

LAPORAN AKHIR
Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi (P)*



**Ekspressi Metallothionein Pada Ingsang Dan Lambung Kijing Taiwan
(*Anodonta woodiana*) yang Terpapar Timbel (Pb)
pada Konsentrasi Sub-Kronis**

Tahun ke 1 dari rencana 2 tahun

Ketua Peneliti:

Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih., MS. (NIDN: 0026076406)

Anggota Peneliti 1:

Asus Maizar Suryanto Hertika., S.Pi., MP. (NIDN: 0029057203)

Anggota Peneliti 2:

Prof. Dr. Ir. Diana Arfiati., MS. (NIDN:0030125906)

Dibiayai oleh :

Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi,
Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan, Melalui DIPA Universitas Brawijaya
Nomor : DIPA-023.04.2.414989/2013, Tanggal 5 Desember 2012, dan berdasarkan
SK Rektor Universitas Brawijaya Nomor : 295/SK/2013 tanggal 12 Juni 2013

UNIVERSITAS BRAWIJAYA
DESEMBER 2013

HALAMAN PENGESAHAN

Judul	: Ekspresi Metallothionein Pada Insang Dan Lambung Kijing Taiwan (<i>Anodonta woodiana</i>) yang Terpapar Timbel (Pb) pada Konsentrasi Sub-Kronis
Peneliti / Pelaksana	
Nama Lengkap	: Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih., M.Si
NIDN	: 0026076406
Jabatan Fungsional	: Lektor Kepala
Program Studi	: Teknologi Hasil Perikanan
Nomor HP	: 08243099909
Alamat surel (e-mail)	: hartatikartikaningsih@gmail.com
Anggota (1)	
Nama Lengkap	: Agus Maizar Suryanto Herlika., S.Pi., MP
NIDN	: 0029057203
Perguruan Tinggi	: Universitas Brawijaya
Anggota (2)	
Nama Lengkap	: Prof. Dr. Ir. Diana Arfiati., MS.
NIDN	: 0030125906
Perguruan Tinggi	: Universitas Brawijaya
Tahun Pelaksanaan	: Tahun ke 1 dari rencana 2 tahun
Biaya Tahun Berjalan	: Rp. 52.500.000,-
Biaya Keseluruhan	: Rp. 107.500.000,-

Malang, 5 Desember 2013

Ketua,



(Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih., M.Si)
NIP. 19640726-198903 2 004



Mengetujui,
Dekan FPIK UB
(Prof. Dr. Ir. Diana Arfiati, MS.)
NIP. 19591230 198503 2 002

Menyetujui

Pjs Ketua LPPM UB



(Prof. Dr. Ir. Siti Chuzaei, MS)
NIP. 19530514 198002 2 001

ABSTRAK

Ekspressi Metallothionein Pada Ingsang Dan Lambung Kijing Taiwan (*Anodonta woodiana*) yang Terpapar Timbel (Pb) pada Konsentrasi Sub-Kronis

Hartati Kartikaningsih, Asus Maizar Suryanto Hertika, Diana Arfiati
Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan UB
email: asusmaizar@yahoo.com

