, O., & Tedengren, M. 1996. Phenotypical improvement of morphological defences in the mussel *Mytilus edulis* induced by exposure to the predator *Asterias rubens*: *Oikos.* 75: 383–390.
- Revel, M., Lagarde, F., Perrein-Ettajani, H., Bruneau, M., Akcha, F., Sussarellu, R., & Châtel, A. 2019. Tissue-specific biomarker responses in the blue mussel *Mytilus* spp. exposed to a mixture of microplastics at environmentally relevant concentrations. *Frontiers in Environmental Science.* 7 (33): 1-14.
- Soto, M., Ireland, M. P., & Marigómez, I. (2000). Changes in mussel biometry on exposure to metals: implications in estimation of metal bioavailability in 'Mussel-Watch' programmes. *Science of the total environment.* 247(2-3): 175-187.
- Swann, C. P., Adewole, T., & Waite, J. H. 1998. Preferential manganese accumulation in dreissenid byssal threads. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology,* 119(4): 755-759.

- Van der Oost, R., Beyer, J., & Vermeulen, N. P. 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental toxicology and pharmacology*, 13(2), 57-149.
- Van Gestel, C.A.M., & Van Brummelen, T.C. 1996. Incorporation of the biomarker concept in ecotoxicology calls for a redefinition of terms. *Ecotoxicology*. 5:217-225.
- Versteegh, L. 2012. Assessment of Shell Thickness in *Mytilus edulis* as a Biomarker for Establishment of Its Health and Thiamine Status. Institute of Applied Environmental Sciences Stockholms Universitet. Swedia. Tesis.
- WHO International Programme on Chemical Safety (IPCS), 1993. Biomarkers and risk assessment: concepts and principles. Environmental Health Criteria 155, World Health Organization, Geneva.
- Yap, C.K., & Al-Barwani, S.M. 2012. Comparative study of condition indices and heavy metals in *Perna viridis* population at sebatu and muar, Peninsular Malaysia. *Sains Malaysiana*. 41(9): 1063-1069.
- Yaqin, K, Fachruddin, L., Fitriyani. 2018. Efek ukuran panjang cangkang terhadap indeks kondisi, dan kandungan logam timbel Kerang Hijau (*Perna viridis*). *Jurnal Pengelolaan Perairan*. 1(2):27-40.

Yaqin, K., Fachruddin, L. & Rahim, N. F. 2015. Studi kandungan logam timbal (Pb) kerang hijau, *Perna viridis*, terhadap indeks kondisinya: Jurnal Lingkungan Indonesia. 3:309–317.

# INDEKS

- abiotik, 5
- akuades, 27
- Alan Wals, 27
- analisis korelasi, 31, 32
- asesmen, 9
- Atomic Absorption Spectrophotometry*, 27
- bioavailabilitas, 30
- bioavailablitas, 30
- biofouling*, 20
- Biofouling*, 21
- bioindikator, 5
- biologis, 2, 5, 6, 10, 11, 13, 14, 30
- biomarker, 2, 3, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 21, 26, 32, 33, 49
- Biomarker kerentanan, 12
- Biomarker paparan, 11
- biometri, 30
- biomonitoring, 5, 13, 14, 17, 48
- biota, 8, 9, 15, 27
- biotik, 5
- bisnis, 8, 18, 19
- Bisnis, 8
- bobot, 20, 22, 23, 24, 25, 27, 28
- burung kenari, 4
- cangkang, 15, 20, 22, 23, 24, 28, 29, 50
- dekantasi, 27
- detoksifikasi, 8
- dicuplik, 7
- direkam, 8
- distribusi, 6
- DNA, 15
- durasi, 9
- efek, 1, 8, 9, 10, 12, 14, 16, 46
- ekologi, 1, 6
- ekologis, 6, 13, 14, 15, 16
- ekosistem, 1, 5, 11, 13, 16
- ekotoksikolog, 4
- ekotoksikologi, 1, 2, 4, 9, 13, 14, 15, 21
- enzim, 8
- estabilis, 17
- estuaria, 8
- evaluasi, 2
- filter feeder*, 6
- fisiologi, 2, 13
- fisiologis, 21
- Formula, 22, 30
- Fraunhofer, 27
- fungsi, 6
- Growth Index*, 2, 12, 20, 25, 31
- habitat, 5, 7
- Hipotesis, 35, 36
- ilmuan, 13, 14, 15, 40
- in situ*, 35
- in vivo*, 35
- Indeks Bioavailabilitas Logam dalam Kerang, 30
- Indeks Kebundaran Cangkang, 25
- indeks kondisi, 2, 12, 13, 20, 21, 22, 23, 24, 31, 33, 35, 36, 50
- Indeks Kondisi, 21
- indikator, 6
- individu, 1, 15
- inovasi, 15
- juvenil, 26
- Kapasitas ruang internal cangkang, 22, 29
- Kaplan Meier, 40, 43

