

**PENDEKATAN MULTI-BIOMARKER UNTUK  
BIOMONITORING EKOSISTEM SUNGAI**



**UNIVERSITAS GADJAH MADA**

**Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar  
dalam Bidang Ekotoksikologi  
pada Fakultas Biologi  
Universitas Gadjah Mada**

**Disampaikan pada Pengukuhan Guru Besar  
Universitas Gadjah Mada  
Tanggal 10 Juli 2025**

**Oleh:  
Prof. Dr. rer. nat. Andhika Puspito Nugroho, S.Si., M.Si.**

*Bismillahirrahmanirrahim*

*Assalamu'alaikum warrahmatullahi wabarakatuh*

Salam sejahtera bagi kita semua,

Shalom, om swastiastu, namo buddhaya, salam kebajikan.

Yang saya hormati,

Ketua, Sekretaris, dan Anggota Majelis Wali Amanat Universitas  
Gadjah Mada,

Ketua, Sekretaris, dan Anggota Senat Akademik Universitas Gadjah  
Mada,

Ketua, Sekretaris, dan Anggota Dewan Guru Besar Universitas Gadjah  
Mada,

Rektor dan para Wakil Rektor Universitas Gadjah Mada,

Dekan dan para Wakil Dekan Fakultas Biologi Universitas Gadjah  
Mada,

Dekan dan para Wakil Dekan di Lingkungan Universitas Gadjah Mada,  
Ketua, Sekretaris, dan Anggota Senat Fakultas Biologi Universitas  
Gadjah Mada,

Segenap Sivitas Akademika Universitas Gadjah Mada,

Para tamu undangan, kolega, teman sejawat, tenaga kependidikan,  
mahasiswa, dan sanak keluarga yang saya cintai dan para hadirin  
sekalian yang berbahagia.

Pada kesempatan yang berbahagia ini, segala puji dan syukur ke  
hadirat Allah Swt, atas limpahan rahmat, taufik, dan hidayah-Nya,  
sehingga kita diberikan kesehatan untuk mengikuti acara ini. Dengan  
segala kerendahan hati, di hadapan para hadirin yang saya muliakan,  
perkenankanlah saya menyampaikan pidato dalam rangka pengukuhan  
Guru Besar dalam bidang Ekotoksikologi di Fakultas Biologi  
Universitas Gadjah Mada dengan judul:

### **Pendekatan Multi-biomarker untuk Biomonitoring Ekosistem Sungai**

*Pimpinan sidang dan hadirin yang saya muliakan,*

Topik ini bertolak dari kajian mengenai pencemaran dan ekotoksikologi pada ekosistem sungai. Sungai merupakan aliran air permukaan yang mengalir secara permanen dari hulu ke hilir menuju muara, yang dapat berupa laut, samudra, danau atau sungai utama lainnya. Pembentukan sungai merupakan hasil interaksi kompleks antara faktor geologis dan klimatologis dalam skala waktu geologis, termasuk proses erosi, presipitasi, dan pencairan salju. Sungai memiliki karakteristik hidromorfologis yang khas, seperti variasi lebar, kedalaman, kecepatan aliran, dan debit air, yang dipengaruhi oleh musim dan kondisi lingkungan di sekitarnya.

Ekosistem sungai memiliki peran penting, baik secara ekologis maupun sosial, antara lain sebagai habitat berbagai spesies hewan dan tumbuhan akuatik, penyedia sumber air bersih, dan ruang untuk aktivitas ekonomi dan rekreasi. Namun, pembangunan yang tidak berwawasan lingkungan, disertai dengan peningkatan aktivitas manusia, seperti industri, pertanian, pariwisata, dan domestik, telah mempercepat masuknya berbagai jenis pencemar ke dalam badan air sungai. Pencemar tersebut, antara lain pupuk, pestisida, plastik/mikroplastik, dan logam berat, umumnya berasal dari sumber tersebar (*non-point source pollution*). Keberadaan campuran berbagai jenis pencemar dalam ekosistem sungai berkontribusi signifikan terhadap penurunan kualitas air. Interaksi sinergis antar senyawa pencemar tersebut dapat meningkatkan toksisitas, yang pada akhirnya dapat membahayakan kelangsungan hidup organisme akuatik (Liu & Wang 2012; Santana et al. 2018; Brettschneider et al. 2019; Kadim & Risjani 2022; Moussa et al. 2022; Meng et al. 2023; Sabilillah et al. 2023). Pemantauan kualitas air sungai selama periode 2015–2020 menunjukkan bahwa Sungai Bengawan Solo (Jawa Tengah dan Jawa Timur), Brantas (Jawa Timur), Citarum (Jawa Barat), dan Siak (Riau) tergolong dalam kategori sungai dengan tingkat pencemaran berat (Basuki et al. 2024). Di samping itu, perairan Sungai Code dan Winongo di Daerah Istimewa Yogyakarta juga dilaporkan telah mengalami pencemaran (Ukasha et al. 2024; Rivaldi et al. 2025).

Pencemaran perairan sungai memberikan kontribusi signifikan terhadap penurunan keanekaragaman hayati dalam ekosistem akuatik.

