

**METALLOTHIONEIN PADA HATI IKAN SEBAGAI BIOMARKER
PENCEMARAN KADMIUM (Cd) DI PERAIRAN KALIGARANG SEMARANG**
*(Metallothionein in The Fish Liver as Biomarker of Cadmium (Cd) Pollution
in Kaligarang River Semarang)*

Nur Kusuma Dewi^{1,*}, Purwanto² dan Henna Rya Sunoko³

¹ Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Negeri Semarang Gedung D6
Jl. Raya Sekaran Gunungpati Semarang.

² Jurusan Teknik Kimia Universitas Diponegoro, Kampus UNDIP
Jl. Prof Sudharto Semarang.

³ Program Doktor Ilmu Lingkungan Program Pascasarjana Universitas Diponegoro
Jl. Imam Bardjo, SH No.5 Semarang.

*Penulis korespondensi. Telp : 081325749639. Email: noorkusumadewi@yahoo.co.id.

Diterima: 10 Mei 2014

Disetujui: 27 Oktober 2014

Abstrak

Penanda dini pencemaran kadmium di sungai Kaligarang perlu diketahui sebagai alat monitoring pencemaran logam berat, mengingat sungai Kaligarang digunakan untuk memenuhi kebutuhan air minum bagi masyarakat kota Semarang. Ikan yang hidup di Kaligarang diambil sampelnya secara random. Sampel diambil hatinya, untuk diperiksa ada tidaknya metallothionein pengikat Cd, menggunakan HPLC. Sebagai kontrol diambil sampel ikan secara random, dari perairan yang tidak tercemar yakni dari Balai Benih Ikan Air Tawar. Sampel dianalisis sama seperti sampel ikan dari sungai Kaligarang. Hasil analisis HPLC sampel dari Kaligarang dibandingkan dengan sampel ikan dari Balai Benih Ikan untuk menentukan ada tidaknya metallothionein pengikat Cd. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada hati ikan yang hidup di Kaligarang didapatkan metallothionein-Cd, sedangkan ikan yang hidup di Balai Benih Air Tawar tidak ditemukan metallothionein-Cd. Hal ini menunjukkan bahwa ikan dari balai Benih tidak mengakumulasi Cd, sedang ikan dari Kaligarang mengakumulasi Cd. Hasil penelitian ini diperkuat oleh hasil AAS sampel air sungai Kaligarang mengandung Cd dan sampel air Balai Benih ikan tidak mengandung Cd. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa metallothionein-Cd merupakan Biomarker pencemaran Cd di Kaligarang. Biomarker metallothionein yang ditemukan dapat digunakan sebagai alat deteksi dini dalam monitoring pencemaran Cd di perairan.

Kata Kunci : alat monitoring biomarker, ikan, kadmium, logam berat, metallothionein, pencemaran, polutan.

Abstract

Early markers of cadmium pollution in the river Kaligarang need to know as heavy metal pollution monitoring tool, given the river Kaligarang used to meet the needs of drinking water for the city of Semarang. Fish lived in Kaligarang were collected randomly as sample. The liver of the fish were taken and examined for the presence of Cd-binding metallothionein, using HPLC. As the control, fish were collected randomly from unpolluted water, i.e. from Freshwater Fish Hatchery, Ungaran. These samples were analyzed using the same method with the samples taken from Kaligarang. HPLC result of Kaligarang samples was compared with HPLC result of unpolluted samples to determine the presence of Cd-binding metallothionein. The result is metallothionein-Cd was present in fish taken from Kaligarang, whereas fish from unpolluted waters did not contain metallothionein-Cd. This means that fish from Freshwater Fish Hatchery, Ungaran did not accumulated Cd, whereas fish from Kaligarang accumulated Cd. This was supported by the result from AAS; water samples from Kaligarang contained Cd and water samples from Freshwater Fish Hatchery, Ungaran did not contain Cd. It was concluded that the presence of Metallothionein-Cd may be considered as biomarker of Cd pollution in Kaligarang. Metallothionein biomarker found may be used as monitoring tool for Cd pollution in aquatic.

Keywords: biomarker, biomonitoring, cadmium, contamination, fish, heavy metal, metallothionein, pollutant.

PENDAHULUAN

Pembangunan berjalan cepat seiring dengan kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi, sehingga mengantarkan manusia mencapai kemajuan di berbagai bidang baik bidang industri, ekonomi, pendidikan, budaya, sosial dan lain sebagainya.

