

Perubahan Genetik pada Kerang Sipetang (*Pharella acutidens*) yang Dipengaruhi oleh Logam Pb dan Cd di Perairan Selat Rupa

Genetic Change of *Pharella acutidens* Influenced by Pb and Cd Metals in Rupa Strait Waters

Tri Vani Bernadetha Ginting*¹, Syafruddin Nasution¹, Irwan Effendi¹

¹Jurusan Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan Kelautan, Universitas Riau
Kampus Bina Widya KM. 12,5, Simpang Baru, Kec. Tampan, Kota Pekanbaru, Riau 28293

*Correspondent Author: tri.vani3425@student.unri.ac.id

ABSTRACT

Rupa Strait related to the Strait of Malacca is a national and international shipping lane and makes the region affected by anthropogenic activities that result in a decrease in the quality of the waters such as the increasing amount of heavy metal content. The most easily contaminated organism of heavy metals is bivalves due to and its low mobility, bivalves being filter feeders, and the ability to accumulate contaminants. The purpose of this study was to look at genetic changes in bivalves (*P. acutidens*) contaminated by heavy metals. The study was conducted from February to March 2021. Bivalve sample was collected from the waters of Rupa Strait and sample analysis was conducted in the Marine Biology Laboratory and Genetics Laboratory of Riau University. Bivalve DNA is isolated with Geneaid Tissue Genomic DNA Mini Kit. DNA isolation results were then carried out PCR process and sequencing process was carried out in PT. Genetika Science Indonesia. The results of study show that sequencing results obtained by samples derived from Selinsing have the most changes in the composition of nitrogen bases compared to samples from the other two stations.

Keywords: Heavy Metals, Bivalve, Genetic Changes, Rupa Strait.

ABSTRAK

Selat Rupa yang terkait dengan Selat Malaka merupakan jalur pelayaran nasional dan internasional dan menjadikan wilayah tersebut terkena dampak aktivitas antropogenik yang mengakibatkan penurunan kualitas perairan seperti meningkatnya jumlah kandungan logam berat. Organisme yang paling mudah terkontaminasi logam berat adalah kerang karena mobilitasnya yang rendah, kerang sebagai penyaring, dan kemampuannya mengakumulasi kontaminan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk melihat perubahan genetik pada kerang (*P. acutidens*) yang terkontaminasi logam berat. Penelitian dilakukan pada bulan Februari sampai Maret 2021. Sampel bivalvia diambil dari perairan Selat Rupa dan analisis sampel dilakukan di Laboratorium Biologi Kelautan dan Laboratorium Genetika Universitas Riau. DNA bivalvia diisolasi dengan Geneaid Tissue Genomic DNA Mini Kit. Hasil isolasi DNA kemudian dilakukan proses PCR dan proses sekuensing dilakukan di PT. Ilmu Genetika Indonesia. Hasil penelitian menunjukkan bahwa hasil sekuensing yang diperoleh sampel yang berasal dari Selinsing memiliki perubahan komposisi basa nitrogen paling banyak dibandingkan sampel dari dua stasiun lainnya.

Kata kunci: Logam Berat, Bivalvia, Perubahan Genetik, Selat Rupa

PENDAHULUAN

Selat Rupat merupakan selat kecil yang berhubungan dengan Selat Malaka dan merupakan jalur pelayaran nasional maupun internasional. Perairan Selat Rupat menjadi salah satu kawasan yang sangat terpengaruh dengan adanya aktivitas antropogenik seperti aktivitas pemukiman, kegiatan industri, dan aktivitas pelabuhan yang mengakibatkan terjadinya penurunan kualitas perairan seperti meningkatnya jumlah kandungan logam berat (Siregar dan Edward, 2010).

Timbal (Pb) dan Kadmium (Cd) merupakan logam berat yang sangat beracun dan bersifat kronis. Limbah rumah tangga, pertambangan, industri, pertanian, dan deposisi dari atmosfer ke laut dapat meningkatkan konsentrasi logam Cd di air dan sedimen (Costa *et al.*, 2012). Masuknya Pb ke perairan Dumai salah satunya disebabkan oleh limbah dari kapal yang melintas dan berlabuh di perairan Dumai dimana diketahui bahwa pada umumnya bahan bakar minyak mendapat zat tambahan *tetraetyl* yang mengandung Pb untuk meningkatkan mutu (Rochyatun *et al.*, 2010). Selain dari limbah kapal, Pb juga dapat masuk ke perairan melalui limbah industri dan limbah rumah tangga karena Pb banyak digunakan sebagai bahan baku dalam industri. Masuknya logam berat ke dalam tubuh organisme perairan dengan tiga cara, yaitu melalui makanan, insang, dan, difusi melalui permukaan kulit (Sahetapy, 2011).

