

# Efek Logam Berat Kadmium Terhadap Apoptosis Melalui Aktivasi Protein *Caspase-3* pada Bulu Babi *Diadema setosum*

Dominggus Rumahlatu

Pendidikan Biologi-Universitas Negeri Malang

Jl. Semarang 5 Malang. Email: dominggus\_amq@yahoo.co.id

**Abstrak:** Telah dilakukan penelitian mengenai efek logam Cd terhadap apoptosis pada sel bulu babi *D. setosum*. Penelitian dilakukan di laboratorium Balai LIPI Ambon (Indonesia). Dosis-dosis perlakuan adalah 0.0, 1.0, 3.0, 6.0, 9.0, dan 12.0  $\mu\text{g/L}$  Cd terlarut. Pada tiap perlakuan diulang 7 kali. Usia hewan coba sekitar 8 bulan berbobot 90 gram dengan lingkaran tubuh 15 cm. Hewan coba diberi makan lamun. Pengukuran konsentrasi protein caspase-3 dilakukan pada organ hepar dengan metode *Caspase Colorimetric Assay Kit* dilanjutkan dengan pewarnaan *Hematoxilen-Eosin* (HE). Data penelitian dianalisis dengan ANAVA tunggal dan uji lanjut dengan MDRS 0.05. Hasil penelitian memperlihatkan bahwa perlakuan Cd sangat signifikan meningkatkan kadar protein Caspase-3. Konsentrasi protein Caspase-3 tertinggi pada dosis perlakuan 12  $\mu\text{g/L}$ . Diperlukan kajian lanjutan terkait potensi peningkatan protein Caspase-3 sebagai satu alternatif biomonitoring pencemaran perairan laut oleh logam Cd.

**Kata kunci:** Cadmium, *Diadema setosum*, Apoptosis, Caspase-3

Perubahan yang terjadi pada lingkungan perairan menyebabkan organisme mengalami stres. Menurut Russo *et al.* (2003) organisme yang mengalami stress diakibatkan oleh stressor lingkungan seperti logam berat. Salah satu logam berat yang memiliki toksisitas tinggi adalah kadmium (Nordic, 2003). Pada lingkungan perairan, kadmium adalah sumber polusi dari berbagai aktivitas manusia, seperti industri panas bumi, industri bahan bangunan, areal pertambangan, dan industri logam (Schutzendubel *et al.*, 2001; Nordic, 2003).

Kadmium dikenal sebagai logam berat yang non esensial bagi tubuh, sehingga dengan kadar rendah dapat menyebabkan karsinogenik, teratogenik dan mutagenik pada berbagai jenis hewan (Pal, 2006). Bulu babi dikenal sebagai biota perairan yang sangat sensitif terhadap polutan logam (Soualili *et al.*, 2008; Russo *et al.*, 2003), dan imbasnya banyak penelitian tentang akumulasi logam berat kadmium di lingkungan perairan dan berbagai organ, dan tahapan perkembangan embrio dan dewasa pada *Diadema setosum* telah dilakukan selama beberapa dekade. *Diadema setosum* dan *Paracentrotus lividus* telah digunakan sebagai bioindikator untuk mengevaluasi kontaminasi logam berat pada terumbu karang di Indo-Pasific dan Mediterania (Flammang *et al.*, 1997; Warnau *et al.*, 1995). Temara *et al.* (1998) memberikan gambaran

terkait dengan penentuan status tingkat pencemaran dengan indikator berat kering *Asterias ruben*. Rumahlatu (2011) juga melaporkan bahwa *Diadema setosum* merupakan spesies bioindikator pencemaran lingkungan perairan dan dapat digunakan sebagai spesies biomonitoring logam berat kadmium di perairan. Bielmyer *et al.* (2005) dalam penelitiannya menggunakan dua tahap perkembangan *Sea Urchin* jenis *Diadema antillarum* tahap embrio dan dewasa sebagai bioindikator logam berat dan menunjukkan sensitivitas yang tinggi terhadap logam berat Cu pada level kontaminasi yang rendah.

