

PENGGUNAAN BIOMARKER DALAM EVALUASI PENCEMARAN LINGKUNGAN

Oleh : Djohan

ABSTRACT



Biomarkers are the indicators of physiological, biochemical, or histological changes measured and or observed in the organisms giving responses to exposure of toxic chemicals in the environment. Biomarkers have been used and developed mainly for assessing the exposure of toxic chemicals on the organisms, and in some extent for assessing the effects of toxic chemicals on the organisms. The ultimate goal of the application of biomarkers is the determination of the status of organism health in situ. The environmental managers use these early indicators of stress of organisms in the environment as sources of information in making decisions concerning the protection of wildlife and aquatic organisms.

Pendahuluan

Organisme melakukan respon terhadap senyawa kimia atau bahan pencemar yang berada di lingkungannya. Respon dapat terjadi sebelum timbulnya suatu efek yang dapat diamati atau terobservasi dan respon tersebut merupakan perwujudan kondisi stress pada organisme akibat senyawa kimia atau bahan pencemar. Stress pada makhluk hidup dalam pengertian pencemaran lingkungan adalah suatu keadaan yang disebabkan oleh faktor lingkungan yang meningkatkan respon organisme melebihi kemampuan normal atau mengganggu fungsi normal sedemikian hingga menurunkan probabilitas untuk hidup secara signifikan (Mayer et al., 1993: 5-61).

Pengamatan kesehatan organisme di lingkungan pada tahap awal terjadinya respon stress diasumsikan lebih bermanfaat dibandingkan dengan pengamatan pada tahap akhir stress sebagaimana halnya pengamatan organisme yang telah mati. Dengan demikian dibutuhkan pengukuran pada organisme yang menunjukkan respon atau perubahan pada tahap awal kontak organisme dengan senyawa kimia pencemar di lingkungan.

Pengertian dan Manfaat Biomarker

Menurut asal katanya, biomarker berasal dari kata "bios" yang berarti makhluk hidup atau organisme dan kata "marker" yang berarti tanda atau identifikasi. Tanda yang dimaksud adalah tanda dari proses-proses atau struktur yang terdapat di dalam tubuh organisme. Dengan demikian bio-



marker dapat didefinisikan sebagai perubahan-perubahan proses fisiologi, reaksi biokimiawi, dan atau struktur komponen seluler dalam tubuh organisme (Kendall et al., 1995: 883-906). Perubahan-perubahan tersebut adalah sebagai respon organisme terhadap senyawa kimia yang beracun atau toksik (Suter, 1995: 311-364). Senyawa kimia toksik tersebut berasal dari lingkungan sekitar organisme yang masuk ke dalam tubuh organisme pada proses penyingkapan. Pengertian penyingkapan adalah kontak langsung antara senyawa kimia toksik dengan organisme. Perubahan-perubahan tersebut dapat bersifat terukur seperti pada proses fisiologi dan reaksi biokimiawi (Kendall et al., 1995: 883-906) atau dapat bersifat terobservasi seperti pada perubahan histologi (Di Giulio et al., 1995: 523-562). Materi atau spesimen yang digunakan untuk mengukur perubahan-perubahan tersebut adalah merupakan bagian organisme mulai dari biomolekul, organel, sel, jaringan, organ, cairan tubuh hingga organisme utuh (Suter, 1993: 311-364).

Ada tiga manfaat yang diperoleh dari pengukuran biomarker. Manfaat yang pertama adalah mengurangi penggunaan hewan dalam uji laboratorium terutama untuk mamalia. Pengukuran biomarker menggunakan cairan tubuh seperti darah dan urin yang diambil dari tubuh hewan tanpa mengakibatkan kematian pada hewan uji. Dalam jangka panjang, pengukuran biomarker diharapkan dapat berfungsi sebagai alternatif uji mortalitas, pertumbuhan dan reproduksi. Manfaat kedua dari pengukuran biomarker adalah dapat mengetahui kondisi stress pada organisme sejak awal. Hal ini berbeda dengan penentuan atau pengamatan mortalitas yang merupakan perwujudan akhir kondisi stress pada organisme (Adams, 1995: 25-46). Manfaat yang ketiga adalah sebagai pelengkap yaitu sebagai bukti klinis setelah diketahuinya atau terukurnya senyawa kimia toksik di lingkungan (Landis and Yu, 1995: 265-270). Bukti klinis tersebut diperoleh berdasarkan penelitian dengan menggunakan teknik biologi molekuler dan biokimia sebagaimana halnya yang digunakan dalam diagnostik klinis bidang kedokteran (Di Giulio et al., 1995: 523-562). Dalam kondisi tertentu, senyawa kimia toksik yang cepat terdegradasi di lingkungan dapat tidak terdeteksi sedangkan perubahan yang terjadi pada organisme atau biomarker masih tetap dapat diukur atau diamati (Suter, 1993: 311-364).