Kegiatan ini, selain memberikan manfaat, juga membawa resiko yang amat besar bagi manusia akibat dari salah penerapan maupun karena pembangunan tersebut tidak disertai pertimbangan-pertimbangan lingkungan baik jangka pendek, menengah dan jangka panjang. Pembangunan yang tidak berwawasan lingkungan akan membawa resiko

berupa kerusakan lingkungan, gangguan ekosistem, baik ekosistem darat, udara maupun perairan (Hadi, 2005; Soemarwoto, 2002; Miller, 2007).

Pencemaran di perairan antara lain disebabkan oleh logam berat dari unsur kadmium (Cd). Polutan ini berasal dari beberapa sumber antara lain sumber alami, pertambangan dan industri. Di berbagai industri, Cd dipakai sebagai komponen pelapis/pencampur logam, patri aluminium, pembuatan klise, amalgama dalam kedokteran gigi, pemrosesan foto berwarna, pewarna porselin, industri gelas, industri keramik, industri baja, sebagai foto konduktor, sebagai foto elektrik, sebagai bahan pencampur pigmen, sebagai campuran pupuk fosfat, sabun, tekstil, kertas, karet, tinta cetak, kembang api, anthelminthes bagi babi dan ayam, obat syphilis dan TBC (Wardhana, 2004; Kosnett, 2007; Watts 2004).

Lingkungan sekitar sungai Kaligarang, banyak digunakan untuk kegiatan industri antara lain pabrik keramik, tekstil, bahan kimia, galvanisasi, dan pabrik baja, yang kesemuanya berpotensi menghasilkan limbah kadmium. Industri-industri tersebut membuang limbahnya ke sungai Kaligarang, sehingga terjadilah kenaikan konsentrasi substansi logam berat Cd dibadan perairan, dan memungkinkan dapat tercapainya tingkat konsentrasi toksis bagi kehidupan akuatik; sehingga berpotensi sebagai polutan berbahaya (Anonim 2010; Choirudin dan Indrajid, 2007; Trimartuti, 2001). Oleh karena itu maka studi tentang biomarker/penanda biologis; sebagai respon biologis tingkat molekuler dari efek Cd terhadap kehidupan biota akuatik, khususnya ikan sebagai biondikator pencemaran lingkungan perairan perlu diadakan, sebagai upaya pengendalian pencemaran secara dini (Viarenggo dkk, 2007; Hanson, 2008).

Biomarker pada ikan dapat berfungsi sebagai alat yang berguna untuk mengevaluasi beban pencemaran di lingkungan perairan dan menerima sinyal peringatan dini yang berhubungan dengan ancaman lingkungan yang ditimbulkan. Biomarker didefinisikan sebagai pengukuran spesifik yang merefleksikan adanya interaksi biologis dengan agen lingkungan misalnya Cd. Biomarker juga biasa digunakan untuk analisis resiko di bidang kesehatan lingkungan. Kadmium (Cd) dapat menyebabkan gangguan pada biosintesis heme, karena adanya interaksi antara Cd dengan enzim-enzim yang terlibat dalam biosintesis tersebut. Penggunaan biomarker untuk monitoring lingkungan merupakan sebuah metode yang memanfaatkan analisis kimia. Biomarker adalah respon-respon yang diukur pada tingkat individu, yang berkisar dari pengukuran enzim dan metabolisme xenobiotik pada indek organ dan kondisi keseluruhan. Monitoring lingkungan perairan dengan biomarker

dapat dilakukan dengan berbagai kelompok organisme, tetapi yang paling umum adalah remis dan ikan (Viarenggo dkk, 2007, Hanson 2008, Tugiyono dkk, 2009, Filipic dkk, 2006). Ikan mas merupakan ikan standar internasional uji toksisitas, sedangkan ikan nila satu kelas dengan ikan mas, sehingga diduga enzim-enzim tertentu dari kedua jenis ikan tersebut dapat digunakan sebagai biomarker pencemaran logam berat Cd.