Tujuan penelitian ialah untuk Menentukan pengaruh perbedaan level dosis $PbNO_3$ pada pemaparan sub-kronis terhadap pertumbuhan dan ekspresi kuantitatif dan kualitatif Metallothionein pada Ingsang dan lambung Kijing Taiwan. Manfaat penelitian diharapkan dapat diketahuinya potensi kijing Taiwan sebagai biofilter dan daya toleransinya terhadap logam berat dengan mengetahui ekspresi Metallothionein (MT). Metode penelitian yaitu eksperimen. Penelitian sebelumnya telah diperoleh nilai LC_{50-96} jam pada uji toksisitas yang didapatkan pada dosis 80,03 ppm. Hasil tersebut dijadikan dasar untuk penelitian pemaparan sub kronis yaitu 0%, 12,5%, 25%, 37,5%, dan 50% dari nilai LC_{50-96} jam, sehingga dosis pemaparan $PbNO_3$ yaitu 0, 10, 20, 30 dan 40 ppm. Kijing yang digunakan untuk penelitian berukuran 8 cm. Metode analisis yang digunakan yaitu: (1) Kualitatif MT yaitu dengan teknik imunohistokimia untuk mengukur densitas dan intensitas MT yang terekspresi. (2). Kuantitatif MT, untuk mengukur kadar peningkatan MT akibat pemaparan sub-kronis, serta (3). Laju pertumbuhan Kijing taiwan akibat pemaparan sub-kronis. Hasil penelitian terhadap ekspresi kuantitatif di peroleh kadar MT pada insang tertinggi pada perlakuan dosis 30 ppm sebesar 28824,333 ng/gr dan terendah pada perlakuan 0 ppm sebesar 19.333 ng/gr berat basah sampel. Kadar MT pada lambung tertinggi pada perlakuan dosis 30 ppm sebesar 47362,33 ng/gr dan MT terendah pada perlakuan dosis 0 ppm sebesar 25733 ng/gr berat basah sampel. Hasil penelitian menunjukkan ekspresi kualitatif MT melalui prosedur imunohistokimia. Hasil MT yang terekspresi semakin meningkat seiring dengan peningkatan dosis pemaparan. Pada Insang kijing Taiwan Peningkatan densitas dan intensitas MT tertinggi diperoleh pada dosis pemaparan 30 ppm $PbNO_3$ yaitu $16,39 \times 10^{-4}$ MT/ μm^2 dan intensitas 29,371 pixel. Pada organ lambung kijing Taiwan densitas MT tertinggi pada pemaparan 40 ppm yaitu $17,27 \times 10^{-4}$ MT/ μm^2 , dan intensitasnya 28,776 pixel. Hasil pengukuran logam berat akhir pada whole organ tertinggi pemaparan dosis 30 ppm yaitu 2,534 ppm dan terendah pada dosis 10 ppm yaitu 2,5326. Sedangkan cangkang tertinggi diperoleh hasil pemaparan dosis 30 ppm yaitu 2,5281 ppm dan terendah dosis 10 ppm yaitu 2,5273 ppm. Selanjutnya pada hasil laju pertumbuhan Kijing taiwan akibat pemaparan sub-kronis diperoleh hasil pertumbuhan berat tertinggi pada pemaparan 0 ppm yaitu 0,33159 gr dan pada pertumbuhan panjang diperoleh hasil tertinggi pada pemaparan 0 ppm yaitu 0,10244 cm. Sedangkan hasil pengukuran kualitas air selama 30 hari yang meliputi Oksigen terlarut dengan kisaran hail rata-rata antara 8,1-8,3 ppm, sementara untuk Suhu kisaran hasil rata-rata 20-20,1^oC dan pada pH hasil rata-rata 7.

Kata Kunci : Kijing Taiwan, Timbel, Metallothionein

ABSTRACT

Metallothionein Expression in The Gill And Interior Cavity Of Taiwan Mussels (*Anodonta woodiana*) After Exposure to Lead (Pb) at Sub-Chronic Level

Hartati Kartikaningsih, Agus Maizar Suryanto Hertika, Diana Arfiati
Fisheries and Marine Science Faculty, Barawijaya University
email: asusmaizar@yahoo.com