Perubahan Fisiologi, Biokimia, dan Histologi dalam Biomarker

Perubahan proses fisiologi yang umum diukur sebagai biomarker terdapat diri atas tiga macam yaitu fisiologi hormon, fisiologi metabolisme/energi dan fisiologi reproduksi. Contoh biomarker berdasarkan perubahan hormon adalah *arginine vasotocin* yang merupakan hormon yang berperan dalam proses osmoregulasi. Pengukuran kadar hormon ini pada kelenjar pituitari

pada ikan telah digunakan sebagai biomarker untuk hujan asam atau *acid rain* (Heath, 1995: 265-270). Contoh biomarker berdasarkan perubahan fisiologi metabolisme adalah pengukuran cadangan energi pada hewan yang hidup di dasar sedimen atau *benthos* yang dalam keadaan stress mengalami perubahan jenis cadangan energi dari lipid menjadi glikogen (Mayer *et al.*, 1993: 5-61). Contoh biomarker berdasarkan fisiologi reproduksi adalah data jumlah telur yang dihasilkan dari setiap induk dan data jumlah individu hidup yang dihasilkan dari setiap induk (Heath, 1995: 265-270).

Perubahan reaksi biokimiawi yang terukur dalam biomarker terdiri atas empat macam proses reaksi utama yang umumnya merupakan perubahan dari kadar enzim dan protein yang terdapat dalam darah. Yang pertama adalah reaksi penghambatan enzim oleh senyawa kimia toksik seperti penghambatan kolinesterase oleh pestisida organofosfat. Reaksi biokimia yang kedua adalah induksi enzim oleh senyawa kimia toksik. Contoh enzim yang terinduksi adalah *mixed-function oxidases (MFO)* yang berperan dalam detoksifikasi senyawa kimia toksik di dalam hati. Reaksi biokimia yang ketiga adalah induksi molekul protein yang berfungsi dalam proteksi enzim meskipun tidak berperan dalam detoksifikasi. Contoh untuk ini adalah induksi *stress protein*. Reaksi biokimia yang keempat adalah induksi molekul protein yang berperan dalam detoksifikasi seperti induksi *metallothionenin* oleh logam berat (Landis and Yu, 1995: 197-249).

Penggunaan biomarker berdasarkan perubahan histologi memiliki beberapa keunggulan dan kelemahan. Keunggulan pertama adalah bahwa perubahan histologi secara relatif tidak terpengaruh oleh faktor-faktor luar seperti stress akibat penangkapan dan musim. Keunggulan kedua adalah peneliti dapat melakukan observasi atau pengambilan sampel pada banyak tempat dengan relatif cepat. Keunggulan ketiga adalah bahwa perubahan histologi merupakan integrasi dari perubahan fisiologi dan biokimia. Sedangkan kelemahan biomarker berdasarkan perubahan histologi adalah memerlukan banyak tenaga kerja untuk pengambilan sampel, pembuatan preparat dan pengamatan (Hinton *et al.*, 1993: 155-210). Seleksi biomarker berdasarkan perubahan histopatologi yang dapat terobservasi adalah sesuai dengan asumsi empat tahap mekanisme induksi penyakit yaitu penyingkapan eksternal, adanya dosis internal senyawa kimia toksik yang bereaksi dengan reseptor, terjadinya perubahan reversibel atau ireversibel pada reseptor, dan terciptanya status atau kondisi penyakit yang dapat teramati (Kendall *et al.*, 1995: 163-184).