Dengan kajian biomarker; pencemaran dapat dikendalikan secara preventif, sehingga pencemaran yang terjadi di tingkat ekosistem dapat dicegah. Hal ini dikarenakan pada tingkat seluler sudah ada sinyal peringatan dini terjadinya pencemaran. Dengan demikian pencemaran sudah bisa ditanggulangi sejak tingkat sub seluler, sehingga tidak menimbulkan pencemaran pada tingkat ekosistem seperti yang terjadi saat ini. Biomarker merupakan respon dini tingkat molekuler, reaksi awal sebelum respon terjadi pada tingkatan organisasi (spektrum) biologi yang lebih tinggi (Wardhana, 2004; Hanson, 2008). Penemuan biomarker sebagai alat detektor pencemaran dini, diharapkan dapat menjadi sumbangan bioteknologi bagi pemerintah dalam menentukan kebijakan pengelolaan dan pengendalian pencemaran perairan.

Kajian tentang biomarker pada ikan, dapat digunakan sebagai biomonitoring pencemaran tingkat dini, dan diharapkan dapat dijadikan sebagai sumber informasi yang bermanfaat bagi sumbangan ilmu pengetahuan apabila akan mengkaji efek toksik Cd tingkat molekuler (Viarenggo dkk, 2007). Biomarker yang ditemukan/muncul diharapkan dapat dijadikan alat deteksi pencemaran dini yang dapat diaplikasikan dilapangan untuk mendeteksi secara dini adanya pencemaran Cd pada ikan maupun di perairan; sebagai upaya pengendalian pencemaran secara preventif. Teknologi ini diharapkan menjadi masukan bagi pemerintah terkait sebagai salah satu alternatif model monitoring lingkungan perairan. Berdasar pada hal-hal tersebut maka makalah ini akan membahas tentang *metallothionein-Cd* pada hati ikan yang hidup di perairan sungai Kaligarang yang tercemar logam berat Cd sebagai biomarker pencemaran Cd di air sungai tersebut.

METODE PENELITIAN

Metode yang digunakan dalam penelitian adalah eksplorasi. Ikan yang hidup di Kaligarang (Gambar 1) diambil sampelnya dengan teknik *Random Sampling*, untuk diperiksa keberadaan *metallothionein* pengikat Cd, menggunakan alat *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Sebagai kontrol diambil sampel ikan secara



Gambar 1. Denah lokasi pengambilan sampel.

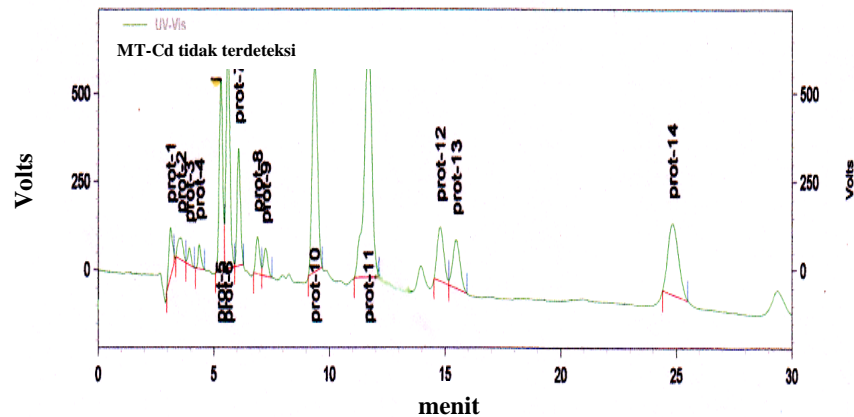
acak, dari perairan yang tidak tercemar yakni dari Balai Benih Ikan Air Tawar di Ungaran. Sampel dianalisis sama seperti sampel ikan dari sungai kaligarang. Hasil analisis HPLC sampel dari Kaligarang dibandingkan dengan sampel ikan dari Balai Benih Ikan untuk menentukan kandungan *metallothionein* pengikat Cd.

Isolasi *metallothionein* dilakukan dengan cara sampel hati atau daging dari ikan sebanyak 5 gram didinginkan pada suhu 4 °C selanjutnya dipotong-