*Diadema setosum* merupakan salah satu jenis *sea urchin* dari kelas *Deademetidae* yang memiliki sensitivitas yang tinggi terhadap logam berat kadmium, dan dikenal sebagai spesies indikator dari lingkungan laut yang tercemar (Flammang *et al.*, 1997; Danis *et al.*, 2005; Rumahlatu, 2011). Dilaporkan oleh Russo *et al.* (2003) bahwa pemaparan konsentrasi Cd yang tinggi dan kontinyu terhadap embrio *sea urchin Paracentrotus lividus*, menyebabkan sejumlah abnormalitas, seperti penundaan perkembangan, penurunan perpanjangan perut, dan cacat tulang. Selain itu, biomarker dalam kerang seperti *glutathione* (GSH) dan *Metallothionein Paracentrotus Lividus* juga telah digunakan untuk mengevaluasi kontaminasi logam berat Cd di Perairan (Russo *et al.*, 2003). Roc-

cheri *et al.* (2004) melaporkan bahwa paparan logam berat Cd dengan konsentrasi tinggi menyebabkan perlambatan perkembangan embrio bulu babi *Paracentrotus lividus* dan meningkatnya respons biomolekuler berupa ekspresi protein HSP60 dan HSP70. Menariknya, Faix *et al.* (2005) mengungkapkan bahwa Cd juga memicu perubahan histopatologi dan menyebabkan peroksidasi lipid pada organ liver dan ginjal rodent.

Hasil penelitian Ros *et al.* (1990), Quartacci *et al.*, (2001) yang dirujuk oleh Hall (2002) dan Smiri (2010) menunjukkan bahwa perlakuan dengan logam berat jenis Cu dan Cd akan berpengaruh terhadap komposisi lipid pada membran plasma, sedangkan Fodor *et al.* (1995) dalam Hall (2002) juga menjelaskan bahwa logam berat jenis Cd akan mereduksi aktivitas ATPase pada membran plasma pada akar tanaman gandum dan bunga matahari (*sunflower*). Dijelaskan oleh Agnello *et al.*, (2010) bahwa apoptosis terjadi di bawah pengaruh sinyal internal atau eksternal yang berasal dari lingkungan mikro dan juga dipicu untuk merespon stimuli lingkungan untuk menghilangkan sel yang rusak akibat stres kimia, fisik dan mekanis pada berbagai organisme. Selain itu, Dwipoyono (2007); Zhang *et al.* (2002) & Nagata (1997) menjelaskan bahwa Caspase-3 berperan dalam proses regulasi dan eksekusi proses apoptosis. Itulah sebabnya penelitian ini dilakukan untuk melihat efek perlakuan logam Cd terhadap apoptosis melalui aktivasi protein Caspase-3 bulu babi *D. Setosum* sebagai satu alternatif biomonitoring pencemaran perairan laut oleh logam Cd pada tingkat molekuler.

## METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen nonfaktorial dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) 6 level dengan 7 ulangan. Sampel dalam penelitian ini adalah 42 individu *Diadema setosum* hasil penangkaran pada Balai LIPI Ambon, Indonesia. Urutan pelaksanaan penelitian dijelaskan sebagai berikut.

### Penyediaan Hewan Uji

Penyediaan hewan uji dimulai dengan tahapan budidaya pada Balai LIPI Ambon, Indonesia. Tahapan budidaya *Diadema setosum* menggunakan sistem air mengalir, yakni (1) Tahap pemijahan. Tahapan ini dilakukan pada kolam pemijahan dimulai dari pemilihan induk, peneluran, pembuahan hingga penetasan telur. (2) Tahap larva. Tahapan ini dilakukan di wadah

terkontrol (bak semen atau *fiberglass*). Fase sejak telur menetas hingga mencapai umur 12-15 hari. (3) Tahap pendedaran. Pemeliharaan benih *Diadema setosum* dilakukan di bak semen atau *fiberglass* selama 1 bulan. (4) Tahap pembesaran. Fase membesarkan benih dilakukan selama 3-8 bulan di bak semen atau *fiberglass* sampai individu *Diadema setosum* mencapai lingkaran tubuh 10-25 cm dan berat tubuh 40-160 g.

### Penentuan Hewan Uji

Penentuan individu *Diadema setosum* untuk digunakan dalam perlakuan, yakni (1) sampel individu *Diadema setosum* dipelihara pada Balai LIPI Ambon, Indonesia selama 8 bulan hingga mencapai umur maksimal untuk perlakuan. (2) Sampel yang digunakan adalah individu *Diadema setosum* yang memiliki karakteristik yang sama yaitu berat tubuh 90 g dan lingkaran tubuh 15 cm. (3) Jumlah individu yang digunakan sebagai sampel penelitian adalah sebanyak 42 individu yang dibagi menjadi 6 kelompok untuk 6 tingkatan konsentrasi logam berat Cd, dan pada masing-masing kelompok digunakan 7 individu sehingga total unit analisis adalah 42. (4) Sampel individu selanjutnya dimasukkan ke dalam bak aquarium berukuran 100 x 60 x 70 cm, setiap bak ditempati 7 individu *Diadema setosum* dan dilakukan fase adaptasi selama 1 minggu pada kondisi laboratorium.