The aim of this study was to Determine the effect of different dose levels $PbNO_3$ on sub-chronic exposure to growth and quantitative and qualitative expression of metallothionein in gills and stomach gravestone Taiwan. The benefits of the research are expected to be known potential gravestone Taiwan as biofilters and power tolerance to heavy metals to determine expression of metallothionein (MT). The research method is experimental. Previous studies have obtained 96-hour LC_{50} toxicity tests were obtained at the dose of 80.03 ppm. These results form the basis for sub-chronic exposure study is 0%, 12.5%, 25%, 37.5%, and 50% of the value of LC_{50} -96 hours, so that the exposure dose $PbNO_3$ is 0, 10, 20, 30 and 40 ppm . Gravestones were used for the study measures 8 cm. Analysis method used were: (1) Qualitative MT is by immunohisto chemical techniques to measure the density and intensity of the expression MT. (2). Quantitative MT, to measure the levels of MT due to an increase in sub-chronic exposure, as well as (3). The growth rate as a result of exposure to subchronic Taiwan gravestone. The results of the study obtained quantitative expression of MT levels in the gills at the highest dose of 30 ppm treatment at 28824.333 ng/g and the lowest at 0 ppm treatment greatest 19.333 ng/g wet weight of the sample. MT at the highest levels in the treatment of gastric dose 30 highest 47362 ppm, 33 ng/MT gr and lowest at 0 ppm dose treatment highest 25733 ng/g wet weight of the sample. The results showed qualitative MT expression through immunohistochemistry procedures. Results are expressed MT increased along with the increase of exposure dose. In Taiwan gravestone gill Increased density and intensity of MT obtained at the highest exposure dose of 30 ppm $PbNO_3$ is 16.39×10^{-4} MT/ μm^2 and 29.371 pixel intensity. The stomach organ Taiwan gravestone highest density MT exposure is 40 ppm 17.27×10^{-4} MT/ μm^2 , and 28.776 pixel intensity. The results of the heavy metal end of a whole organ highest exposure dose of 30 ppm is the lowest dose of 2.534 ppm and 10 ppm which is 2.5326. While supreme shells obtained results of exposure dose of 30 ppm is the lowest dose of 2.5281 ppm and 10 ppm is 2.5273 ppm. Furthermore, the results of Taiwan gravestone growth rate due to sub-chronic exposure obtained the highest weight growth results in the exposure of 0 ppm is 0.33159 g and the length of the growth obtained the highest yield at 0 ppm exposure is 0.10244 cm. While the results of water quality measurements during the 30 days that includes hail dissolved oxygen range on average between 8.1 to 8.3 ppm while for the temperature range of the average yield of 20 to 20.1 °C and at pH 7 the average results.

Keywords: gravestone Taiwan, Lead, metallothionein

RINGKASAN

Adaptasi organisme terhadap pencemaran logam berat di lingkungan melalui sistem pertahanan antara lain melalui pengucilan, kompartementalisasi, pembentukan kompleks dan sintesis protein pengikat seperti Metallothionein (MT) dan phytochelatin (PC). Ekspresi protein pengikat logam (MT) pada masing-masing individu atau species untuk menanggapi adanya pencemaran logam berat berbeda, hal ini tergantung dari species, organ, umur individu dan lain-lain. Pada penelitian ini dikaji ekspresi kualitatif dan kuantitatif MT pada insang dan lambung kijing Taiwan yang dipapar PbNO_3 pada pemaparan sub-kronis.

Tujuan penelitian ialah untuk menentukan pengaruh perbedaan level dosis PbNO_3 pada pemaparan sub-kronis terhadap pertumbuhan dan ekspresi kuantitatif dan kualitatif Metallothionein pada Insang dan lambung Kijing Taiwan. Manfaat penelitian diharapkan dapat diketahuinya potensi kijing Taiwan sebagai biofilter dan daya toleransinya terhadap logam berat dengan mengetahui ekspresi Metallothionein (MT) diharapkan akan dapat dijadikan solusi untuk mengatasi problem pencemaran logam berat khususnya Pb yang merupakan usaha pengendalian daya rusak air serta turut mendukung ketahanan energi Nasional khususnya pada budidaya ikan air tawar.

Metode penelitian yaitu eksperimen. Penelitian sebelumnya telah diperoleh nilai LC_{50-96} jam pada uji toksisitas yang didapatkan pada dosis 80,03 ppm. Hasil tersebut dijadikan dasar untuk penelitian pemaparan sub kronis yaitu 0%, 12,5%, 25%, 37,5%, dan 50% dari nilai LC_{50-96} jam sehingga didapatkan dosis pemaparan 0, 10, 20, 30 dan 40 ppm PbNO_3 . Kijing yang digunakan untuk penelitian berukuran 8 cm. Metode analisis yang digunakan yaitu: (1) Nilai kualitatif MT yaitu dengan teknik imunohistokimia untuk mengukur densitas dan intensitas MT yang terekspresi. (2). Nilai kuantitatif MT, untuk mengukur kadar peningkatan MT akibat pemaparan sub-kronis, serta (3). Laju pertumbuhan Kijing taiwan akibat pemaparan sub-kronis.

Hasil penelitian terhadap ekspresi kuantitatif di peroleh kadar MT pada insang tertinggi pada perlakuan dosis 30 ppm sebesar 28824,333 ng/gr dan terendah pada perlakuan 0 ppm sebesar 19.333 ng/gr berat basah sampel. Kadar MT pada lambung tertinggi pada perlakuan dosis 30 ppm sebesar 47362,33 ng/gr dan MT terendah pada perlakuan dosis 0 ppm sebesar 25733 ng/gr berat basah sampel.