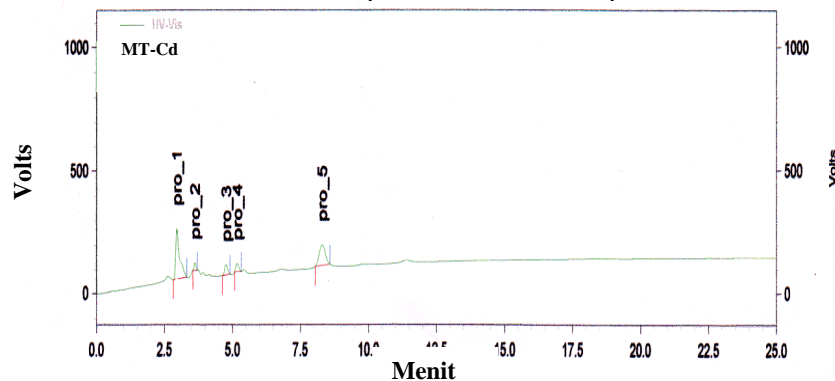
potong dan dihomogenkan dengan Tris HCl pH 8,1 dengan perbandingan 2 : 1 (10 mL Tris HCl : 5 g sampel) menggunakan mortar. Sampel kemudian disentrifuse (fungsinya untuk memisahkan *debris* dan enzim *metallothioneinnya*) dengan kecepatan 10000 gravity selama 30 menit pada suhu 4 °C. Supernatan diambil kemudian disentrifuse dengan kecepatan 110000 gravity selama 60 menit pada suhu 4 °C, diperoleh hasil isolasi yang diduga mengandung *metallothionein*. Hasil isolasi dari sampel hati ikan kemudian dianalisis dengan HPLC, untuk melihat kandungan *metallothionein* pengikat Cd. Apabila pada inject sampel puncak yang muncul berada pada waktu retensi 3,1-3,152 (injek larutan Cd standar), berarti pada sampel yang di inject tersebut terdapat *metallothionein*-Cd. Kalau peak yang muncul di luar area tersebut berarti sampel mengandung *metallothionein* pengikat logam berat yang lain, selain Cd.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan analisis HPLC terhadap *metallothionein* pada hati ikan nila diperoleh hasil seperti pada Gambar 2. Dari Gambar 2 ditunjukkan bahwa pada hati ikan nila ditemukan *metallothionein* pengikat Cd. Hal tersebut didasarkan pada literatur/ metode standar, apabila



Gambar 2. Hasil analisis HPLC terhadap *metallothionein*-Cd pada hati ikan nila Kaligarang.



Gambar 3. Hasil analisis HPLC *metallothionein* pada hati ikan nila dari Balai Benih Ikan Ungaran.

hasil analisis HPLC muncul puncak dari injek sampel dengan nilai waktu retensi (*retention time* / RT) sama dengan nilai RT injek larutan Cd standar atau berada dalam rentang nilai RT injek larutan Cd standar, berarti sampel mengandung *metallothionein-Cd*. Pada Gambar 2, puncak muncul pada RT 3,143 untuk injek sampel. Injek larutan Cd standar memberikan puncak pada RT 3,1 – 3,152. Hal ini menunjukkan bahwa RT sampel berada dalam rentang nilai RT larutan Cd standar, sehingga dengan demikian berarti pada sampel ada *Metallothionein-Cd* (MT-Cd). Keberadaan MT-Cd menunjukkan bahwa pada hati ikan nila yang berasal dari sungai Kaligarang tersebut mengandung *metallothionein-Cd*.

Adapun sampel yang diambil dari Balai Benih Ikan Air Tawar Ungaran puncak *metallothionein-Cd* tidak muncul; dengan demikian hati ikan nila tidak mengandung *metallothionein-Cd* (Gambar 3). Kenyataan tersebut menunjukkan bahwa *metallothionein-Cd* merupakan biomarker / penanda biologis pencemaran logam berat Cd. Ikan yang hidupnya di sungai Kaligarang mengandung *metallothionein-Cd*, karena air Kaligarang tercemar/mengandung Cd, sedangkan air pada Balai Benih Ikan tidak mengandung Cd. Data dari analisis AAS juga menunjukkan air sungai Kaligarang mengandung Cd sebesar 0,006 ppm sedangkan air dari Balai Benih Ikan kadar Cd di air 0 ppm. Dengan demikian *metallothionein-Cd* hanya muncul pada ikan yang hidup di perairan yang tercemar kadmium (Cd). Dengan demikian *metallothionein-Cd* berfungsi sebagai biomarker pencemaran Cd, sehingga dapat digunakan sebagai alat untuk monitoring lingkungan perairan yang tercemar Cd.

Penemuan ini merupakan respon dini tingkat molekuler terhadap kualitas lingkungan, sehingga dapat digunakan sebagai alat deteksi dini tingkat biomolekuler terhadap pencemaran logam berat Cd di perairan. Sebagaimana dikatakan oleh Bebianno dkk. (2003), bahwa *metallothionein* dapat digunakan sebagai biomarker pencemaran karena kepekaan dan keakuratannya. Hal ini didasarkan pada suatu fenomena alam di mana logam-logam dapat tersekap di dalam jaringan tubuh organisme yang dimungkinkan karena adanya protein tersebut. *Metallothionein* merupakan 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).