### Perlakuan

Tahapan perlakuan paparan kadmium pada individu *Diadema setosum* sebagai berikut. (1) Sebanyak 42 individu *Diadema setosum* yang telah melalui proses kapasitasasi, selanjutnya dibagi menjadi 6 kelompok sesuai dengan tingkatan konsentrasi logam berat, yaitu 0,0; 1,0; 3,0; 6,0; 9,0; dan 12,0  $\mu\text{g/L}$  Cd terlarut selama 4 minggu dalam bak aquarium yang berisikan air laut sebanyak 200L dengan sirkulasi udara bak perlakuan menggunakan aerator listrik. Semua perlakuan diulang sebanyak 7 kali. (2) Selama perlakuan, dilakukan pengukuran faktor fisika kimia pada bak perlakuan berupa suhu, pH, salinitas, dan oksigen terlarut pada waktu pagi, siang dan sore hari. (3) Selama 4 minggu perlakuan, dilakukan pergantian air aquarium 1 kali dalam 1 minggu. (4). Pemberian pakan berupa lamun dilakukan setiap pagi dengan mengikat lamun pada bongkahan karang dan diletakkan dalam bak perlakuan serta menebar lamun pada permukaan air bak perlakuan.

Setelah 4 minggu perlakuan, dilakukan pembedahan terhadap 42 individu *Diadema setosum* untuk diambil organ hati. Organ hati yang telah dibedah, dimasukkan ke dalam pot sampel untuk pemeriksaan apoptosis dan pengukuran konsentrasi protein caspase-3 dan Laboratorium Fisiologi Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, Indonesia.

### Pemeriksaan Apoptosis dengan Pewarnaan Hematoxilen-Eosin (HE)

Pemeriksaan apoptosis pada hepar *Diadema setosum*, diawali dengan pembuatan preparat sayatan spesimen hepar dengan pewarnaan Haemotoksilin eosin.

Sel hati yang mengalami apoptosis diamati menggunakan mikroskop Olympus dengan pemotretan *slide blot* pada lapang pandang perbesaran 400x. Sel yang mengalami apoptosis diamati berdasarkan ciri: (1) pengerutan sel, (2) kondensasi nukleus, dan (3) pembentukan *apoptotic bodies*.

### Pengukuran Konsentrasi Caspase 3 dengan Caspase Colorimetric Assay Kit

Penentuan konsentrasi Caspase 3 dilakukan mengikuti Slee *et al.* (1999). Sampel dibaca dengan menggunakan microplate reader pada 400 nm atau

405 nm. Aktivitas caspase-3 ditentukan melalui perbandingan langsung dengan kontrol.

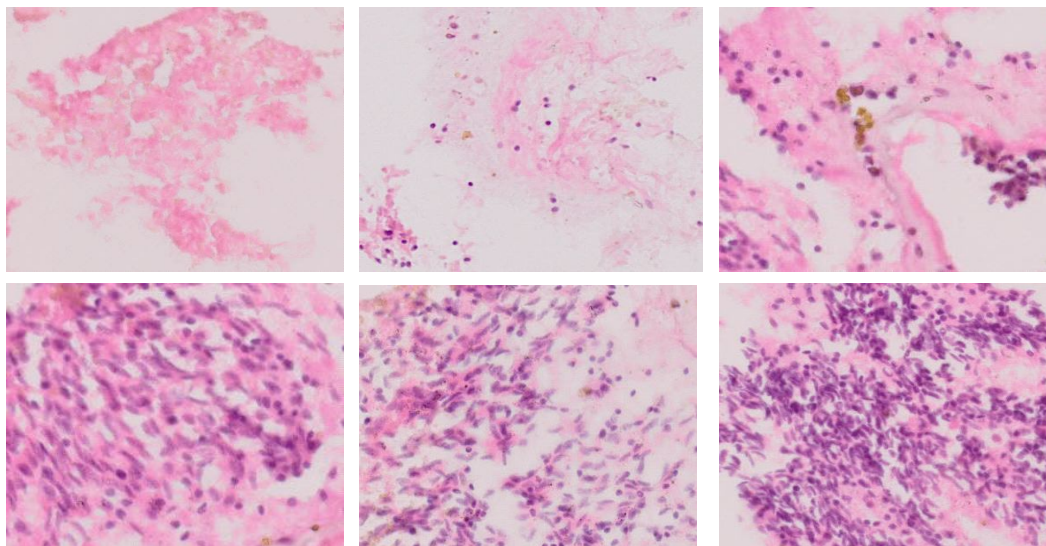
### Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif menggunakan metode kualitatif dalam bentuk persentase untuk menggambarkan jaringan hepar *Diadema setosum* yang mengalami apoptosis. Selain itu, digunakan statistik inferensial ANAVA tunggal untuk mengkaji efek perlakuan logam Cd terhadap konsentrasi protein Caspase-3 dan dilakukan uji lanjut dengan MDRS 0.05 untuk melihat perbedaan rata-rata konsentrasi paparan logam berat terhadap konsentrasi protein Caspase-3 pada organ hepar *Diadema setosum*.