Contoh studi biomarker berdasarkan perubahan histologi adalah prevalensi tumor atau neoplasma hati ikan karena *poly aromatic hydrocarbons (PAH)*. Memperhatikan bahwa habitat ikan yang diteliti adalah pada dasar sedimen, prevalensi tersebut dapat memiliki hubungan kuat dengan

konsentrasi PAH dalam sedimen. Contoh lain adalah pengamatan ovarium ikan terhadap oosit atresi yang dapat digunakan sebagai biomarker efek senyawa kimia toksik terhadap sistem reproduksi (Heath, 1995: 265-270).

Dua Kelompok Biomarker: Biomarker Penyingkapan dan Biomarker Efek

Biomarker umumnya digolongkan dalam dua kelompok besar. Kelompok yang pertama yaitu biomarker penyingkapan (*biomarker of exposure*) yang merupakan perubahan fisiologi, biokimia atau histologi yang mengindikasikan bahwa senyawa kimia toksik dalam jumlah tertentu telah terdapat dalam tubuh organisme (Suter, 1993: 311-364). Biomarker penyingkapan ini umumnya digunakan untuk memprediksi dosis atau konsentrasi senyawa kimia toksik yang diterima oleh organisme. Ada tiga hal yang dijelaskan oleh biomarker penyingkapan yaitu adanya senyawa kimia toksik dalam tubuh organisme, adanya metabolit dari senyawa kimia toksik, dan adanya produk interaksi antara senyawa kimia toksik dengan molekul reseptor atau kompartemen sel (Kendall *et al.*, 1995: 163-184). Contoh untuk hal ini adalah tentang penyingkapan pestisida organofosfat yang dapat dianalisis dengan menggunakan indikator penyingkapan dan biomarker penyingkapan (Cobb and Hooper, 1994: 35-46). Indikator penyingkapan adalah konsentrasi senyawa kimia toksik dalam jaringan tubuh organisme (Suter, 1993: 311-364). Dalam kasus penyingkapan organofosfat pada satwa liar, indikator penyingkapan pada satwa yang telah mati adalah kadar residu organofosfat dalam saluran pencernaan. Sedangkan pada satwa yang masih hidup, indikator penyingkapan adalah kadar alkilfosfat dalam feses. Alkilfosfat merupakan hasil hidrolisis dari organofosfat. Biomarker penyingkapan yang digunakan terhadap pestisida organofosfat adalah kadar kolinesterase dalam plasma darah. Kolinesterase adalah enzim yang menghidrolisis asetilkolin yaitu senyawa yang berperan dalam hantaran impuls saraf. Penyingkapan organofosfat pada satwa liar akan mengakibatkan penurunan kadar kolinesterase dalam plasma darah sebagai perubahan biokimiawi terukur (Cobb and Hooper, 1994: 35-46).

Kelompok biomarker yang kedua yaitu biomarker efek (*biomarker of effects*) yang dapat diklasifikasikan lebih lanjut menjadi tiga standar berdasarkan derajat validasi yang diperlukan. Standar yang pertama adalah 'standar emas' yaitu bahwa pengukuran cukup dilakukan untuk satu biomarker saja karena biomarker tersebut sangat spesifik untuk satu senyawa kimia toksik. Contoh untuk standar ini adalah penghambatan enzim (-ALAD pada kasus penyingkapan timah hitam (Pb). Standar yang kedua adalah 'standar perak' yaitu biomarker yang tervalidasi cukup baik, tidak spesifik untuk suatu senyawa kimia tetapi spesifik untuk suatu kelas

senyawa kimia. Contoh untuk standar ini adalah DNA-adduct yaitu pembentukan ikatan kovalen antara DNA dengan senyawa-senyawa kimia dalam kelas poly aromatic hydrocarbons (PAH). Standar yang ketiga adalah 'standar perunggu' yaitu biomarker dengan derajat keberhasilan yang bervariasi dan memerlukan validasi lebih lanjut. Contoh untuk ini adalah induksi *cytochrome P-450 1A1 (CYP1A1)* pada hati ikan yang menunjukkan adanya stress karena senyawa-senyawa kimia toksik namun tidak spesifik untuk kelas atau golongan senyawa kimia tertentu (Kendall *et al.*, 1995: 163-184).