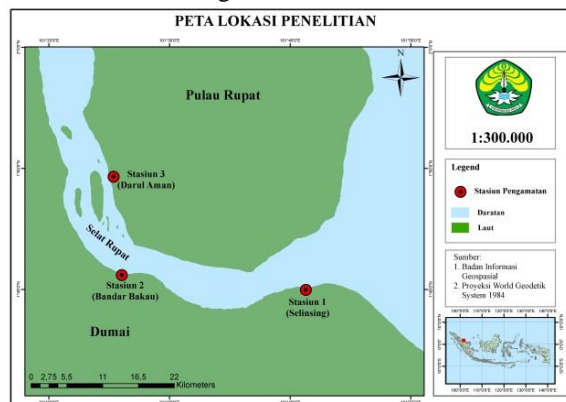
Bivalvia merupakan biota yang populer digunakan untuk mendeteksi pencemaran lingkungan. Hal ini disebabkan karena hidupnya yang berasosiasi dengan sedimen, kebiasaan makannya sebagai *filter feeder*, yaitu dapat menyaring semua material yang ada di perairan dan kemampuannya mengakumulasi bahan pencemar (D'costa *et al.*, 2018). Bivalvia yang hidupnya cenderung menetap, memiliki respons yang lambat terhadap polusi dan pencemaran logam berat sehingga dapat dijadikan indikator pencemaran lingkungan. Akumulasi Pb pada kerang dapat menimbulkan gangguan pada beberapa faktor genetik, pola pemijahan, tingkah laku, kemampuan untuk berorientasi, menghindar dari musuh, migrasi, dan persaingan menurun (Sari *et al.*, 2014).

Salah satu langkah yang dilakukan untuk melihat perubahan genetik yang disebabkan oleh logam Pb dan Cd pada kerang sipetang di perairan Selat Rupat adalah dengan melakukan penelitian untuk menguji kadar kandungan logam Pb dan Cd pada sipetang dari Selat Rupat kemudian melihat sejauh apa perubahan pada genetik sipetang yang disebabkan logam Pb dan Cd dengan cara mengisolasi DNA kerang.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari 2021. Lokasi pengambilan sampel berada di perairan Selat Rupat yang terdiri dari tiga stasiun, yaitu Selinsing, bandar Bakau, dan Darul Aman. Analisis sampel dilakukan di Laboratorium Biologi Laut Jurusan Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Kelautan dan Laboratorium Genetika Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau.



Gambar 1. Lokasi Penelitian

Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian adalah metode survei, yaitu dengan mengumpulkan data kualitas air dan sampel sipetang dari lapangan.

Penentuan Lokasi Titik Sampling

Perairan selat Rupat dijadikan sebagai wilayah untuk penelitian dan yang berkaitan dengan objek penelitian

terdiri atas 3 (tiga) stasiun penelitian, yaitu Selinsing di Kota Dumai, Bandar Bakau di Kota Dumai, dan Darul Aman di Kecamatan Rupat. Hal ini ditentukan berdasarkan ketiga stasiun penelitian merupakan kawasan yang diduga mengalami pencemaran logam berat seperti kawasan pabrik, tempat kapal berlabuh, dan areal pemukiman.

Parameter Kualitas Perairan

Parameter lingkungan diukur secara *in situ*. Parameter lingkungan perairan yang diukur adalah suhu, salinitas, kecerahan, pH, dan DO (*dissolved oxygen*). Waktu pengamatan dilakukan sesuai kondisi alam di lapangan pada saat pengambilan data parameter kualitas air di masing-masing stasiun.