## HASIL & PEMBAHASAN

### Apoptosis pada *Diadema setosum* Akibat Paparan Logam Berat Cd

Hasil pengamatan untuk memberikan gambaran mengenai histopatologi jaringan hepar yang mengalami apoptosis sebagai respons fisiologi *Diadema setosum* akibat terpapar logam berat Cd, terlihat adanya noktah berwarna ungu (Gambar 1). Noktah berwarna ungu yang ditunjukkan dengan tanda panah merah me-



**Gambar 1.** Jaringan Hepar *Diadema setosum* setelah perlakuan dengan Cd dan pewarnaan Hematoxilen-Eosin (HE). Pengamatan dengan mikroskop Olympus untuk pemotretan slide blot dengan pembesaran 400x zoom. Gambar dengan Notasi: A) kontrol; B) konsentrasi 1,0  $\mu\text{g/L}$  Cd; C) konsentrasi 3,0  $\mu\text{g/L}$  Cd; D) konsentrasi 6,0  $\mu\text{g/L}$  Cd; E) konsentrasi 9,0  $\mu\text{g/L}$  Cd; dan F) konsentrasi 12,0  $\mu\text{g/L}$  Cd. Tanda panah merah menunjukkan sel hepar yang mengalami apoptosis

nunjukkan adanya apoptosis pada jaringan hepar *Diadema setosum*. Jaringan hepar yang mengalami apoptosis, nukleus selnya mengalami kondensasi dan pembentukan *apoptotic bodies*. Semakin tinggi paparan konsentrasi logam berat Cd, maka sel yang sel yang mengalami apoptosis juga semakin tinggi. Terungkap, adanya peningkatan apoptosis jaringan hepar *Diadema setosum*, kadarnya meningkat berturut-turut dari rendah ke tinggi, yakni pada bak 1 < 2 < 3 < 4 < 5 < 6. Hal ini berarti bahwa konsentrasi logam berat Cd meningkatkan terjadinya apoptosis.

Adanya apoptosis mengindikasikan bahwa sel hepar *Diadema setosum* melakukan mekanisme homeostasis untuk mempertahankan lingkungan internal selnya dari paparan logam berat Cd. Terlihat adanya infiltrasi sel-sel radang jaringan hepar diduga terkait dengan adanya respon terhadap akumulasi logam berat Cd pada sel hepar. Dijelaskan oleh Agnello *et al.*, (2010) bahwa apoptosis terjadi di bawah pengaruh sinyal internal atau eksternal yang berasal dari lingkungan mikro dan juga dipicu untuk merespon stimuli lingkungan, untuk menghilangkan sel yang rusak akibat stress kimia, fisik dan mekanis pada berbagai organisme. Keadaan ini menunjukkan bahwa sel-sel hepar *Diadema setosum* memberikan respons dengan melakukan homeostasis untuk mempertahankan lingkungan internal selnya dari paparan logam berat Cd. Menurut Saputra *et al.* (2012) kejadian kerusakan sel terjadi akibat adanya penurunan ATP dalam mitokondria. Penurunan ATP tersebut akan berakibat peningkatan ion  $Ca^{2+}$  dalam mitokondria,  $Ca^{2+}$  akan mengaktifkan beberapa enzim yaitu *phospholipase*, yaitu enzim yang dapat merusak membran) dan *protease* adalah enzim yang dapat merusak membran dan protein sitoskeletal serta *endonuclease* ialah enzim yang bertanggung jawab terhadap fragmentasi DNA dan kromatin, dimana kerusakan membran sel merupakan tanda awal kejadian nekrosis. Hal ini terjadi karena adanya tekanan fisiologi akibat meningkatnya akumulasi logam berat Cd di dalam hepar *Diadema setosum*. Dijelaskan oleh Huang *et al.* (2003) bahwa hal tersebut berkaitan dengan pelepasan berbagai jenis senyawa biokimia, seperti beberapa jenis hormon *glukokortikoid* dan *sitokin*. *Sitokin* yang dilepaskan berperan penting dalam upaya tubuh mempertahankan homeostasis akibat stres. Selama terjadi akumulasi logam berat Cd pada hepar *Diadema setosum*, dapat diduga sekresi *sitokin* meningkat. Hal ini, menurut Caspani *et al.* (2004) dapat meningkatkan respons inflamasi. Disisi lain paparan logam berat yang tinggi menyebab-