Kaplan-Meier, 40, 41, 42, 46  
 karakteristik, 6  
 keanekaragaman, 5  
*Kendall's Tau*, 31  
 kerang, 4, 6, 8, 9, 12, 15, 18, 19,  
 20, 21, 22, 23, 24, 26, 27, 28,  
 29, 30, 32, 33, 35, 41, 42, 46,  
 47, 51  
 kerang hijau, 3  
 Kerang hijau, 4, 6, 7, 8  
 kimia, 1, 10, 13  
 kisaran, 36  
 komparasi, 6, 7, 10, 18  
 komunitas, 1, 5  
 konsentrasi, 8, 13, 28, 33, 36, 41  
 kriteria, 17, 35, 36  
 laboratorium, 2, 4, 13, 16, 46  
 lapangan, 2, 4, 13, 16, 18, 20  
 lingkungan, 2, 5, 6, 8, 10, 12, 13,  
 16, 21, 34  
 logam, 6, 8, 10, 20, 27, 28, 30, 31,  
 33, 36, 50, 51  
 mahasiswa, 2  
 Makassar, 18  
 Mandalle, 18  
 manuskrip, 40  
 mengevaluasi, 16  
 menvalidasi, 16  
*metal/shell-weight index*, 30  
 model, 33, 43  
 molekuler, 2, 10, 11, 15, 16  
 monitoring, 5, 6, 10, 13, 15, 48  
 morfologi, 2, 13, 15, 23  
 morfologis, 21  
 mussel watch, 6  
 non parametrik, 31, 40  
 normal, 31  
 organisasi biologi, 15  
 organisme, 1, 2, 4, 5, 7, 9, 10, 11,  
 12, 13, 14, 17, 20, 34, 40  
*overview*, 3  
*P. viridis*, 18, 32  
 Pangkajene Kepulauan, 18  
*Pearson*, 31  
 pencemaran, 4, 6, 36  
 penelitian, 2, 4, 10, 21, 26, 33  
*Perna viridis*, 3, 6, 23, 26, 29, 50,  
 51  
 polutan, 1  
 populasi, 1, 34  
 preventif, 1  
 protein, 9  
 refleksi, 7  
 Relasi, 17  
 relevan, 6  
 relevansi, 13, 14, 15, 16  
*reliable*, 17  
 remediatif, 1  
 René Truhaut, 1  
 resiko ekologis, 9  
 resistensi, 8  
 respon, 2, 5, 6, 10, 11, 14, 21  
 Respon, 17  
 salinitas, 7  
 sampel, 27, 28, 29  
 seluler, 15  
 sensitif, 15, 17, 46  
*sentinel organisms*, 4, 9  
*sentinel organism*, 3, 5, 6, 9, 14  
*Sentinel organism*, 5  
*sessile*, 6  
 sistem peringatan dini, 17  
*Spearman*, 31  
*statistik*, 31, 40, 41, 46  
 stresor, 10, 14, 34  
*Stress On Stress*, 2, 20, 29, 31, 40,  
 41

struktur, 6  
substitusi, 13, 15  
Sulawesi Selatan, 18  
taxa, 5  
tercemar, 18, 33, 35, 36  
timbel, 32, 50  
tingkah laku, 2, 10  
toksik, 1

toksikologi, 1  
toleransi, 7, 34  
transformasi, 31  
translokasi, 9  
variable, 32, 47  
volume, 22, 24, 28  
whatman, 27

Apa itu biomarker? Sederhananya biomarker dapat didefinisikan sebagai respon biologis dari suatu organisme terhadap bahan pencemar atau tekanan lingkungan. Biomarker digunakan sebagai substitusi dalam monitoring lingkungan yang mengandalkan pendekatan klasik berbasis pada informasi konsentrasi bahan-bahan kimia yang ada di lingkungan. Pendekatan klasik ini dinilai mahal dan memerlukan peralatan yang canggih serta membutuhkan keterampilan yang mumpuni. Di samping itu, pendekatan monitoring klasik tidak memberikan informasi efek yang ditimbulkan oleh bahan-bahan kimia atau stresor lingkungan secara langsung.

Seiring dengan perkembangan studi dan aplikasi biomarker, ilmuwan dalam bidang ekotoksikologi mencoba untuk memanfaatkan seluruh organisasi biologi biota untuk digunakan sebagai biomarker, termasuk di dalamnya adalah biomarker pada tingkat molekuler dan seluler. Tak ayal lagi, inovasi-inovasi studi ekotoksikologi yang menggunakan biomarker pada akhirnya menghasilkan biomarker yang berbiaya mahal dan tidak sederhana.

Oleh karena itu penggunaan biomarker perlu dikembalikan kepada azas awalnya yaitu sebagai substitusi monitoring klasik yang tidak berbiaya mahal dan tidak membutuhkan alat yang canggih. Beberapa biomarker yang berkaitan dengan kondisi morfologi kerang dapat dijadikan sebagai kandidat biomarker sederhana yang memunyai relevansi ekologis. Buku ini akan memberikan ulasan ringkas dan tip strategis penggunaan biomarker sederhana dalam penelitian atau monitoring lingkungan dengan menggunakan kerang sebagai *sentinel organism*. Di Indonesia buku tentang biomarker sebagai alat biomonitoring di perairan masih sangat jarang ditemukan. Oleh karena itu sangat penting kehadiran buku seperti ini dalam ruang yang hampir kosong diskursus dan aplikasi biomarker sederhana di lingkungan akademik dan praktis di Indonesia dalam menyetimulasi minat dan pengembangan biomarker sebagai substitusi di program monitoring lingkungan.

UPT. Unhas Press  
Gedung UPT Unhas Press (depan Fakultas Hukum)  
Kampus Unhas Tamalanrea,  
Jl. Perintis Kemerdekaan km. 10  
e-mail: unhaspress@gmail.com



ISBN 978-979-530-220-1