Analisis Logam Pb dan Cd

Analisis kandungan logam Pb dan Cd dilakukan dengan mengeringkan sampel uji dengan oven. Kemudian 1 g sampel dihancurkan menggunakan mortar, lalu ditambahkan 5 mL HNO₃ dan 0,5 mL HClO₄ lalu di diamkan selama 24 jam. Kemudian sampel dipanaskan dalam *digestions* blok dengan suhu 100°C selama 1 jam, kemudian suhu ditingkatkan menjadi 150°C. Setelah uap kuning habis, suhu ditingkatkan lagi menjadi 200°C. Setelah asap putih keluar dan sisa ekstrak ± 0,5 mL. Tabung *digestions* diangkat dan dibiarkan hingga dingin. Kemudian ekstrak diencerkan dengan menggunakan akuades sebanyak 49,5 ml lalu *stirer* selama 5 menit hingga homogen. Sampel ekstrak daging kerang yang telah homogen diuji menggunakan *Absorption Spectrofotometer* (AAS) untuk mengetahui nilai logam berat Pb dan Cd. Perhitungan kandungan logam berat menurut (Yap *et al.*, 2002). Dilakukan dengan rumus sebagai berikut:

$$C = \frac{A \times V}{G}$$

Keterangan :

- C = Konsentrasi yang sebenarnya Idari sampel (µg/g)
- A = Nilai Konsentrasi (µg/g)
- V = Volume sampel (mL)
- G = Berat sampel (g)

Sequencing DNA

Proses isolasi dan purifikasi DNA sipetang dilakukan dengan menggunakan Kit isolasi dan purifikasi DNA *Dneasy Blood and Tissue Kit* dari Qiagen. Proses diawali dengan mengambil sampel otot kerang sebanyak 0,4 g, kemudian sampel dicuci dengan larutan 200 µl TE lalu divorteks dan dicentrifuge kemudian larutan yang tersisa dibuang dan proses pencucian dilakukan sebanyak 3 kali lalu sampel dikeringkan. Kemudian dilakukan disosiasi jaringan dengan menambahkan 200 µl *GT Buffer* dan 20 µl proteinase K kemudian sampel dimasukkan ke dalam *water bath* selama 30 menit pada suhu 60°C. Lisis dilakukan dengan menambahkan 200 µl *GBT Buffer* lalu diinkubasi di *water bath* selama 20 menit pada suhu 60°C. DNA *binding* dilakukan dengan menambahkan 200 µl etanol absolut. Proses pencucian dengan menambahkan 400 µl *W1 Buffer* dan 600 µl *Wash Buffer*. Proses elusi dilakukan dengan menambahkan 50 µl *elution buffer* dilakukan sebanyak 2 kali. Elektroforesis DNA total dilakukan dengan menyiapkan 1,2% gel agarose kemudian campuran 3 µl DNA dengan 1 µl *loading dye* dimasukkan ke dalam sumur diikuti dengan memasukkan *ladder* (merk *thermo scientific* dengan 1 kb). Elektroforesis dilakukan pada tegangan 50 volt selama 20 menit. Mengecek hasil PCR dengan elektroforesis dilakukan dengan memasukkan campuran 2 µl produk PCR dan 1 µl *loading dye* ke dalam sumur pada gel agarose.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Parameter Kualitas Perairan

Parameter kualitas perairan yang diukur dalam penelitian ini meliputi suhu, pH, salinitas, kecerahan, dan DO. Hasil pengukuran parameter kualitas perairan (Tabel 1).

Tabel 1. Parameter Kualitas Perairan Stasiun Penelitian

Stasiun	Suhu (°C)	pH	Salinitas (ppt)	Kecerahan (cm)	DO (ppm)
1	30	7	30	17,5	8
2	29	6,5	29	64	4
3	29	6	33	97,5	4

Kandungan Logam Pb dan Cd pada *Pharella acutidens*

Rata-rata kandungan logam Pb tertinggi terdapat pada stasiun 1 (71,0695 $\mu\text{g/g}$) sedangkan kandungan logam Pb terendah terdapat pada stasiun 3 (0,7819 $\mu\text{g/g}$). Kandungan logam Cd tertinggi pada kerang sipetang terdapat pada stasiun 1 (2,0165 $\mu\text{g/g}$) dan kandungan logam Cd terendah pada kerang sipetang terdapat pada stasiun 2 (0,9000 $\mu\text{g/g}$) (Tabel 2).