Beberapa studi menunjukkan bahwa penurunan keanekaragaman ini dapat lebih signifikan dibandingkan dengan yang terjadi pada ekosistem terestrial, tergantung pada tingkat dan jenis pencemar sungai (Reid et al. 2019). Keterkaitan langsung antara ekosistem sungai dan ekosistem terestrial di sekitarnya, menyebabkan perubahan struktural pada lanskap terestrial, seperti deforestasi, urbanisasi, dan penggunaan lahan secara intensif, dapat memengaruhi karakteristik fisikokimia perairan dan struktur habitat akuatik. Perubahan ini berdampak pada kualitas air, aliran hidrologis, dan komposisi dan fungsi komunitas organisme akuatik. Oleh karena itu, konservasi sungai merupakan komponen esensial dalam upaya perlindungan dan pengelolaan lingkungan hidup secara sistematis dan terpadu. Kegiatan ini mencakup perencanaan, pemanfaatan, pengendalian, pemeliharaan, pengawasan, dan penegakan hukum. Pengelolaan sungai harus dilaksanakan secara menyeluruh, terintegrasi, dan berwawasan lingkungan untuk menjamin keberlanjutan fungsi ekologis, ekonomi, dan sosialnya. Tanggung jawab pengelolaan ini berada pada pemerintah kabupaten/kota maupun provinsi, sesuai dengan pembagian kewenangan yang diatur dalam peraturan perundang-undangan, seperti Undang-undang No. 17 Tahun 2019 tentang Sumber Daya Air. Dalam konteks tersebut, salah satu strategi penting dalam melindungi ekosistem sungai adalah implementasi program biomonitoring sebagai alat evaluasi kondisi ekologis dan deteksi dini terhadap perubahan kualitas perairan (Faquim et al. 2021).

## **Biomonitoring Ekosistem Sungai**

*Hadirin yang saya muliakan,*

Biomonitoring sungai merupakan pendekatan ilmiah untuk mengkarakterisasi kondisi ekosistem sungai, menilai tingkat degradasi biologis, dan memantau tren kesehatan ekosistem dalam jangka panjang. Metode ini juga digunakan untuk mengevaluasi efektivitas upaya pengendalian pencemaran dan kegiatan remediasi serta mendeteksi dan menilai dampak kumulatif dari berbagai jenis pencemar (Buss et al. 2015; Faquim et al. 2021). Keberhasilan program biomonitoring sangat bergantung pada pemilihan metode, pendekatan atau desain studi yang tepat untuk mengidentifikasi pencemar utama

dan memprediksi dampaknya secara akurat. Oleh karena itu, diperlukan pemahaman yang menyeluruh terhadap perilaku, nasib (*fate*), dan efek pencemar dalam ekosistem sungai (Liu & Wang 2012).

Biomonitoring sungai umumnya dilakukan secara pasif, yaitu menganalisis struktur komunitas organisme akuatik yang secara alami hidup di lokasi pemantauan. Pendekatan ini biasanya menggunakan kelompok bioindikator, seperti makrozoobentos, ikan, fitoplankton (termasuk perifiton) atau makrofita, untuk mengevaluasi kondisi ekologis badan air. Namun, pendekatan pasif memiliki keterbatasan dalam mengontrol faktor biotik, seperti umur, jenis kelamin, ukuran tubuh, dan status fisiologis organisme, yang semuanya dapat mempengaruhi respons biologis terhadap pencemar. Variabilitas biologis ini dapat menyulitkan interpretasi hasil biomonitoring secara akurat. Selain itu, komunitas organisme akuatik juga dipengaruhi oleh faktor abiotik, seperti fluktuasi musiman, heterogenitas habitat, dan dinamika aliran sungai, yang dapat menyebabkan perubahan komposisi biologis yang signifikan. Oleh karena itu, pendekatan pasif sering dikombinasikan dengan biomonitoring aktif atau penggunaan biomarker untuk meningkatkan sensitivitas dan resolusi data dalam mendeteksi tekanan pencemar (Bonada et al. 2006; Birk et al. 2012; Kim & Choi 2017).

Pendekatan biomonitoring aktif pada ekosistem sungai dilakukan dengan cara menempatkan organisme uji, seperti kerang atau ikan, yang berasal dari lingkungan tidak tercemar atau tercemar ringan ke lokasi yang tercemar. Organisme tersebut biasanya ditempatkan dalam karamba, dan respons biologisnya dianalisis selama periode paparan tertentu (Kim & Choi 2017; Santana et al. 2018). Pendekatan ini memiliki beberapa keunggulan, antara lain: (i) mengurangi variabilitas biologis dengan menggunakan organisme uji yang telah terstandarisasi sebagai bioindikator; (ii) memberikan paparan lingkungan yang realistis, mencerminkan pengaruh gabungan berbagai faktor lingkungan, seperti suhu, pH, konduktivitas, dan fluktuasi konsentrasi pencemar; dan (iii) memungkinkan penggunaan parameter riwayat hidup, seperti kelangsungan hidup, pertumbuhan, reproduksi, dan perilaku makan, sebagai indikator toksisitas (Santana et al. 2018). Melalui biomonitoring aktif, beberapa faktor perancu, seperti ukuran,

jenis kelamin, umur organisme uji, dan waktu dan lokasi paparan, dapat dikontrol. Hal ini membantu mengurangi variabilitas data dan mempermudah interpretasi hasil (Catteau et al. 2022).

Pengembangan teknik biomonitoring berbasis kerang air tawar merupakan pendekatan yang efektif untuk memantau pencemaran dalam ekosistem akuatik. Kerang air tawar merupakan salah satu bioindikator yang banyak digunakan dalam biomonitoring sungai, karena sifatnya yang sesil, berumur panjang, bersifat *filter feeder*, dan memiliki kapasitas bioakumulasi yang tinggi. Sebagai organisme *filter feeder*, kerang mampu menyaring volume air yang besar dan secara efisien mengakumulasi berbagai jenis pencemar, termasuk logam berat, pestisida, hidrokarbon aromatik polisiklik (PAHs), dan mikroplastik, baik dari kolom air maupun partikel tersuspensi (Dvoretzky & Dvoretzky 2023). Oleh karena itu, kerang dapat menggambarkan kondisi kualitas lingkungan secara temporal maupun spasial. Spesies seperti *Sinanodonta woodiana*, *Anodonta anatina*, dan *Corbicula fluminea* telah banyak digunakan dalam studi biomonitoring di berbagai wilayah, karena distribusinya yang luas, kemudahan dalam pengambilan dan penanganan di lapangan, dan sensitivitas fisiologisnya terhadap berbagai pencemar lingkungan (Chen et al. 2019; Ukasha et al. 2024).