Ada tiga tujuan penggunaan biomarker efek. Tujuan yang pertama adalah untuk mengetahui organ-organ tubuh yang dipengaruhi oleh senyawa kimia toksik. Contoh untuk hal ini adalah *pentachlorophenol (PCP)* yang meningkatkan kadar *serum glutamic pyruvic transaminase (SGPT)* yang secara spesifik mengindikasikan adanya kerusakan pada hati dan ginjal sebagai organ target. Tujuan yang kedua adalah untuk mendeteksi hubungan kerusakan sel dengan penyingkapan yang telah terjadi. Contoh untuk hal ini adalah meningkatnya kadar protein stress yang mengindikasikan adanya produksi protein pada kondisi stress untuk melindungi sel dari kerusakan akibat pengaruh senyawa kimia toksik. Tujuan yang ketiga adalah untuk karakterisasi efek yang terjadi pada suatu sistim secara khusus. Contoh untuk hal ini adalah efek dioxin terhadap metabolisme hormon estrogen yang selanjutnya menyebabkan perubahan histopatologi pada sistim reproduksi hewan betina (Kendall *et al.*, 1995: 163-184).

Kelemahan Biomarker, Upaya Mengatasinya dan Arah Penelitian Masa Depan

Kelemahan utama dalam penggunaan biomarker adalah variabilitas yang terdapat pada organisme. Sebagai contoh dalam hal ini adalah pengukuran kadar adenilat pada otot ikan sebagai biomarker terhadap perubahan metabolisme energi. Penangkapan yang tidak hati-hati akan mengakibatkan stress pada ikan yang selanjutnya akan diwujudkan dalam perubahan kadar adenilat dalam otot ikan dalam skala waktu yang sangat cepat atau beberapa detik. Sebaliknya, penangkapan tersebut tidak berefek banyak pada kadar adenilat dalam hati (Heath, 1995: 265-270). Kelemahan yang kedua adalah sifat non-spesifik sebagian biomarker yaitu bahwa biomarker tersebut dipengaruhi oleh banyak senyawa kimia toksik (Melancon, 1993: 87-112) sehingga hubungan sebab akibat antara senyawa kimia toksik yang diduga sebagai penyebab dengan perubahan-perubahan yang terukur atau terobservasi adalah tidak jelas (Suter, 1993: 311-364). Kelemahan ini dapat dikurangi dengan menggunakan beberapa biomarker atau seperangkat biomarker untuk penentuan terjadinya penyingkapan dan atau efek

(Melancon, 1993: 87-112). Kelemahan yang ketiga adalah kurangnya validasi lapangan dari hasil penelitian yang telah ditemukan di laboratorium. Hal ini lebih mendorong penemuan biomarker- biomarker baru dari pada dibandingkan dengan upaya aplikasi biomarker yang sudah ada secara lebih intensif. Hal ini dapat diatasi dengan lebih sering melakukan validasi biomarker pada studi lapangan (Mayer *et al.*, 1993: 5-61).

Kelompok biomarker yang sering digunakan saat ini adalah biomarker penyingkapan. Penelitian tentang biomarker pada tumbuhan pada masa yang akan datang diperkirakan akan berkembang dengan cepat meskipun perkembangannya saat ini tertinggal dibandingkan dengan biomarker pada hewan (Suter, 1993: 311-364). Contoh biomarker yang banyak diteliti pada tanaman adalah enzim peroksidase yang digunakan sebagai biomarker hujan asam pada tanaman pinus. Enzim peroksidase ini juga merupakan biomarker terhadap kadmium pada tanaman air (Klaine and Lewis, 1995: 163- 184).

Arah penelitian biomarker pada masa depan adalah mengembangkan biomarker-biomarker efek yang dapat membedakan efek toksik dengan penyingkapan secara jelas selain memenuhi syarat-syarat yang umum yaitu mudah untuk diukur, murah dan cepat. Faktor-faktor lingkungan yang menyebabkan variabilitas pada biomarker seperti misalnya musim dan temperatur perlu diteliti lebih lanjut (Mayer *et al.*, 1993: 5-61). Memperhatikan pengukuran biomarker adalah dalam tingkat suborganisme atau organisme, maka penelitian tentang hubungan antara biomarker dengan keberlangsungan hidup organisme-organisme di lingkungan adalah penting agar biomarker dapat diterapkan pada skala populasi sehingga memiliki arti ekologis (Heinz *et al.*, 1994: 551-555).