Hasil penelitian terhadap ekspresi kualitatif MT melalui prosedur imunohistokimia. MT yang terekspresi telah diestimasi densitas dan intensitasnya dan diperoleh hasil MT yang terekspresi semakin meningkat seiring dengan peningkatan dosis pemaparan. Pada Insang kijing Taiwan Peningkatan densitas MT tertinggi diperoleh pada dosis pemaparan 30 ppm PbNO_3 yaitu $16,39 \times 10^{-4}$ $\text{MT}/\mu\text{m}^2$ dan intensitas tertinggi 29,371 pixel. Pada organ lambung kijing Taiwan densitas MT tertinggi pada pemaparan 40 ppm yaitu $17,27 \times 10^{-4}$ $\text{MT}/\mu\text{m}^2$, dan intensitas tertinggi 28,776 pixel. Hasil logam berat akhir whole organ tertinggi pemaparan dosis 30 ppm yaitu 2,534 ppm dan terendah dosis 10 ppm yaitu 2,532. Sedangkan cangkang tertinggi diperoleh hasil pemaparan dosis 30 ppm yaitu 2,528 ppm dan terendah dosis 10 ppm yaitu 2,527 ppm. Selanjutnya pada hasil laju pertumbuhan Kijing taiwan akibat pemaparan sub-kronis diperoleh hasil pertumbuhan berat tertinggi pada pemaparan dosis 0 ppm yaitu 0,33159 pixel dan pada pertumbuhan panjang diperoleh hasil tertinggi pada pemaparan dosis 0 ppm yaitu 0,10244 pixel. Sedangkan hasil pengukuran kualitas air selama 30 hari yang meliputi Oksigen terlarut dengan kisaran hasil rata-rata antara 8,1-8,3 ppm, sementara untuk Suhu kisaran hasil rata-rata 20-20,1 $^{\circ}\text{C}$ dan pada pH hasil rata-rata 7.

Saran perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengkaji ekspresi kuantitatif dan kualitatif MT pada Kijing taiwan yang diaplikasikan pada model budidaya ikan semi lapang sistem resirkulasi untuk melihat efektifitas Kijing taiwan dalam mengakumulasi dan mengurangi kadar logam berat di perairan.

SUMMARY

Adaptation of organisms to heavy metal pollution in the environment through the defensive system among others through exclusion, compartmentalization, complex formation and synthesis binding proteins such as metallothionein (MT) and phytochelatin (PC). Expression of synthesis binding proteins such as (MT) to individual or species to respond to the presence of different heavy metal pollution - different, it depends on the species, organ, age and other individuals. In this study examined the expression of qualitative and quantitative MT on gastric gravestone gill and Taiwan are exposed PbNO₃ on subchronic exposure.

The purpose of this study was to Determine the effect of different dose levels PbNO₃ on sub-chronic exposure to growth and quantitative and qualitative expression of metallothionein in the stomach and gill gravestone Taiwan. The benefits of the research are expected to be known potential gravestone Taiwan as biofilters and power tolerance to heavy metals to determine expression of metallothionein (MT) is expected to be used as a solution to overcome the problem of heavy metal pollution control efforts, especially Pb that us force of water and contribute to national energy resilience, especially in freshwater fish farming.

The research method is experimental. Previous studies have obtained LC₅₀-96 hour toxicity tests were obtained at the dose of 80.03 ppm. These results form the basis for sub-chronic exposure study is 0%, 12.5%, 25%, 37.5%, and 50% of the value of LC₅₀-96 hours to obtain the exposure dose of 0, 10, 20, 30 and 40 ppm PbNO₃. Gravestones were used for the study measures 8 cm. The analytical method used, namely: (1) The value of MT is the qualitative immunohistochemical techniques to measure the density and intensity of the expression MT. (2) MT quantitative value, to measure the levels of MT due to an increase in sub-chronic exposure. (3) The growth rate as a result of exposure to subchronic taiwan gravestone.

The results of the study obtained quantitative expression of MT levels in the gills at the highest dose of 30 ppm treatment at 28824.333 ng/g and the lowest at 0 ppm treatment highest 19.333 ng/g wet weight of the sample. MT at the highest levels in the treatment of gastric dose 30 highest 47362 ppm, 33 ng/gr MT and lowest at 0 ppm dose treatment highest 25733 ng/g wet weight of the sample.