## **Pengembangan Multi-biomarker untuk Biomonitoring Ekosistem Sungai**

*Hadirin yang saya hormati,*

Organisme akuatik yang terpapar berbagai jenis pencemar dapat menunjukkan respons biologis pada berbagai tingkat organisasi biologis, mulai dari tingkat molekuler hingga tingkat komunitas. Oleh karena itu, respons biologis organisme telah menjadi komponen penting dalam program biomonitoring untuk mendeteksi dan mengevaluasi efek pencemar terhadap kesehatan ekosistem. Salah satu pendekatan yang umum digunakan adalah pemanfaatan biomarker, yaitu respons biologis pada tingkat molekuler, biokimia, atau seluler yang berfungsi sebagai indikator awal dan sensitif untuk mendeteksi keberadaan pencemar di lingkungan. Biomarker mencerminkan efek fungsional dari paparan pencemar dan umumnya terdeteksi pada tingkat

suborganisme. Namun, karena pencemar di ekosistem sungai umumnya hadir dalam bentuk campuran yang kompleks, penggunaan satu jenis biomarker (*single biomarker*) sering kali tidak memadai untuk memberikan diagnosis ekosistem secara komprehensif. Pendekatan multi-biomarker memungkinkan evaluasi yang lebih menyeluruh terhadap efek kumulatif dan interaktif dari campuran berbagai pencemar, dan meningkatkan sensitivitas dalam mendeteksi tekanan lingkungan (*environmental stress*). Dengan demikian, pendekatan ini dapat merepresentasikan status kesehatan ekosistem secara lebih akurat dan informatif (Dalzochio & Gehlen 2016; Gouveia et al. 2017; Santana et al. 2018; Nugroho et al. 2020).

Berbagai biomarker telah digunakan dalam biomonitoring untuk menilai kesehatan ekosistem sungai, antara lain aktivitas asetilkolinesterase (*AChE*), aktivitas enzim antioksidan seperti katalase (*CAT*) dan superoksida dismutase (*SOD*), konsentrasi metallothionein, dan tingkat kerusakan DNA (Liu and Wang 2012; Kadim and Risjani 2022; Moussa et al. 2022). Selain itu, pendekatan metabolomik—yang mencakup analisis profil menyeluruh metabolit, yaitu molekul kecil hasil proses metabolisme seperti asam amino dan asam lemak—telah diterapkan dalam studi ekotoksikologi. Metabolomik memungkinkan pengungkapan mekanisme respons metabolik yang diinduksi oleh pencemar melalui perbandingan profil metabolit antar individu atau kelompok organisme, sehingga dapat mengidentifikasi perubahan biokimiawi akibat paparan berbagai jenis kontaminan lingkungan (Chen et al. 2018).

Analisis multi-biomarker pada organisme akuatik menghasilkan kumpulan data yang besar dan kompleks, yang selanjutnya dapat diintegrasikan ke dalam indeks komposit untuk mempermudah interpretasi. Salah satu indeks yang paling umum digunakan adalah *Integrated Biomarker Response (IBR)*. Indeks ini menggabungkan data dari berbagai biomarker ke dalam representasi visual berbentuk diagram radar (*radar plot*), setiap sumbu mewakili satu jenis biomarker. Skor *IBR* menggambarkan deviasi respons biomarker pada lokasi pemantauan dibandingkan dengan lokasi referensi (kontrol). Lokasi referensi umumnya dipilih dari area yang tidak terkontaminasi atau

memiliki tingkat pencemaran yang rendah, sehingga dapat berfungsi sebagai *baseline* ekologis yang valid (Catteau et al. 2022).

Efektivitas program biomonitoring bergantung pada pemilihan biomarker yang relevan dan memiliki sensitivitas dan spesifisitas tinggi terhadap keberadaan berbagai jenis pencemar di ekosistem sungai. Oleh karena itu, biomonitoring dilakukan dengan menilai respons organisme terhadap gradien pencemaran sepanjang aliran sungai (Santana et al. 2018). Pengembangan multi-marker yang telah saya lakukan dimulai dari penelitian di laboratorium, dengan mengevaluasi penyerapan pencemar, seperti logam dan pestisida, oleh organisme, yang selanjutnya mengarah pada proses bioakumulasi. Organisme uniseluler, seperti mikroalga, merupakan komponen dasar rantai makanan di semua ekosistem akuatik. Organisme tersebut tidak hanya menjadi sumber makanan bagi organisme pada tingkat trofik lebih tinggi, tetapi juga berkontribusi pada produksi oksigen di perairan (Nugroho and Frank 2011; Nugroho et al. 2017). Pembuangan limbah mengandung logam ke badan air menyebabkan mikroalga terpapar pada berbagai jenis logam. Tembaga (Cu) dan kadmium (Cd) merupakan logam yang umum mencemari ekosistem sungai dan diketahui memiliki efek toksik terhadap organisme akuatik. Efek toksik dari kombinasi logam tersebut sering kali lebih kuat dibandingkan efek paparan logam secara individual karena potensi interaksi sinergis antar logam tersebut (Nugroho et al. 2017; Zeb et al. 2017).