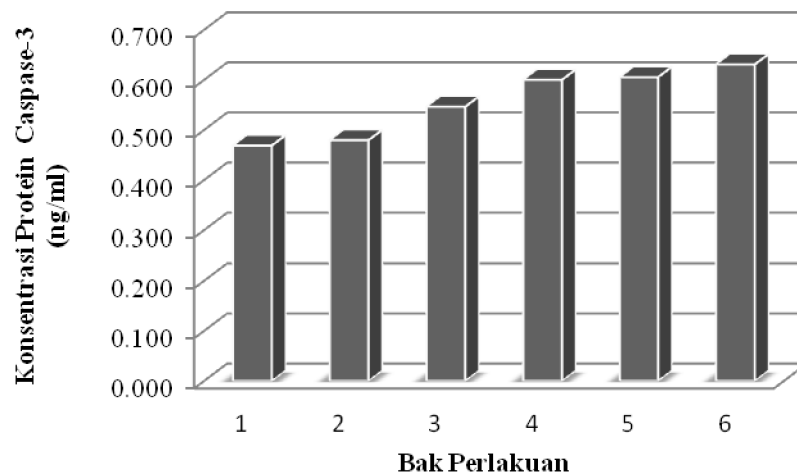
kan sel tidak dapat mempertahankan homeostasisnya, sehingga menyebabkan beberapa jenis protein seluler mengalami kerusakan, sehingga kejadian apoptosis jaringan juga meningkat (Katschinski, 2004). Dijelaskan oleh Smiri *et al.*, 2010; Dailanis & Kaloyianni, 2004 bahwa kadmium dapat menginduksi kerusakan pada fungsi membran dengan merusak komposisi lipid pada membran sel (Smiri *et al.*, 2010; Dailanis & Kaloyianni, 2004). Penelitian yang dilakukan oleh El-Maraghy *et al.* (2001); Wlostowski *et al.* (2003); Faix *et al.* (2005) menyimpulkan bahwa paparan logam berat jenis kadmium menyebabkan perubahan histopatologi dan peroksidasi lipid pada organ liver dan ginjal hewan rodent.

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya apoptosis akibat akumulasi logam berat Cd. Menariknya, apakah hasil penelitian apoptosis ini dapat dijadikan sebagai model biomonitoring paparan logam berat Cd pada tingkatan seluler dengan menggunakan *Diadema setosum* sebagai spesies biomonitoring? Dijelaskan oleh Roccheri *et al.* (2005) bahwa *over-expressed* dalam sel-sel yang terpapar logam berat berperan penting untuk mencegah terjadinya kematian sel dan memberikan kontribusi terhadap respon pertahanan seluler akibat stres dan dapat digunakan sebagai model biomonitoring paparan logam berat. Dengan demikian, hasil penelitian pada kasus apoptosis jaringan hepar *Diadema setosum* dapat digunakan sebagai model biomonitoring seluler paparan logam berat Cd.

### **Pengaruh Konsentrasi Logam Berat Cd terhadap Konsentrasi Protein Caspase-3 pada Organ Hepar *Diadema setosum***

Hasil pengukuran konsentrasi protein Caspase-3 dengan metode *Caspase colorimetric assay kit* (Gambar 2) menunjukkan peningkatan konsentrasi dengan semakin tingginya paparan logam berat Cd. Terlihat bahwa konsentrasi protein *caspase-3*, kadarnya meningkat berturut-turut dari rendah ke tinggi, yakni pada bak 1 < 2 < 3 < 4 < 5 < 6. Dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi kadar logam berat yang terakumulasi di dalam jaringan hepar *Diadema setosum* sebagai suatu respons terhadap stres oksidatif oleh adanya logam berat Cd sehingga mengaktifkan dan meningkatkan konsentrasi Caspase-3.

Disisi lain, hasil pengujian hipotesis dengan ANAVA tunggal, yakni konsentrasi logam berat Cd berpengaruh terhadap konsentrasi protein Caspase-3 pada organ hepar *Diadema setosum*. Berdasarkan



Gambar 2. Konsentrasi Protein Caspase-3 dalam Jaringan Hepar *Diadema setosum* Akibat Paparan Konsentrasi Logam Berat Cd

Tabel 1. Hasil Analisis Varian, Pengaruh Konsentrasi Logam Berat Cd terhadap Konsentrasi Protein Caspase-3 pada Organ Hepar *Diadema setosum*

Sumber Varians	Sum of Squares	df	Mean Square	Nilai F	Sig. (Nilai p)	
Kons. Protein Caspase-3	Between Groups	.165	5	.033	2.485	.049
	Within Groups	.477	36	.013		
	Total	.642	41			

Tabel 2. Hasil Uji MDRS dari Hasil Analisis Varian Terdapat Pengaruh yang Signifikan Konsentrasi Logam Berat Cd Terhadap Konsentrasi Protein MTF-1 pada Organ Hepar *Diadema setosum*