The results of a qualitative study of MT expression through immunohistochemistry procedures. MT has been estimated that expression density and intensity and the obtained results are expression MT increased along with the increase of exposure dose. Taiwan Improved gravestone gill MT highest density was obtained at a dose of 30 ppm exposure PbNO₃ 16.39 x10⁻⁴ MT/μm² and the highest intensity of 29.371 pixels. The stomach organ Taiwan gravestone highest density MT exposure is 40 ppm 17.27 x10⁻⁴ MT/μm², and the highest intensity of 28.776 pixels. The results of the heavy metal end of a whole organ highest exposure dose of 30 ppm is 2.534 ppm and lowest 10 ppm is 2.532. While supreme shells obtained results of exposure of 30 ppm is 2.528 ppm and lowest 10 ppm is 2.527 ppm.

Furthermore, the results of taiwan gravestone growth rate due to sub-chronic exposure obtained the highest weight growth results in the exposure of 0 ppm is 0.33159 pixels and at length obtained the highest yield growth dose of 0 ppm exposure is 0.10244 pixels. While the results of water quality measurements during the 30 days that covers the range of dissolved oxygen with hail average between 8.1 to 8.3 ppm, while for the temperature range of the average yield of 20 to 20.1 °C and at pH 7 the average results.

Advice needs to be done further research to assess the quantitative and qualitative expression of MT in Taiwan gravestone that was applied to the model of semi-field fish aquaculture recirculation system effectiveness gravestone to see Taiwan in accumulating and reducing the levels of heavy metals in the waters.

DAFTAR PUSTAKA

- Amiard, J.C., Cosson, R.P., 1997. Lesm'etallothion'eines. In: Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J.C., Ramade, F. (Eds.), *Biomarqueurs en 'ecotoxicologie. Aspects Fondamentaux*. Masson, Paris, pp. 53–66.
- Amiard J.C, Amiard T C, Barka S, Pellerin J, Rainbow P.S. 2006.Metallothioneins in aquatic invertebrates:Their role in metal detoxification and their use as biomarkers. *Aquatic Toxicol.* 76. pp. 160-202.
- Amin,Bintal.2001.Akumulasi dan Distribusi Logam Berat Pb dan Cu pada Mangrove (*Avicenia Marina*)di perairan Pantai Dumai,Riau.[http://www.pdfarticles.com/topic/pb+pada+perairan.html#Diakses pada 27 November 2012](http://www.pdfarticles.com/topic/pb+pada+perairan.html#Diakses+pada+27+November+2012).
- Ana RL, Garcia-Vazquez E (2006). A simple assay to quantify metallothionein helps to learn about bioindicators and environmental health. *Biochem. Mol. Biol. Edu.* 34(5): 360–363.
- Arifin. 2009. Mengenal Logam Berat. <http://smk3ae.wordpress.com/2009/02/02/mengenal-logam-berat-heavy-metal/>.
- Couillard Y., Peter G. C. C., Tessier A. 1993. Response of metallothionein concentrations in a freshwater bivalve (*Anodonta grandis*) along an environmental cadmium gradient. *Limnol Ocenogr.* 38(2), pp.299-313.
- Couillard Y., Campbell P.G.C., Pellerin J.M., Auclair J.C. 1995. Field Transplantation Of a Freshwater Bivalve, *Pyganodon grandis*, Across a Metal Contamination Gradient. II. Metallothionein Response to Cd and Zn Exposure, Evidence for Cytotoxicity, And Links To Effects at Higher Levels of Biological Organization. *Ca. J. Fish. Aquat. Sci.* 52: 703-715.
- Cragger M BS; Aaron J. Berger, BS; David L. Rimm, MD, PhD. 2006.Immunohistochemistry and Quantitative Analysis of Protein Expression.*Arch Pathol Lab Med-Vol 130.Hal 1029*.
- Cullaj A, Pranvera L, Sonila D. 2007. Heavy Metals And MT In Mussel Samples Of Albanian Seacoast. University of Tirana of Natural Sciens, Albania.
- Dave, A. 2009. Kerang sebagai Biofilter Logam Berat. <http://kimia79.blogspot.com/2009/01/keran-sebagai-biofilter-logam-berat.html>.
- Effendi, H. 2003. Telaah Kualitas Air Bagi Pengelolaan Suberdaya Dan Lingkungan Perairan. Kanisius: Yogyakarta
- Erlangga. 2007. Efek Pencemaran Perairan Sungai Kampar Di Provinsi Riau Pada Ikan Baung (*Hemibagrus nemurus*). <http://www.damandiri.or.id/file/erlanggaipbbab2.pdf>.