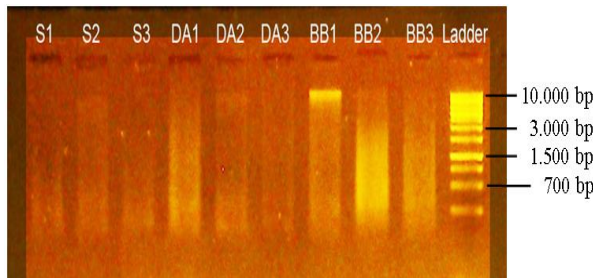
Tabel 2. Kandungan Logam Pb dan Cd pada Kerang Sipetang (*P. acutidens*)

Stasiun	Pengulangan	Kandungan Logam Pb ($\mu\text{g/g}$)	Rata-Rata Logam Pb	Kandungan Logam Cd ($\mu\text{g/g}$)	Rata-Rata Logam Cd
1	1	54,9340	71,0695 \pm 19,32075	1,5623	2,0165 \pm 0,386582
	2	60,0409		1,9801	
	3	98,2336		2,5072	
2	1	54,5000	69,3333 \pm 23,49586	0,9500	0,9000 \pm 0,593015
	2	51,0000		0,1500	
	3	102,5000		1,6000	
3	1	0,7333	0,7819 \pm 0,082423	0,1375	1,5651 \pm 1,563622
	2	0,8979		3,7414	
	3	0,7144		0,8165	

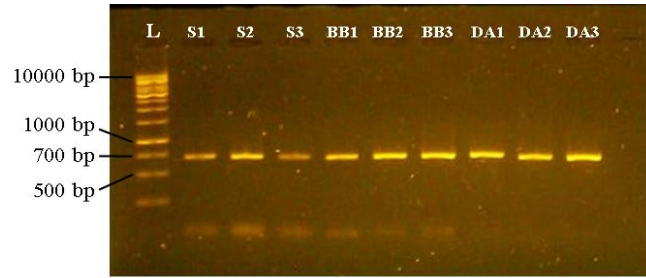
Tingginya kandungan logam Pb pada stasiun 1 ini salah satunya disebabkan oleh kapal yang berlalualang sehingga bahan bakar yang ikut terbuang bersama dengan air buangan kapal masuk ke dalam perairan dan meningkatkan konsentrasi Pb pada perairan sedangkan tingginya kandungan logam Cd pada stasiun 1 salah satu penyebabnya adalah jarak antara stasiun 1 yang dekat dengan perkebunan kelapa sawit. Sisa penggunaan pupuk posfat pada kebun sawit yang terbawa pada saat hujan ke perairan dapat meningkatkan konsentrasi Cd di perairan. Salah satu organisme yang paling terdampak oleh perairan yang tercemar logam berat adalah kerang dikarenakan bersifat *filter feeder* dan mobilitasnya rendah. Kerang memperoleh oksigen lewat air yang masuk ke dalam insang yang apabila mengandung logam berat berupa Pb, maka secara otomatis logam Pb tersebut dapat terakumulasi di dalam tubuh kerang (Apriyanti, 2018).

Sekuensing DNA

Setelah diisolasi, DNA kemudian dielektroforesis untuk mengetahui keberhasilan isolasi DNA yang telah dilakukan (Gambar 2). Setelah DNA berhasil diisolasi, kemudian dilanjutkan dengan amplifikasi PCR lalu dielektroforesis kembali menggunakan gel agarose (Gambar 3).



Gambar 2. Hasil Elektroforesis isolat DNA Sipetang



Gambar 3. Hasil Amplifikasi PCR sipetang menggunakan primer LCO-1490F dan HCO-2198R dan *ladder* ukuran 1 kb

Hasil elektroforesis isolasi DNA menunjukkan dari total 9 sampel hanya terdapat 2 sampel yang memiliki pita DNA yang jelas. Namun kesembilan pita DNA yang terisolasi. *Smear* dapat disebabkan oleh kontaminan seperti protein atau sisa larutan ketika isolasi atau dapat juga berupa DNA yang terdegradasi pada proses isolasi (Anam, 2010; Mulyani *et al.*, 2011). Pita DNA yang dihasilkan dari proses amplifikasi PCR termasuk baik karena tebal, tidak terdapat *smear*, dan konsentrasi tidak terlalu tinggi. DNA dengan konsentrasi lebih rendah akan meminimalisir kontaminan dan lebih mudah bagi primer spesifik untuk menempel pada situs penempelan primer (Nugraini *et al.*, 2016).