Dalam penelitian mengenai akumulasi subseluler Cu dan Cd pada *Chlorella pyrenoidosa*, distribusi kedua logam tersebut dianalisis pada fraksi seluler, yaitu organel, *heat-denaturated protein (HDP)*, *metal-rich granules (MRG)*, *heat-stable proteins (HSP)*, dan *cell debris* setelah paparan selama 72 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa paparan campuran Cu dan Cd menyebabkan hambatan pertumbuhan yang lebih signifikan dibandingkan paparan kedua logam tersebut secara individual. Interaksi antara Cu dan Cd dalam campuran bersifat sinergistik terhadap mikroalga tersebut. Akumulasi dan distribusi Cu dan Cd pada paparan campuran kedua logam tersebut, terutama terdeteksi pada fraksi *MRG* dan *HSP*, yang mengindikasikan keterlibatan proses detoksifikasi logam sebagai respons terhadap peningkatan konsentrasi intraseluler Cu dan Cd. Namun, proses

detoksifikasi tersebut ternyata tidak sepenuhnya mampu menetralkan efek toksik (Nugroho et al. 2017). Akumulasi Cu dan Cd tersebut juga memicu peningkatan aktivitas enzim antioksidatif *superoxide dismutase* (SOD), sebagai sistem pertahanan sel terhadap stres oksidatif (Rahayu and Nugroho 2020).

Selain logam berat, pestisida juga merupakan pencemar yang dapat mencemari ekosistem sungai. Penggunaan pestisida secara intensif di lahan pertanian sering kali meninggalkan residu campuran berbagai bahan aktif di permukaan tanah. Residu tersebut dapat terbawa ke badan air melalui limpasan permukaan, sehingga mencemari ekosistem sungai dan berpotensi membahayakan organisme non-target. Klorpirifos dan mancozeb merupakan dua bahan aktif pestisida yang umum digunakan dalam pertanian bawang merah. Paparan campuran kedua senyawa tersebut selama 48 jam terhadap *C. sorokiniana* terbukti menyebabkan kerusakan DNA, dievaluasi menggunakan parameter tingkat fragmentasi DNA. Selain itu, paparan tersebut juga menghambat pertumbuhan mikroalga dan meningkatkan fragmentasi DNA secara signifikan, seiring dengan durasi paparan dan peningkatan konsentrasi campuran klorpirifos dan mancozeb. Temuan ini menunjukkan bahwa kerusakan DNA merupakan kandidat biomarker yang sensitif untuk mendeteksi paparan pestisida di ekosistem akuatik (Nadar and Nugroho 2022).

Pada zooplankton *Daphnia magna*, paparan individual mancozeb dan methomyl menyebabkan kerusakan DNA, baik pada individu berumur 24 jam maupun 48 jam. Tingkat kerusakan DNA hampir sama antara paparan pestisida tersebut secara individual dan campuran, dengan kerusakan DNA lebih masif seiring peningkatan konsentrasi pestisida. Kerusakan DNA *D. magna* berumur 24 jam dan 48 jam tidak berbeda secara signifikan. Peningkatan kerusakan DNA pada *D. magna*, mengindikasikan bahwa parameter ini sensitif terhadap paparan pestisida (Izdiyar et al. 2023).

Pada kerang, penelitian saya mengenai biomarker diawali dengan evaluasi efek tembaga (Cu) terhadap berbagai respons biokimiawi antioksidatif pada *A. anatina*. Organisme uji tersebut dipaparkan terhadap Cu melalui media air ( $0,3 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) dan pakan yang terkontaminasi Cu ( $40 \text{ mmol kg}^{-1}$ ) selama 24 hari. Parameter yang

dianalisis meliputi aktivitas enzim antioksidan, yaitu superoksida dismutase (*SOD*), katalase (*CAT*), *glutathione peroksidase* (*GPx*), dan *glutathione reduktase* (*GR*), konsentrasi *metallothionein* (*MT*), *glutathione* (*GSH*), dan lipid peroksidasi (*LPX*) (Nugroho and Frank 2012). Dalam penelitian tersebut, aktivitas enzim antioksidatif, dan konsentrasi *MT* dan *LPX* meningkat secara linier seiring dengan akumulasi Cu dalam organ kerang. Temuan ini mengindikasikan bahwa parameter tersebut berpotensi digunakan sebagai biomarker paparan (*exposure biomarkers*) terhadap logam berat (Nugroho and Frank 2012).

Studi pengembangan multi-biomarker yang dilakukan di laboratorium tersebut telah mengungkap hubungan signifikan antara respons biomarker pada tingkat molekuler, biokimiawi, dan fisiologis dengan tingkat pencemaran air serta menunjukkan adanya spesifisitas yang tinggi dari biomarker tertentu terhadap jenis pencemar spesifik, seperti logam berat dan pestisida. Temuan ini memberikan dasar ilmiah yang kuat untuk merancang program biomonitoring sungai berbasis pendekatan multi-biomarker, yang tidak hanya meningkatkan sensitivitas deteksi perubahan kualitas lingkungan, tetapi juga memungkinkan identifikasi dini terhadap sumber pencemar dan mekanisme toksisitasnya pada organisme akuatik.