- Fardiaz, S. 1992. Polusi Air dan Polusi Udara. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. pp. 38-69.
- Fowler B.A., Hildebrand C.E., Kojima Y. & Webb M. 1987. Nomenklatur of Metallothionein. *Experientia Suppl.* 52: 19-22
- Galtsoff P.S. 1964. The American Oyster. *Cassostrea Virginica* Gmelin. Fishery Bulletin. United States Department Of Interior. Fish and Wildlife Service. Vol. 64.
- Geffard, A, Olivier G, Edouard H, Jean-Claude Amiard. 2002. Relationships Between Metal Bioaccumulation and MT Levels in Larvae of *Mytilus galloprovincialis* Exposed to Contaminated Estuarine Sediment Elutriate. *Marine Ecology Progress Series* Vol. 233: 131-142
- Hafiz, M. 2009. Karakterisasi Kijing (*Pilsbryconcha exilis*) Di Perairan Situ Gede, Bogor. <http://hafiz1309.wordpress.com/2009/05/>.
- Hall S., Carson S. 2006. Determining The Filtration Rates Of The Freshwater Mussel *Elliptio complanata*. Fayette Co. High School. <http://www.elog.org/files/freshwatermussel.pdf>.
- Hanson N, Andrew L. 2008. Biomarker Analyses in Fish Suggest Exposure to Pollutants in an Urban Area With a Landfill. Submitted Manuscript.
- Hasim. 2008. Kerang sebagai biofilter logam berat. <http://www.kompas.com/kompas-cetak.htm>.
- Hindersah R., Kalay A.M., Muntalib B.S. 2004. Akumulasi Pb Dan Cd Pada Buah Tomat Yang Ditanam Pada Tanah Yang Mengandung Lumpur Kering dari Instalasi Pengolahan Air Limbah Domestik. Prosiding Seminar Nasional dan Kongres Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI). p: 142-145.
- Hertika A.M.S., 2011. Diktat Kuliah: Pencemaran Lingkungan (Sumber, Dampak Dan Upaya Penanggulangannya). Prog. Studi. Manajemen Sumber Daya Perairan. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang
- Hertika A.M.S., Arfiati D., Arianti I., 2011. Pb Content in Taiwan Mussels (*Anadonta woodiana*) in Unit Pengelola Budidaya Air Tawar (UPBAT), Sidomulyo, Batu. Prosiding Seminar Internasional (dalam proses penerbitan).
- Ivanina A.N., Cherkasov A.S., Sokolova I.M. 2007. Effects Of Cadmium on Cellular Protein and Glutathione Synthesis and Expression Of Stress Proteins In Eastern Oysters, *Cassostrea virginica* Gmelin. *J Exp Biol.* 211: 577-586.
- Khan N.A., Ibrahim S., Subramaniam P., 2004. Elimination of Heavy Metals from Wastewater Using Agricultural Wastes as Adsorbents. *Malaysian Journal of Sci.* 23 : 43-51.
- Larasati. 2010. *Prosedur Tetap Pengobatan Imunohistokimia p53*. Cancer Chemoprevention Research Center. Fakultas Farmasi. UGM