Respon dini pada tingkat molekuler terhadap kualitas lingkungan, sudah saatnya dipakai untuk monitoring lingkungan, sehingga secara dini pencemaran lingkungan dapat dicegah/dimonitor. Langkah preventif dalam upaya pengendalian pencemaran jauh lebih baik dari pada secara kuratif. Sebagaimana pendapat Hanson (2008) dan Tugiyono dkk (2011) bahwa salah satu kunci fungsi dari biomarker adalah sebagai tanda peringatan dini dari pengaruh xenobiotik secara biologis. Respon dini tingkat molekuler terhadap kualitas lingkungan memberikan peluang untuk melakukan langkah preventif sebagai upaya pencegahan akan pencemaran lingkungan.

Kualitas lingkungan perairan dapat diketahui berdasarkan perubahan dalam sistem atau parameter biologi yang terpilih, pendekatan ini dikenal dengan istilah biomonitoring. Biomonitoring adalah cabang dari monitoring lingkungan yang mengacu pada penggunaan organisme hidup, yang digunakan sebagai pendugaan residu bahan pencemar dalam jaringan organisme sampai pendugaan akhir pengaruh biologi spesifik. Bentuk atau tipe biomonitoring dapat dikembangkan berdasarkan perubahan karakteristik secara biokimia, fisiologi, morfologi atau tingkah laku organisme, disamping berdasarkan cara konvensional seperti struktur komunitas yang meliputi kelimpahan dan indeks keanekaragaman (Viarengo dkk, 2007; Wardhana 2004).

Penelitian Sanusi (2002) menunjukkan bahwa akumulasi Cd pada hati dan ginjal ikan lebih besar dari pada yang terakumulasi pada ototnya. Hal ini diduga disebabkan oleh pengaruh sejenis *metallothionein* yang dijumpai lebih besar terdapat pada hati dan ginjal dari pada ototnya. Menurut Soemirat (2005), Plaa (2007) dan Klaassen (2001) efek racun di dalam tubuh suatu jenis organisme oleh pengaruh suatu zat tergantung pada jumlah adanya zat tersebut pada bagian yang rentan di dalam tubuh. Dikatakan pula bahwa logam berat dapat terakumulasi dalam jaringan tubuh ikan terutama pada insang, hati dan ginjal, daging atau otot serta tulang. *Metallothionein* bersifat spesifik, *metallothionein* pengikat Cd, berbeda dengan *metallothionein* pengikat Hg, berbeda pula dengan *metallothionein* pengikat Pb, Zn, ataupun logam berat yang lain.

Metallothionein selain bersifat spesifik, juga bersifat sensitif sebagai biomarker. Fakta paparan logam berat Cd, Pb dan Hg yang kadarnya masih di bawah nilai baku mutu sudah dapat menginduksi

sintesis *metallothionein* dalam jaringan hati sehingga muncul *metallothionein*. *Metallothionein* yang terbentuk berfungsi sebagai detoksifikasi terhadap logam berat. Dengan kata lain 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. Akibatnya tidak terjadi akumulasi logam pada tubuh yang berpotensi melebihi ambang batas.

Metallothionein merupakan biomarker yang bersifat universal. *Metallothionein* tidak hanya dapat digunakan sebagai biomarker pada penelitian skala laboratorium, tetapi juga dapat digunakan di perairan bebas seperti laut, danau, teluk maupun sungai. Disamping itu dapat digunakan untuk deteksi logam berat yang terakumulasi pada organ tubuh ikan maupun yang terpapar di perairan.

Metallothionein juga merupakan biomarker (penanda biologis) untuk peringatan dini (*early warning*) terhadap paparan logam berat (Cd, Pb dan Hg) sejak tingkat sub seluler, reaksi awal sebelum respon terjadi pada tingkatan organisasi (spektrum) biologi yang lebih tinggi. Dengan demikian terjadinya pencemaran di tingkat sub seluler sudah dapat diketahui, sehingga pencemaran di tingkat ekosistem dapat dicegah atau tidak akan terjadi.