## **Biomonitoring Aktif Ekosistem Sungai**

*Hadirin yang saya hormati,*

Pendekatan multi-biomarker dalam biomonitoring ekosistem sungai dimulai melalui studi pada Sungai Code dan Sungai Winongo di Daerah Istimewa Yogyakarta pada tahun 2022. Sebagian wilayah di sekitar aliran kedua sungai tersebut meliputi kawasan pemukiman, pertanian, dan industri. Limbah dan sampah dari berbagai aktivitas tersebut berpotensi masuk ke badan air, baik secara langsung maupun tidak langsung, dan mencemari ekosistem perairan (Sabilillah et al. 2023). Dalam program biomonitoring pasif pada tahun 2022, terdeteksi keberadaan mikroplastik dan logam kadmium (Cd) dan timbal (Pb) di perairan dan ikan di Sungai Code. Kedua logam berat tersebut juga teradsorpsi pada permukaan mikroplastik. Survei awal tahun 2023 menunjukkan bahwa konsentrasi Cu di sedimen Sungai Code berada

pada tingkat yang tinggi. Selanjutnya, pada tahun 2023, dilakukan biomonitoring aktif dengan menggunakan kerang *A. woodiana* sebagai organisme bioindikator.

Dalam biomonitoring aktif tersebut, kerang *S. woodiana* ditransplantasikan di 3 stasiun sepanjang Sungai Code, yang mewakili tingkat pencemaran sungai ringan, sedang, dan berat, selama periode paparan 28 hari. Hasil biomonitoring tersebut menunjukkan bahwa perairan Sungai Code telah tercemar mikroplastik (MP), terutama di stasiun yang berada pada wilayah padat penduduk. Konsentrasi MP dalam jaringan kerang tersebut cenderung meningkat seiring waktu paparan, mengindikasikan bahwa *S. woodiana* dapat merekam terjadinya pencemaran MP selama periode paparan. Perairan Sungai Code juga tercemar oleh logam Cu dengan konsentrasi berkisar antara 0,27-0,35 mg L<sup>-1</sup>, sedangkan dalam sedimen berkisar antara 7,02-14,74 mg kg<sup>-1</sup>. Pencemaran Cu tersebut dikonfirmasi dengan peningkatan akumulasi Cu dalam insang kerang tersebut, terutama pada awal paparan, yang diikuti dengan fluktuasi akumulasi Cu. Variasi akumulasi Cu dan MP pada insang kerang tersebut merupakan fungsi dari durasi paparan, tingkat pencemaran, perilaku makan, laju *uptake* pencemar, dan proses eliminasi. Seperti halnya Sungai Code, perairan Sungai Winongo, terutama pada wilayah yang berdekatan dengan permukiman padat, kawasan industri, dan pusat kegiatan bisnis, juga menerima masukan dari berbagai sumber pencemar. Zat pencemar tersebut kemudian terbawa oleh aliran sungai menuju wilayah hilir dan berkontribusi terhadap peningkatan luas area pencemaran di sepanjang badan sungai.

Evaluasi biomarker selama proses biomonitoring tersebut dilakukan melalui analisis aktivitas enzim antioksidatif *SOD* dan *CAT*, dan *AChE*, *MT*, dan kerusakan DNA pada insang kerang tersebut. Aktivitas *SOD* dan *CAT*, dan konsentrasi *MT* cenderung meningkat pada fase awal paparan, seiring dengan peningkatan konsentrasi Cu yang terdeteksi dalam jaringan insang kerang tersebut. Analisis *AChE* menunjukkan adanya hambatan aktivitas enzim tersebut, yang mengindikasikan kehadiran pestisida di perairan Sungai Code. Analisis kerusakan DNA menunjukkan peningkatan tingkat fragmentasi DNA selama paparan. Pendekatan multi-biomarker ini secara keseluruhan

mengindikasikan terjadinya stres oksidatif, penghambatan enzim *AChE*, induksi sintesis *MT*, dan efek genotoksik pada *A. woodiana* yang ditransplantasikan setelah 28 hari terpapar logam dan pestisida di perairan Sungai Code. Temuan ini menunjukkan bahwa sistem pertahanan biologis organisme uji tidak mampu secara optimal mengatasi efek toksik pencemar yang terakumulasi dalam organisme tersebut. Ketidakefektifan respons protektif ini menyebabkan kerusakan materi genetik, yang tercermin dalam bentuk fragmentasi DNA sebagai indikator molekuler dan kerusakan sel. Biomarker efek ini tidak hanya mencerminkan tingkat stres fisiologis akibat paparan pencemar berbahaya, tetapi juga berfungsi sebagai penanda awal yang sensitif dalam mendeteksi gangguan biologis yang berpotensi mengganggu fungsi vital dan reproduktif organisme. Dengan demikian, parameter kerusakan DNA memainkan peran penting dalam evaluasi risiko ekologis yang diakibatkan oleh pencemaran di lingkungan akuatik. Hasil analisis *IBR* menunjukkan bahwa kerusakan DNA, aktivitas *SOD* dan *CAT*, dan konsentrasi *MT* merupakan biomarker yang sensitif dan menjanjikan dalam biomonitoring ekosistem sungai. Berdasarkan analisis *multiple factor analysis (MFA)*, aktivitas *SOD*, *CAT*, dan *AChE* merupakan biomarker yang mengindikasikan terjadinya pencemaran lingkungan di Sungai Code (Ukasha et al. 2024).