Konsentrasi Logam Berat Cd	N	Rerata Konsentrasi Protein Caspase-3 pada Organ Hepar <i>Diadema setosum</i>	Notasi Duncan
Kons. 0.0 (kontrol)	7	0.46886	a
Kons. 1,0 µg/L Cd	7	0.47957	a
Kons. 3,0 µg/L Cd	7	0.54643	ab
Kons. 6,0 µg/L Cd	7	0.60014	ab
Kons. 9,0 µg/L Cd	7	0.60543	ab
Kons. 12,0 µg/L Cd	7	0.63086	b

hasil analisis varian (Tabel 1) terungkap bahwa konsentrasi logam berat Cd berpengaruh sangat signifikan terhadap konsentrasi protein Caspase-3 pada organ hepar *Diadema setosum*, dimana nilai signifikansi lebih kecil dari  $\alpha$  0.05 ( $p < 0.05$ ).

Hasil analisis varians yang menunjukkan pengaruh sangat signifikan, kemudian dilanjutkan dengan MDRS 0.05 untuk mengetahui perbedaan rata-rata konsentrasi paparan logam berat Cd terhadap konsentrasi protein Caspase-3 pada organ hepar *Diadema setosum* (Tabel 2).

Berdasarkan Tabel 2, terlihat adanya perbedaan notasi. Perbedaan yang teramati pada kelompok perlakuan konsentrasi Cd menunjukkan pengaruh paparan

an konsentrasi Cd terhadap konsentrasi protein Caspase-3 pada hepar *Diadema setosum*. Konsentrasi Cd secara signifikan meningkatkan konsentrasi protein Caspase-3. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi Cd yang dipaparkan maka konsentrasi protein Caspase-3 yang teraktivasi pada *Diadema setosum* juga semakin tinggi.

Secara kuantitatif dengan uji *Caspase Colorimetric Assay Kit* (Gambar 2) menunjukkan bahwa konsentrasi protein Caspase-3 meningkat seiring dengan semakin tingginya paparan konsentrasi logam berat Cd. Terlihat konsentrasi protein Caspase-3 pada perlakuan konsentrasi 12 µg/L Cd adalah yang paling tinggi yaitu hampir 5x dibanding dosis kontrol, dengan

tingkat konsentrasi yang paling tinggi. Selain itu hasil analisis varians (Tabel 1) menunjukkan bahwa konsentrasi logam berat Cd berpengaruh sangat signifikan ( $p < 0.05$ ) terhadap konsentrasi protein Caspase-3 pada organ hepar *Diadema setosum*. Di sisi lain, hasil uji lanjut MDRS (Tabel 2) menunjukkan adanya perbedaan rerata pada kelompok tingkatan konsentrasi Cd. Hasil ini menunjukkan bahwa respons biomolekuler *Diadema setosum* berupa konsentrasi protein *caspase-3* diaktifkan oleh adanya akumulasi logam berat Cd, dan dapat dikatakan bahwa peningkatan konsentrasi Caspase-3 mengaktifkan terjadinya apoptosis pada hepar *Diadema setosum* seperti yang terlihat pada Gambar 1. Hal ini berarti bahwa logam berat Cd menginduksi apoptosis lewat aktivasi Caspase-3. Dijelaskan oleh Dwipoyono (2007); Zhang *et al.* (2002) & Nagata (1997) bahwa Caspase-3 berperan dalam proses regulasi dan eksekusi proses apoptosis. Disisi lain, berdasarkan hasil pengamatan (Gambar 1) terlihat adanya sel hepar *Diadema setosum* yang mengalami apoptosis. Hasil ini sejalan dengan hasil pengukuran konsentrasi protein Caspase-3 (Gambar 2), dimana semakin tinggi konsentrasi logam berat Cd yang dipaparkan, maka protein Caspase-3 yang mengaktifkan terjadinya apoptosis menunjukkan hasil yang tinggi. Nagata (1997) menjelaskan bahwa aktivasi Caspase-3 dapat menyebabkan terjadinya apoptosis dan menghasilkan apa terlihat sebagai apoptosis pada Gambar 1.