Withgott dan Brennan (2007), Wardhana (2004) serta Conell (2005) mengatakan bahwa proses perpindahan langsung suatu senyawa *toksik* dari air ke makhluk hidup disebut sebagai *biokonsentrasi*. Dengan demikian perpindahan *toksikan* dari air ke biota air tingkat tropik rendah, dari air ke biota air tingkat tropik lebih tinggi dan dari air menuju ke pemakan-pemakan penyaring di dalam lingkungan perairan digambarkan sebagai *biokonsentrasi* sedangkan perpindahan suatu senyawa toksik melalui rantai makanan ke suatu makhluk hidup disebut *biomagnifikasi*. Dengan demikian perpindahan senyawa toksik dari biota air tingkat tropik rendah ke biota air tingkat tropik lebih tinggi dalam lingkungan perairan dapat digambarkan sebagai *biomagnifikasi* (Plaa, 2007; Klaassen, 2001). Suatu zat yang mempunyai waktu paruh biologik yang sangat panjang diberikan pada organisme dalam jangka waktu lama (secara kronis), pada kadar subletalnya akan mengakibatkan terjadinya akumulasi/biokonsentrasi pada organisme tersebut (Katzung, 2007; Kosneet, 2007; Sumirat, 2005). Dikatakan pula bahwa kadmium (Cd) mempunyai waktu paruh biologik yang sangat panjang pada manusia yakni 10 – 30 tahun.

Biokonsentrasi logam berat kadmium, dapat ditemukan pada makhluk hidup seperti ganggang,

krustacea, moluska dan vertebrata, dan dengan terjadinya *biomagnifikasi* mengakibatkan biokonsentrasi Cd pada ikan paling besar. Apabila peningkatan akumulasi pada setiap mata rantai makanan 15 kali, maka akumulasi yang terdapat pada tubuh ikan merupakan proses penggandaan secara biologik (Sunu, 2001; Wardhana 2004).

Ikan menempati posisi puncak dalam piramida makanan. Pada ekosistem perairan ikan bertindak sebagai *herbivor* dan *karnivor* pada tingkat tropik yang berbeda dalam piramida makanan. Pada piramida makanan ini tingkat dasar ditempati kelompok tumbuhan hijau antara lain *algae*, *flagellata* dan bakteri *fotosintetis*, pada bagian tengah ditempati *herbivor* lain yaitu kelompok moluska, larva insekta dan ikan. Akhirnya tingkat tropik bagian atas diduduki oleh *karnivora* terutama ikan (Miller, 2007; Argawala 2006)

KESIMPULAN

Metallothionein-Cd ditemukan pada hati ikan yang hidup di Kaligarang, sedangkan pada ikan yang hidup di Balai Benih Ikan Air Tawar tidak ditemukan *metallothionein-Cd*. Hal ini terjadi karena ikan dari Balai Benih Ikan tidak mengakumulasi Cd, sedang ikan dari Kaligarang mengakumulasi Cd. Hasil penelitian ini diperkuat oleh hasil AAS pada air sungai Kaligarang mengandung Cd dan air Balai Benih Ikan tidak mengandung Cd. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa kemunculan *metallothionein-Cd* merupakan penanda biologis (biomarker) pencemaran logam berat kadmium (Cd) di perairan, meskipun konsentrasi Cd di air masih di bawah baku mutu (perairan masih mengalami kontaminasi). Penelitian menggunakan media Kaligarang hanyalah sebuah contoh; yang hasilnya dapat diterapkan pada perairan yang lain (perairan estuari ataupun lautan, dengan menggunakan ikan yang hidup pada masing-masing habitat tersebut). Hal ini mengingat biomarker *metallothionein* bersifat *spesifik, sensitif, early warning dan universal*. Sifat universal memungkinkan *metallothionein* digunakan sebagai biomarker pencemaran logam berat di air tawar, air payau maupun air laut.