Hasil rekonstruksi pohon filogenetik dari sembilan sampel terbagi menjadi dua klad. Klad yang pertama terdiri dari enam sampel yang berasal dari Bandar Bakau dan Darul Aman, sedangkan klad kedua terdiri dari tiga sampel yang berasal dari Selinsing. Pengelompokan klad ini berdasarkan kemiripan sekuens nukleotida serta kemiripan pada beberapa karakter morfologi yang digunakan sebagai pendukung (Anafarida dan Badruzaufari, 2020). Hal ini menunjukkan bahwa sampel dari Selinsing memiliki kekerabatan yang jauh dengan sampel dari Bandar Bakau dan Darul Aman. Analisis metode *Neighbor Joining* menggunakan model Kimura-2 merekonstruksi

Species/Abbrv	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*														
1. Selinsing 1	C	T	A	C	T	T	A	C	T	G	A	T	C	G	T	C	A	C	T	T	A	A	C	A	C	T	T	T	T	T	G	A	T	C	T	A	G	A	G	G	T	G	G	T	G	G	T	G	A
2. Selinsing 2	C	T	A	C	T	T	A	C	T	G	A	T	C	G	T	C	A	C	T	T	A	A	C	A	C	T	T	T	T	T	G	A	T	C	T	A	G	A	G	G	T	G	G	T	G	G	T	G	A
3. Selinsing 3	C	T	A	C	T	T	A	C	T	G	A	T	C	G	T	C	A	C	T	T	A	A	C	A	C	T	T	T	T	T	G	A	T	C	T	A	G	A	G	G	T	G	G	T	G	G	T	G	A
4. Bandar Bakau 1	T	T	G	T	T	A	A	C	T	G	A	T	C	G	T	C	A	T	T	T	A	A	T	A	C	T	T	T	T	T	G	A	T	C	A	A	G	A	G	G	T	G	G	T	G	G	T	G	A
5. Bandar Bakau 2	T	T	G	T	T	A	A	C	T	G	A	T	C	G	T	C	A	T	T	T	A	A	T	A	C	T	T	T	T	T	G	A	T	C	A	A	G	A	G	G	T	G	G	T	G	G	T	G	A
6. Bandar Bakau 3	T	T	G	T	T	A	A	C	T	G	A	T	C	G	T	C	A	T	T	T	A	A	T	A	C	T	T	T	T	T	G	A	T	C	A	A	G	A	G	G	T	G	G	T	G	G	T	G	A
7. Darul Aman 1	T	T	G	T	T	A	A	C	T	G	A	T	C	G	T	C	A	T	T	T	A	A	T	A	C	T	T	T	T	T	G	A	T	C	A	A	G	A	G	G	T	G	G	T	G	G	T	G	A
8. Darul Aman 2	T	T	G	T	T	A	A	C	T	G	A	T	C	G	T	C	A	T	T	T	A	A	T	A	C	T	T	T	T	T	G	A	T	C	A	A	G	A	G	G	T	G	G	T	G	G	T	G	A
9. Darul Aman 3	T	T	G	T	T	A	A	C	T	G	A	T	C	G	T	C	A	T	T	T	A	A	T	A	C	T	T	T	T	T	G	A	T	C	A	A	G	A	G	G	T	G	G	T	G	G	T	G	A

Gambar 5. Penjajaran Hasil Sekuensing Sipetang pada Aplikasi MEGA X

SIMPULAN

Kandungan tertinggi logam Pb dan Cd pada daging kerang sipetang (*P. acutidens*) berada pada stasiun 1 dengan rata-rata kandungan Pb sebesar $71,0695 \pm 19,32075 \mu\text{g/g}$ dan rata-rata kandungan Cd sebesar $2,0165 \pm 0,386582 \mu\text{g/g}$. Penjajaran hasil sekuensing sembilan sampel kerang sipetang menggunakan aplikasi MEGA X menunjukkan perubahan susunan basa nitrogen paling banyak ditemukan pada sampel yang berasal dari Selinsing. Kandungan logam Pb dan Cd dari sampel yang telah dianalisis juga menunjukkan bahwa kandungan tertinggi logam Pb dan Cd terdapat pada kerang sipetang dari Selinsing. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan logam yang tinggi pada daging kerang dapat menyebabkan perubahan genetik pada kerang *P. acutidens* yang berasal dari perairan Selat Rupat.