## **Respons Metabolomik Kerang terhadap Pencemaran Sungai**

*Hadirin yang saya hormati,*

Salah satu pendekatan penting dalam mengevaluasi respons biomarker dalam program biomonitoring sungai adalah dengan mengidentifikasi dan mengkarakterisasi metabolit yang dihasilkan dari aktivitas metabolik organisme (Rathahao-Paris et al. 2016). Pendekatan *untargeted metabolomics* menawarkan analisis komprehensif terhadap perubahan konsentrasi relatif metabolit endogen, dan memberikan gambaran menyeluruh tentang gangguan homeostasis metabolik yang diinduksi oleh paparan pencemar lingkungan (Gauthier et al. 2018; Liu et al. 2022). Teknik *liquid chromatography–high resolution mass spectrometry (LC-HRMS)* telah digunakan secara luas untuk menganalisis profil metabolit tersebut, karena dapat mendeteksi dan menguantifikasi berbagai senyawa metabolit secara sensitif dan akurat

(Rathahao-Paris et al. 2016; Serra-Compte et al. 2019; James et al. 2023). Studi dalam bidang ekotoksikologi menunjukkan bahwa paparan terhadap pencemar, seperti logam berat, mikroplastik, dan residu farmasi melalui media akuatik, dapat mengganggu fisiologi organisme, salah satunya dengan menginduksi stres oksidatif (Machado et al. 2014; Magni et al. 2018). Stres oksidatif ini ditandai dengan peningkatan produksi spesies oksigen reaktif (*reactive oxygen species/ROS*), yang berpotensi merusak biomolekul esensial, seperti DNA, protein, dan lipid membran, dan pada akhirnya mengganggu aktivitas metabolisme seluler. Oleh karena itu, pengendalian konsentrasi *ROS* menjadi krusial dalam menjaga homeostasis seluler dan keberlangsungan fungsi biologis organisme secara keseluruhan.

Penelitian biomonitoring aktif ekosistem Sungai Winongo pada tahun 2024, telah mendapatkan profil metabolit dari insang *S. woodiana* yang tidak terpapar dan ditransplantasikan dalam karamba dengan tingkat pencemaran air Sungai Winongo ringan, sedang, dan berat, yang selanjutnya dapat merefleksikan respons metabolomik terhadap berbagai tingkat pencemaran tersebut. Jaringan insang digunakan sebagai organ target untuk analisis metabolomik pada kerang, karena insang merupakan organ pertama yang terpapar langsung dengan lingkungan sekitarnya. Hal ini memungkinkan terjadinya akumulasi berbagai pencemar. Insang juga terlibat dalam proses metabolisme penting, termasuk respirasi dan filtrasi. Aktivitas metabolisme ini dapat memberikan gambaran mengenai kesehatan dan kondisi metabolisme organisme secara keseluruhan (Lobo et al. 2010; Cappello et al. 2017; Krishnamoorthy et al. 2019; Jiang et al. 2021; Liu et al. 2022; Wei et al. 2022).

Perbedaan tingkat pencemaran di Sungai Winongo memengaruhi profil metabolit dan proteom yang diekspresikan oleh *S. woodiana*. Analisis profil metabolit pada jaringan insang menunjukkan perubahan metabolik spesifik yang bervariasi menurut lokasi dan durasi paparan, yang mengindikasikan adanya paparan toksikan dalam konsentrasi berbeda di sepanjang aliran sungai. Variasi intensitas metabolit secara signifikan terlihat antara kelompok kerang yang tidak terpapar (kontrol, tidak ditransplantasikan ke lingkungan sungai) dan kelompok yang ditransplantasikan, baik setelah 7 maupun 28 hari paparan. Beberapa

metabolit, seperti anandamida, timidina-5'-monofosfat, asam sitrat, dan ceramida (d18:1/20:0), menunjukkan pola fluktuasi temporal yang konsisten, mencerminkan respons biokimiawi terhadap stres lingkungan. Analisis *principal component analysis* (PCA) memperlihatkan pemisahan kluster yang jelas antara sampel insang kerang pada hari ke -7 dan ke-28, yang mengindikasikan adanya perbedaan profil metabolik antara individu yang terpapar pada kondisi pencemaran ringan, sedang, dan berat (Rivaldi et al. 2025).

Temuan tersebut menunjukkan bahwa sistem metabolisme *S. woodiana* mengalami perubahan adaptif maupun responsif selama periode paparan, tergantung pada intensitas dan durasi pencemaran. Oleh karena itu, paparan kontaminan di Sungai Winongo berpotensi memengaruhi homeostasis metabolik kerang secara substansial, menjadikan pendekatan metabolomik sebagai alat yang sensitif untuk mendeteksi dampak ekologis dari pencemaran air.

### **Metabolisme biomolekul**

Analisis metabolomik dalam penelitian ini mencakup evaluasi metabolisme nukleotida, asam amino, lipid, proteomik, dan aktivitas *scavenging free radicals*. Metabolisme nukleotida melibatkan proses biosintesis dan degradasi purin dan pirimidin, yang esensial dalam sintesis DNA dan RNA serta berperan sebagai prekursor dalam berbagai jalur biosintetik dan pengatur metabolisme seluler (Chandel 2021). Penelitian ini mendeteksi berbagai metabolit nukleobasa purin dan pirimidin, termasuk xantin, hipoksantin, guanin, dan adenosin. Metabolit ini menunjukkan penurunan yang signifikan dalam sintesis dan pemecahan purin pada kelompok kerang yang terpapar dibandingkan dengan kelompok kerang yang tidak terpapar. Hal ini dapat mengindikasikan bahwa jumlah metabolit tersebut tidak mencukupi untuk sintesis DNA dan RNA, sehingga berpotensi mengurangi kapasitas sel insang untuk membelah dan memperbaiki diri, yang pada akhirnya dapat berdampak pada regenerasi dan perbaikan jaringan. Secara khusus, pada jalur metabolisme purin, peningkatan intensitas (konsentrasi) deoksiadenosin terlihat pada kerang dengan tingkat paparan ringan dan berat, sedangkan pada kerang

dengan tingkat paparan sedang, mengalami penurunan. Deoksiadenosin adalah nukleosida yang terdiri dari deoksiribosa dan adenin.