Biomarker/penanda biologis yang ditemukan diharapkan dapat dijadikan alat deteksi pencemaran dini yang dapat diaplikasikan dilapangan untuk mendeteksi secara dini adanya pencemaran Cd pada ikan maupun di perairan; sebagai upaya pengendalian pencemaran secara preventif. Teknologi ini diharapkan menjadi masukan bagi pemerintah terkait sebagai salah satu alternatif model monitoring lingkungan perairan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Direktur DP2M Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan Nasional, yang telah memberikan bantuan dana penelitian hibah Disertasi Doktor dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Penugasan Penelitian Disertasi Doktor Nomor: 488/SP2H/PP/DP2M/VI/2010 Tanggal 11 Juni 2010, sehingga sebagian data penelitian tersebut dapat digunakan untuk menyusun artikel di jurnal ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2010. *Layakkah Kaligarang Jadi Sumber Air Minum : Mengandung E-coli dan Logam Berat*. BLH Jateng, Semarang.
- Argawala, S.P., 2006. *Environmental Studies*. Narosa Publishing House, New Delhi.
- 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.
- Choirudin dan Indrajid, 2007. *Eceng Gondok Penyerap Logam Berat Cd di Sungai Kaligarang Semarang*. Majalah Tempo Edisi 19/XXXIII/02-8 Juli 2007.
- Connell, D.W. 2005. *Bioakumulasi Senyawa Xenobiotic*. UI Press, Jakarta. Hal 5-75, 146-211.
- Filipic, M., Fathur, T., dan Vuldrag, M., 2006. Molecular Mechanisms of Cadmium Induced Mutagenicity. *J. Human & Exp. Toxicol.* 25(2): 67-77.
- Hadi, S.P., 2005. *Dimensi Lingkungan Perencanaan Pembangunan*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- 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.
- Katzung, B.G., 2007. *Basic & Clinical Pharmacology*. 10th Ed, Mc Graw Hill, New York. p. 1-10.
- Klaassen, C.D., 2001. *Csarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons*. 6th Ed. Mc. Graw Hill, New York.
- Kosnett M.J. 2007. *Heavy Metal Intoxication & Chelator*, In Katzung B.G. (ed): *Basic & Clinical Pharmacology*, 10th Ed, Mc Graw Hill. Boston. p. 970-981.
- Miller, T.G., Jr. 2007. *Living in The Environment : Principle, Connection and Solutions*. Thompson Brooks/Cole. Singapore.
- Plaa, G.L., 2007. *Introduction to Toxicology: Occupational & Environmental*. In Katzung B.G. (ed): *Basic & Clinical Pharmacology*, 10th Ed, Mc. Graw Hill, New Yorks. p. 958-970.
- Sanusi, H.S., 2002. *Akumulasi Logam Berat Hg dan Cd pada Tubuh Ikan Bandeng (Chanos chanos Forskal)* Tesis. Fakultas Pasca Sarjana IPB. Bogor.
- Soemarwoto, O., 2002. *Ekologi Lingkungan Hidup dan Pembangunan*. Jambatan, Bandung. p. 145-148.
- Soemirat, J., 2005. *Toksikologi Lingkungan*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Sunu, P. 2001. *Melindungi Lingkungan dengan Menerapkan ISO 14001*. P.T. Gramedia Widia Sarana Indonesia. Jakarta.
- Trimartuti, N.K. 2001. *Bioakumulasi Logam Berat Cd Pada Ikan Lunjar (Rasbora argyrotaenia), Wader (Barbodes balleroides) dan Nilem (Osteochillus hasseltii) di Kaligarang Semarang*, Thesis ,Gadjah Mada University, Yogyakarta.
- Tugiyono, Nurcahyani, N., Supriyanto, R., dan Kurniati, M., 2009. Biomonitoring Pengolahan Air Limbah Pabrik Gula PT Gunung Madu Plantation Lampung Dengan Analisis Biomarker: Indeks Fisiologi Dan Perubahan Histologi Hati Ikan Nila (*Oreochromis niloticus* Linn) *J.Sains MIPA*, 15:42-50.
- Tugiyono, Nurcahyani, N., Supriyanto, R., dan Hadi, S., 2011. Biomonitoring of effects Following Exposure of Fish to Sugar Refinery Effluent. *J. Modern Applied Science*, 5:39-44.
- Viarengo, A., Lowe, D., Bolognesi, C., Fabbri, E., dan Koehler, A., 2007. The Use of Biomarkers in Biomonitoring : A 2-tier Approach Assessing The Level of Pollutant-Induced Stress Syndrome in Sentinel Organisms. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, 146(3):281-300.
- Wardhana, W.A., 2004. *Dampak Pencemaran Lingkungan*. Penerbit Andi, Yogyakarta.
- Watts, R.J., 1998. *Hazardous Wastest: Surces, Pathways, Receptors*. John Wiley and Sons.Inc. New York.
- Withgott, J., dan Brennan, S., 2007. *Environment : The Science Behind the Stories*. Pearson Benjamin Cummings. San Fransisco.