DAFTAR PUSTAKA

- Adams, W.J., 1995. Aquatic Toxicology Testing Methods. p.25-46. In: Hoffman, D.J., Rattner, B.A., Burton, G.A., and Cairns, J. *Handbook of Ecotoxicology*. Boca Raton: Lewis Publishers.
- Cobb, G.P., and Hooper, M.J., 1994. Nonlethal Wildlife Monitoring to Determine Exposure to Xenobiotics and Resulting Impacts. p.35- 46. In: Kendall, R.J., and Leacher, T.E. (Eds). *Wildlife Toxicology and Population Modelling*. Boca Raton: Lewis Publishers.
- Di Giulio, R.T, Benson, W.H., Sanders, B.M., and Van Veld, P.A., 1995. Biochemical Mechanisms: Metabolism, Adaptation, and Toxicity. p.523-562. In: Rand, G.M. (Ed). *Fundamentals of Aquatic Toxicology*. Washington, D.C.: Taylor & Francis.
- Heath, A.G., 1995. *Water Pollution and Fish Physiology*. p.265- 270. Boca Raton: Lewis Publishers.

- Heinz, G.H., Body, M., and Blus, B.J., 1994. How Valuable are The Results of Models and Laboratory Studies when Extended to Field Situations? p.551-555. In: Kendall, R.J., and Leacher, T.E. (Eds). *Wildlife Toxicology and Population Modelling*. Boca Raton: Lewis Publishers.
- Hinton, D.E., Baumann, P.C., Gardner, G.R., Hawkins, W.E., Hendricks, J.D., Murchelano, R.A., and Okihiro, M.S., 1993. Histopathologic Biomarkers. p. 155-210. In: Huggett, R.J., Kimerle, R.A., Mehrle, P.M., and Bergman, H.L (Eds). *Biomarkers: Biochemical, Physiological, and Histological Markers of Anthropogenic Stress*. Boca Raton: Lewis Publishers.
- Kendall, R.J., Bens, C.M., Cobb, G.P., Dickerson, R.L., Dixon, K.R., Klaine, S.J., Lacher, T.E., La Point, T.W., McMurry, S.T., Noblet, R., and Smith, E.E., 1996. p.163-184. Aquatic and Terrestrial Ecotoxicology. In: Klaassen, C.D. (Ed). *Casarett & Doull's Toxicology The Basic Science of Poisons*. New York: Mc. Graw Hill.
- Klaine, S.J., and Lewis, M.A., 1995. Algal and Plant Toxicity Testing. p.163-184. In: Hoffman, D.J., Rattner, B.A., Burton, G.A., and Cairns, J. *Handbook of Ecotoxicology*. Boca Raton: Lewis Publishers.
- Landis, W.G., and Yu., M.H., 1995. *Introduction to Environmental Toxicology*. p.197-249. Boca Raton: Lewis Publishers.
- Mayer, F.L., Versteg, D.J., McKee, M.J., Folmar, L.C., Graney, R.L., McCume, D.C., and Rattner, B.A., 1993. Physiological and Nonspecific Biomarkers. p.5-61. In: Huggett, R.J., Kimerle, R.A., Mehrle, P.M., and Bergman, H.L (Eds). *Biomarkers: Biochemical, Physiological, and Histological Markers of Anthropogenic Stress*. Boca Raton: Lewis Publishers.
- Melancon, M.J., Alscher, R., Benson, W., Kruzynski, G., Lee, R.F., Sikka, H.C., and Spies, R.B., 1993. p.87-112. Metabolic Products as Biomarkers. In: Huggett, R.J., Kimerle, R.A., Mehrle, P.M., and Bergman, H.L (Eds). *Biomarkers: Biochemical, Physiological, and Histological Markers of Anthropogenic Stress*. Boca Raton: Lewis Publishers.
- Suter, G.W., II, 1993. Retrospective Risk Assessment. p.311-364. In: Suter, G.W., II (Ed.) *Ecological Risk Assessment*. Boca Raton: Lewis Publishers.
- _____, 1995. Introduction to Ecological Risk Assessment for Aquatic Toxic Effects. p.523-562. In: Rand, G.M. (Ed). *Fundamentals of Aquatic Toxicology*. Washington, D.C.: Taylor & Francis.