Peningkatan intensitas deoksiadenosin mengindikasikan bahwa metabolisme DNA atau proses deaminasi adenosin menjadi inosin berlangsung secara aktif tanpa terpengaruh langsung oleh kondisi pencemaran air. Hal ini dikarenakan deoksiadenosin dapat terbentuk melalui *salvage pathway*, yaitu purin diperoleh kembali dari hasil degradasi nukleotida. Oleh karena itu, gangguan pada *de novo pathway* tidak akan memberikan pengaruh signifikan terhadap ketersediaan deoksiadenosin. Kondisi ini juga mengindikasikan bahwa metabolit tersebut relatif stabil dalam jalur metabolisme purin pada *S. woodiana*. Temuan ini kontras dengan penelitian Waller et al. (2023), yang melaporkan penurunan konsentrasi deoksiadenosin pada kerang *Lampsilis cardium* setelah ditransplantasikan di Mud River, Kokomo, Indiana, yang merupakan perairan tercemar, yang menerima berbagai macam sumber pencemar. Perubahan konsentrasi deoksiadenosin ini berpotensi mempengaruhi proses seluler lainnya, karena nukleotida memainkan peran penting dalam produksi energi seluler dan sintesis asam nukleat.

Penurunan konsentrasi deoksiadenosin dalam jalur metabolisme nukleotida mengindikasikan adanya pergeseran fungsional penggunaan metabolit tersebut, dari sintesis DNA/RNA menuju proses lain, seperti sintesis protein atau peningkatan aktivitas antioksidan (Yan and Zaher 2019). Pergeseran ini umumnya terjadi sebagai strategi adaptif organisme selama menghadapi stres lingkungan. Penelitian sebelumnya juga menunjukkan bahwa adenosin, senyawa prekursor deoksiadenosin, berperan sebagai molekul pensinyalan penting yang dilepaskan selama kondisi inflamasi dan stres seluler (Fredholm 2007). Selain itu, penurunan metabolit pirimidin, khususnya dTMP dan timin, yang diketahui dapat berperan sebagai biomarker stres oksidatif, juga terdeteksi. dTMP merupakan komponen penting dalam sintesis DNA, sehingga penurunan intensitasnya dapat mengindikasikan adanya gangguan dalam proses replikasi DNA, akibat kerusakan jaringan, terutama di organ sensitif seperti insang (Chon et al. 2017). Kondisi ini mencerminkan respons fisiologis kerang terhadap tekanan lingkungan,

seperti paparan pencemar, fluktuasi suhu, perubahan pH atau konsentrasi oksigen yang rendah (Erlania and Radiarta 2011).

Paparan terhadap berbagai jenis pencemar dapat mempengaruhi kemampuan kerang dalam menjalankan proses metabolisme secara normal. Beberapa penelitian terkait telah melaporkan bahwa penurunan intensitas metabolit dTMP berkaitan dengan terganggunya jalur metabolisme, karena paparan terhadap pencemar lingkungan (Krungkrai and Krungkrai 2016; Walter and Herr 2022). Gangguan ini dapat menyebabkan terbatasnya ketersediaan prekursor utama, seperti aspartat, glutamin, dan karbon dioksida, yang diperlukan dalam sintesis dTMP melalui jalur *de novo* pirimidin. Akibatnya, jaringan seperti insang menjadi lebih bergantung pada *salvage pathway*, yaitu jalur alternatif yang memanfaatkan basa bebas yang telah ada di dalam jaringan dan tidak memerlukan sintesis dari awal (Leija et al. 2016; Hartati et al. 2020; Walter and Herr 2022).

Dalam studi ini, penurunan timin terdeteksi secara signifikan pada semua sampel, kecuali pada kerang yang terpapar tingkat pencemaran sedang dan berat. Faktor lingkungan fisik-kimiawi, seperti suhu tinggi, pH air yang tidak stabil, dan konsentrasi oksigen yang rendah, diketahui mempengaruhi metabolisme kerang (Stalin et al. 2011; Waller et al. 2023). Peningkatan timin pada paparan sedang dan berat, mencerminkan respons kompensatorik terhadap stres lingkungan, yang memicu gangguan pada jalur *de novo* pirimidin. Studi sebelumnya juga melaporkan temuan serupa, pada kerang yang hidup di lingkungan tercemar berat, terutama oleh residu farmasi dan logam berat, menunjukkan peningkatan metabolit timidin dan timin sebagai bentuk adaptasi metabolik terhadap tekanan pencemar (O'Rourke et al. 2023).

Temuan tersebut menegaskan bahwa analisis metabolomik, khususnya pada jalur biosintesis nukleotida, merupakan pendekatan yang sensitif untuk mendeteksi efek toksik pencemar pada tingkat molekuler. Integrasi profil metabolit dengan biomarker konvensional berpotensi meningkatkan akurasi dan resolusi dalam program biomonitoring, terutama pada ekosistem perairan yang terpapar berbagai jenis pencemar secara simultan.

## Metabolisme asam amino

*Hadirin yang saya hormati,*

Proses sintesis dan degradasi protein merupakan bagian penting dalam metabolisme asam amino (Poortmans and Carpentier 2016). Kerang mengandalkan protein struktural dan enzimatik untuk menjalankan proses biokimiawi dan menjaga integritas jaringan insang. Dalam penelitian biomonitoring aktif ini, konsentrasi beberapa asam amino dalam insang kerang, seperti 5-aminolevulinic acid valine dan threonine, menunjukkan peningkatan. Peningkatan ini mengindikasikan adanya respons adaptif berupa penyesuaian insang untuk memastikan kelangsungan sintesis protein yang dibutuhkan dalam proses perbaikan dan pemeliharaan struktur seluler (Wang et al. 2021). Secara khusus, intensitas metabolit treonin dan valin meningkat dalam insang kerang yang terpapar pada tingkat pencemaran sedang dan berat, tetapi menurun pada kelompok kerang dengan tingkat paparan rendah, baik pada hari ke-3 maupun ke-28 paparan.