DAFTAR PUSTAKA

Anafarida, A. dan Badruzaufari., 2020. Analisis filogenetik mangga (*Mangifera* spp.) berdasarkan gen 5,8S RRNA. ZIRAA'AH Majalah Ilmiah Pertanian 45(2): 120-126.

Anam, K., 2010. Isolasi DNA Genom. Bioteknologi Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.

Apriyanti, Eka., 2018. Analisis kandungan logam berat timbal Pb pada kerang *Polymesoda erosa* L di Perairan Tanjung Bunga Makassar. International Journal of Educational and Evirontmental Education, 3(2): 121-131.

Costa, M. F., Landing, W. M., Kehrig, H.A., Barletta, M., Holmes, C.D., Barrocas, P.R.G., Evers, D.C., Buck, D.G., Vasconcellos, A.C., Hacon, S.S., Moreira, J.C., Malm, O., 2012. Mercury in tropical and subtropical coastal environments. Environmental Research 119:88-100.

D'costa, A.H., Shyama, S.K., Praveen, K.M.K., Furtado, S., 2018. The backwater clam (*Meretrix casta*) as a bioindicator species for monitoring the pollution of an estuarine environment by genotoxic agents. Mutation Research Genetic Toxicology and Environmental 825(2): 8-14.

Mulyani, Y., Purwanto, A., Nurruhwati, I., 2011. Perbandingan beberapa metode isolasi DNA untuk deteksi dini koi herpes virus (KHV) pada ikan mas (*Cyprinus carpio* L.). Jurnal Akuatika 2(1): 1-15.

Nugraini, A.R., Bintari, S.H., Mustikaningtyas, D., 2016. Analisis proses pembuatan tempe melalui cara produksi higienis dan pendekatan molekuler. Life Science 5(1): 9-17.

Riani, E., 2012. Perubahan Iklim dan Kehidupan Akuatik (Dampak pada Bioakumulasi Bahan Berbahaya dan Beracun & Reproduksi. IPB Press. Bogor.

Rochyatun, E., Kaisupy, M.T., Rozak, A., 2010. Distribusi logam berat dalam air dan sedimen di Perairan Muara Sungai Cisadane. Makara Journal of Science 10(1): 35-40.

Safitri, S. S., E. Efendi., dan I. G. Yudha., 2018. Pencemaran Pb dan Cu pada kerang hijau di Pulau Pasaran, Lampung. Jurnal Pengelolaan Perairan 1(2): 10-18.

Sahetapy, J. M., 2011. Toksisitas Logam Berat Timbal (Pb) dan Pengaruhnya pada Konsumsi Oksigen dan Respon Hematologi Juvenil Ikan Kerapu Macan. Tesis. IPB. Bogor.

Sari, K. A., Riyadi, P.H., Anggo, A.D., 2014. Pengaruh lama perebusan dan konsentrasi larutan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap kadar Timbal (Pb) dan Kadmium (Cd) pada kerang darah (*Anadara granosa*). Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan 3(2): 1-10.

Septiadi, L., 2019. Analisis Filogenetik dan Estimasi Waktu Divergensi *Amolops* Cope, 1865 Senu Lato Paparan Sunda Secara Insilico. Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.

- Siregar, Y.I., Edward, J.,** 2010. Faktor konsentrasi Pb, Cd, Cu, Ni, Zn dalam sedimen Perairan Pesisir Kota Dumai. *Maspari Journal* 1:1-10.
- Varotto, L., Domeneghetti, S., Rosani, U., Manfrin, C., Pallavicini, A., Venier, P.,** 2013. DNA damage and transcriptional changes in the gills of *Mytilus galloprovincialis* exposed to nanomolar doses of combined metal salts (Cd, Cu, Hg). *PLoS ONE* 8 (1).
- Yap, C.K., Ismail, A., Tan, S.G., Omar, H.,** 2002. Concentrations of Cu and Pb in the offshore and intertidal sediments of the west coast of Peninsular Malaysia. *Environment international*, 28(6), 467-479.