Peningkatan konsentrasi protein Caspase-3 dapat dikatakan sebagai salah satu mekanisme dalam apoptosis yang diinduksi oleh logam berat Cd. Logam berat Cd yang meningkatkan konsentrasi protein Caspase-3 memiliki potensi sebagai biomonitoring akumulasi logam berat pada tingkatan seluler. Dijelaskan oleh Allen & Moore (2004) bahwa pengukuran langsung terhadap biomarker paparan logam berat dilakukan untuk menilai perubahan proses kimia dan fisiologi pada tingkatan organisasi. Hal ini berarti bahwa pengukuran konsentrasi protein Caspase-3 pada *Diadema setosum* dapat menjadi penanda biologi sekaligus biomonitoring akumulasi seluler akumulasi logam berat Cd. Dijelaskan oleh Schoettger (1996) bahwa respon yang timbul pada organisasi seluler memang diperlukan untuk memastikan keberadaan logam berat di lingkungan. Russo *et al.* (2003) menjelaskan bahwa invertebrata laut memiliki sensitivitas yang tinggi terhadap tekanan (*stressor*) logam berat dan memiliki kemampuan untuk merespons kontaminasi logam berat.

## SIMPULAN & SARAN

### Simpulan

Hasil penelitian menunjukkan adanya peningkatan apoptosis yang signifikan mengikuti konsentrasi logam Cd. Kondisi ini mengindikasikan bahwa Caspase-3 pada *Diadema setosum* dapat digunakan sebagai biomonitoring pencemaran logam berat di laut pada tingkat molekuler. Disisi lain *Diadema* dapat dipakai sebagai alat biomonitoring pencemaran logam berat Cd di laut.

### Saran

Saran yang menjadi harapan peneliti, yakni diperlukan kajian lanjutan terkait potensi peningkatan protein Caspase-3 sebagai satu alternatif biomonitoring pencemaran perairan laut oleh logam Cd dengan menggunakan biota laut lainnya.

### Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Kepala Balai Budidaya Biota Laut LIPI Ambon, Indonesia beserta staff, kepada Kepala Laboratorium Fisiologi Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, Indonesia dan kepada semua pihak yang telah membantu jalannya penelitian hingga tahap akhir penulisan artikel ini.

## DAFTAR RUJUKAN

- Agnello, M & Roccheri, M.C. 2010. Apoptosis: focus on sea urchin development. *Cell death research*, Vol 15(3): 322-330.
- Allen, J.I. & Moore, M.N. 2004. Environmental prognostics: is the current use of biomarkers appropriate for environmental risk evaluation. *Marine Environmental Research*, Vol 58: 227-232.
- Bielmyer, G.K., K.V. Brix, T.R. Capo, & Grosell. 2005. The effects of metals on embryo-larval and adult life stages of the sea urchin, *Diadema antillarum*. *Aquatic Toxicology*, 74: 254-263.
- Caspani, M.L., Savioli, M., Crotti, S., Buzzzone, P., & Gattmoni, L. 2004. Heat stress: characteristics, pathophysiology and avoidable mistakes. *Minerva Anestesiol*, Vol 70: 617-624.
- Dailianis, S & Kaloyianni, M. 2004. Cadmium induces both pyruvate kinase and  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger activity through protein kinase C mediated signal trans-