- Mamun A. A., Khan Md.A. 2011. Freshwater Mussel (*Margaritifera margaritifera*) Bio-Filter Against water Pollution. World Applied Sci. 12 (5) : 580-585.
- Maulana, Bagus. 2007. Efektivitas Kijing Taiwan (*Anodonta woodiana*) Dalam Menyerap Limbah Organik Pada Budidaya Ikan Sistem Resirkulasi. Skripsi. IPB. 68 hlm
- McIvor, A.L. (2004) Freshwater mussels as biofilters. PhD thesis, Dep't of Zoology, University of Cambridge.
- Moss, B. 1998. Ecology of Fresh Waters: Man and Medium, Past to Future. Oxford: Blackwell Science. pp. 75-83.
- Murasugi A, Wada C, Hayashi Y. 1981. *Biochem Biophys Res Commun* 103: 1021-1028.
- Murthy, S., Bali, G., Sarangi K., 2011. Effect of lead on metallothionein concentration in lead resistant bacteria *Bacillus cereus* isolated from industrial effluent. African Jo. Of Biotech. 10(71), pp. 15966-15972.
- Natan, Y. 2008. Studi Ekologi dan Reproduksi Populasi Kerang Lumpur *Anodontia edentula* Pada Ekosistem Mangrove Teluk Ambon Bagian Dalam. <http://iirc.ipb.ac.id/jspui/bitstream/123456789/3856/1/2008yna.pdf>.
- Nighat, R. 2009. Isolation and Characterization of Cadmium Metallothionein Gene from Local Ciliates. Thesis for Ph.D. Degree in Biological Sciences University of the Punjab, Lahore. p: 169.
- Nugroho, A.E. 2006. Tingkat Biofiltrasi Kijing (*Pilsbryconcha exilis*) Terhadap Bahan Organik. Skripsi. IPB. 53 hlm
- Palar, H. 2008. Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat. Cetakan ke-4. PT. Rineka Cipta. Jakarta.
- Purnomo, T dan Muchyiddin. 2007. Analisis Kandungan Timbel (Pb) Pada Ikan Bandeng (*Chanos chanos*) di Tambak Kecamatan Gresik. Neptunus. Vol.14: 68 – 7.
- Ringwood, H., J. Hoguet, C. Keppler and M. Gielazyn, 2004. Linkages Between Cellular Biomarker Responses and Reproductive Success in Oysters – *Crassostrea virginica*. Marine Environmental Res., 58: 151-155
- Roesijadi G. 1992. Metallothioneins in Metal Regulation and Toxicity In Aquatic Animals. Aquat Toxicol 22: 81-114.
- Roesijadi G, Rezvankhah S, Perez M.A, Mitelberg A, Torruellas K, Van Veld P.A., 2009. Dietary cadmium and benzo(a)pyrene increased intestinal metallothionein expression in the fish *Fundulus heteroclitus*. Marine Environmental Research Jo. 67. pp. 25–30.
- Roy, Utpal Singha, Buddhadeb Chattopadhyay, Siddhartha Datta and Subhra Kumar Mukhopadhyay. 2011. Metallothionein as a Biomarker to Assess the Effects of

Pollution on Indian Major Carp Species from Wastewater-Fed Fishponds of East Calcutta Wetlands (a Ramsar Site). *Environmental Research, Engineering and Management*. No. 4 (58), P:10-17.

Salmin.2005. Oksigen Terlarut (Do) Dan Kebutuhan Oksigen Biologi (Bod) Sebagai Salah Satu Indikator Untuk Menentukankualitas Perairan. *Oseana* 30 (3).21-26.

Sudarmaji, Mukono J., Corie I.P. 2006. Toksikologi Logam Berat B3 Dan Dampaknya Terhadap Kesehatan. *Jurnal Kesehatan Lingkungan*. 2(2): 129-142.

Supriyanto C., Samin., Kamal Z., 2007. Analisis Cemaran Logam Berat Pb, Cu, dan Cd pada Ikan Air Tawar Degan Metode Spektrofotometri Nyala serapan atom (SSA). *Prosiding Seminar Nasional III SDM Teknologi Nuklir*. Yogyakarta. p: 147-152.

Suwignyo S, Widigdo B, Wardiatno Y, Krisanti M. 1998. *Avertebrata Air untuk Mahasiswa Perikanan*. Jilid 2. Bogor: Fakultas perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.

Tripod. 2010. Mollusca. <http://mollusca-din.tripod.com/klasifikasi.html>.

Wijarni, 1990. *Avertebrata Air II*. Diktat Kuliah. LUW/ UNIBRAW/ FISH. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang.

Wikipedia. 2010a. Logam. <http://id.wikipedia.org/wiki/Logam>.

Wikipedia.2010b. biofilter.<http://en.wikipedia.org/wiki/Biofilter>.

Yorulmazlar E., Gul A. 2003. Investigation of acute toxicity of cadmium sulfate (CdSO₄ _H₂O) and behavioral changes of grass carp (Ctenopharyngodon idellus Val., 1844). *Chemosphere* 53: 1005–1010.