- duction, in isolated digestive gland cells of *Mytilus galloprovincialis* (L.). *The Journal of Experimental Biology*, Vol 207: 1665-1674.
- Danis, B., O. Cotret, J.L. Teysssié, P. Bustamante, S.W. Fowler, & M. Warnau. 2005. Bioaccumulation of PCBs in the sea urchin *Paracentrotus lividus*: sea-water and food exposures to a <sup>14</sup>C-radiolabelled congener (PCB#153). *Environmental Pollution*, 135(1): 11-16.
- Dwipoyono, B. 2007. Aktivitas caspase 3 sebagai indikator apoptosis pada sel kanker ovarium. *Indonesian Journal of Cancer*, Vol 2: 63-72.
- El-Maraghy SA, Gad MZ, Fahim AT, & Hamdy MA. 2001. Effect of cadmium and aluminum intake on the antioxidant status and lipid peroxidation in rat tissues. *J. Biochem. Mol. Toxicol*, 15: 207-221.
- Faix, S., Faixova, Z., Boldizarova, K., & Javorsky, P. 2005. The effect of long-term high Heavy metal intake on lipid peroxidation of gastrointestinal tissue in sheep. *Vet. Med-Czech*, 50(9): 401-405.
- Flammang, P., M. Warnau, A. Temara, D.J.W. Lane, & M. Jangoux. 1997. Heavy metals in *Diadema setosum* (Echinodermata Echinoidea) from Singapore coral reefs. *J. Sea Res*, 38: 35-45.
- Hall, J.L. 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. Review Article. *Journal of Experimental Botany*, Vol 53(366): 1-11.
- Hall, J.L. & Lorraine, E.W. 2003. Transition metal transporters in plants. Review Article. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 54(393): 2601-2613.
- Huang, K.L., Wu, C.P., Chen, Y.L., Kang, B.H., & Lin, Y.C. 2003. Heat stress attenuates air bubble-induced acute lung injury: a novel mechanism of diving acclimatization. *J Appl Physiol*, Vol 94: 1485-1490.
- Katschinski, D.M. 2004. On heat and cells and proteins. *News Physiol. Sci*, 19: 11-15.
- Nagata, S. 1997. Apoptosis by death factor. *Cell*, Vol 88: 355-365.
- Nordic. 2003. *Cadmium Review*. Denmark: Prepared by COWI A/S on behalf of the Nordic Council of Ministers.
- Pal, M., Horvarth, E., Janda, T., Paldi, E., & Szalai, G. 2006. Physiological changes and defense mechanisms induced by cadmium stress in maize. Review article. *J. Plant. Nutr. Soil Sci*, Vol 159: 230-246.
- Roccheri, M. C., M. Agnello, R. Bonaventura, & V. Matranga. 2004. Cadmium induces the expression of specific stress proteins in sea urchin embryos. *Elsevier*. (online). www.elsevier.com. Diakses 4 September 2010.
- Rumahlatu, D. 2011. Cadmium concentrations of Heavy Metals in Water, Sediment, and *Diadema setosum* in the waters of the island of Ambon. *Indonesia Journal of Marine Science*, 16(2): 78-85.
- Russo, R., R. Bonaventura, F. Zito, H. Schroder, I. Muller, W.E.G. Muller, & V. Matranga. 2003. Stress to cadmium monitored by metallothionein gene induction in *Paracentrotus lividus* embryos. *Cell Stress & Chaperones*, 8(3): 232-231.
- Saputra, D., Astuti, E.R., & Budhy, T.I. 2012. Apoptosis and necrotic oral mucosa cell induced by conventional dental x-ray radiation. *Dental Journal*, Vol. 3(1): 36-40.
- Schutzendubel, A., P. Schwanz, T. Teichmann, K. Gross, R. Langenfeld-Heyser, D.L. Godbold, & A. Polle. 2001. Cadmium-Induced Changes in Antioxidative Systems, Hydrogen Peroxide Content, and Differentiation in Scots Pine Roots1. *Plant Physiology*, 127: 887-898.
- Schoettger, R.A. 1996. Problems of Aquatic toxicology, biotesting and water quality management. *Proceedings of USA-Rusia Symposium, Borok, Jaroslavl Oblast*, Juli 21-23 1996. Published by Ecosystems Research Division Athens.
- Slee, E. A., Harte, M. T., Kluck, R. M., Wolf, B. B., Casiano, C. A., Newmeyer, D. D., Wang, H. G., Reed, J. C., Nicholson, D. W., Alnemri, E. S., Green D. R. & Martin, S. J. 1999. Ordering the cytochrome c-initiated caspase cascade: hierarchical activation of caspase-2, -3, -6, -7, -8, and -10 in a caspase-9-dependent manner. *J. Cell Biol*, 144: 281-292.
- Smiri, M., Chaoui, A., & Ferjani, E.E. 2010. Interaction between heavy metals and thiol-linked redox reactions in germination. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, Vol 13(18): 877-883.
- Soualili, D., P. Dubois, P. Gosselin, P. Pernet, & M. Guillou. 2007. Assessment of Seawater Pollution by Heavy Metals in the Neighbourhood of Algiers: use of sea urchin, *Paracentrotus lividus*, as Bioindicator. Email: mguillou@univ-brest.fr. Diakses 8 September 2010.
- Temara, A., J.M. Skei, D. Gillan, M. Warnau, M. Jangoux, & P. Dubois. 1998. Validation of the Asteroid *Asterias rubens* (Echinodermata) as a bioindicator of spatial and temporal trends of Pb, Cd, and Zn contamination in the field. *Elsevier. Marine Environmental Research*, 45 (4/5): 341-356.
- Warnau, M., G. Ledent, A. Temara, J.M. Bouquegneau, M. Jangoux, & P. Dubois. 1995. Heavy metals in *Posidonia oceanica* and *Paracentrotus lividus* from sea-

- grass beds of northwestern Mediterranean. *Sci. Total Environ*, 171: 95-99.
- Wlostowski T., Krasowska A., & Bonda E. 2003. An ironrich diet protects the liver and kidneys against cadmium-induced injury in the bank vole (*Clethrionomys glareolus*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 54: 194–198.
- Zhang, X., Chen, J., Graham, S. H., Du, L., Kochanek, P. M., Draviam, R., Guo, F., Nathaniel, P. D., Szabo, C., & Watkins, S. C. 2002. Intranuclear localization of apoptosis-inducing factor (AIF) and large scale dna fragmentation after traumatic brain injury in rats and in neuronal cultures exposed to peroxy-nitrite. *J. Neurochem*, Vol 82: 181-191.