Treonin merupakan asam amino esensial yang berperan penting dalam sintesis protein, khususnya menjaga integritas struktural sel dan memberikan perlindungan terhadap stres oksidatif. Metabolit ini juga dapat digunakan sebagai indikator untuk menilai efek pencemar lingkungan yang memicu stres oksidatif pada tingkat seluler. Pencemar, seperti logam berat dan pestisida, diketahui dapat mempengaruhi konsentrasi treonin dalam organisme, sehingga metabolit tersebut dapat digunakan sebagai kandidat biomarker stres lingkungan atau paparan pencemar toksik (Dunphy et al. 2015; Tang et al. 2021).

Pada studi ini, kerang yang terpapar pada tingkat pencemaran sedang dan berat, menunjukkan peningkatan intensitas treonin, yang diinterpretasikan sebagai bentuk respons adaptif terhadap stres oksidatif dan bagian dari mekanisme detoksifikasi. Temuan ini sejalan dengan hasil penelitian Kwon et al. (2012), yang menunjukkan bahwa kerang *Mytilus edulis* yang ditransplantasikan di Teluk Onsan, daerah yang tercemar logam berat, memiliki konsentrasi treonin dan valin lebih tinggi, dibandingkan dengan kerang yang ditransplantasikan di daerah Dokdo yang dikategorikan bersih atau tidak tercemar. Selain itu, penelitian oleh Ding et al. (2023) melaporkan peningkatan konsentrasi treonin dan valin pada *Apostichopus japonicus* yang hidup di

lingkungan tercemar. Peningkatan ini diasosiasikan dengan aktivasi proses sintesis protein dan proses perbaikan sel sebagai respons adaptasi terhadap tekanan lingkungan. Berdasarkan temuan tersebut, peningkatan treonin pada *S. woodiana* dapat mencerminkan upaya mempertahankan homeostasis dan kemampuan adaptasi terhadap kondisi pencemaran yang berat.

Penelitian ini mendeteksi peningkatan kadar ornitin pada kerang, yang berperan dalam siklus urea, khususnya dalam proses detoksifikasi amonia untuk mencegah akumulasi senyawa nitrogen yang bersifat toksik. Selain itu, peningkatan kadar prolin juga terdeteksi. Prolin merupakan asam amino non-esensial yang berperan dalam sintesis kolagen dan protein struktural lainnya serta memiliki fungsi penting dalam perlindungan terhadap stres oksidatif dan perbaikan jaringan. Peningkatan konsentrasi prolin pada kerang yang terpapar pencemaran tingkat sedang hingga berat mengindikasikan adanya respons fisiologis terhadap stres lingkungan, termasuk aktivasi proses detoksifikasi dan regenerasi jaringan, khususnya pada insang. Studi oleh Dunphy et al. (2015) menunjukkan bahwa peningkatan kadar prolin ini dapat dihubungkan dengan paparan logam berat dan pestisida. Oleh karena itu, prolin berpotensi digunakan sebagai biomarker stres fisiologis pada kerang yang hidup di lingkungan tercemar seperti aliran Sungai Winongo.

Peningkatan konsentrasi asam amino tertentu, seperti treonin, valin, ornitin, dan prolin, pada insang *S. woodiana* mencerminkan respons metabolik terhadap stres lingkungan akibat pencemaran. Pola perubahan ini menunjukkan aktivasi proses detoksifikasi, perbaikan jaringan, dan adaptasi fisiologis. Dengan demikian, asam amino tersebut berpotensi digunakan sebagai kandidat biomarker untuk memantau dampak pencemar pada ekosistem perairan.

### **Metabolisme lipid**

Lipid berperan penting dalam struktur dan fungsi sel, seperti dalam pensinyalan sel, penyimpanan energi, dan menjaga integritas membran sel (Yoon et al. 2021; Moreau and Bayer 2023). Dalam penelitian biomonitoring ini, analisis metabolisme lipid telah mengidentifikasi keberadaan asam lemak tak jenuh ganda

(*polyunsaturated fatty acid, PUFA*), mencakup *specialized pro-resolving lipid mediators (SPMs)*, yang berperan sebagai mediator inflamasi. Menurut Rasquel-Oliveira et al. (2023), *SPMs* dibagi menjadi empat kategori: lipoksin (LX), resolvin (Rv), maresin (MaR), dan protektin (PD). Salah satu jenis lipoksin, yaitu lipoksin B4 (LXB4) terdeteksi di seluruh sampel jaringan insang kerang tersebut. LXB4 berperan dalam mengatasi proses inflamasi, mengembalikan kondisi fisiologis ke keadaan normal, dan berpotensi mencegah terjadinya peradangan kronis. Namun, hanya sedikit informasi mengenai mekanisme perlindungan LXB4 pada jaringan insang kerang. Identifikasi keterlibatan aspirin dalam sintesis *SPMs*, khususnya dalam jalur pembentukan lipoksin (LXA4 dan LXB4), dan terdeteksinya kelompok metabolit leukotrien dan prostaglandin sebagai mediator pro-inflamasi untuk pembentukan *SPMs*, menunjukkan bahwa proses biosintesis *SPMs* berlangsung aktif pada jaringan insang *S. woodiana*. Mengingat bahwa kerang tersebut merupakan organisme *filter feeder* yang memperoleh makanan dengan menyaring air melalui insang, LXB4 diduga berkontribusi dalam sistem pertahanan hewan dengan menstimulasi kekebalan seluler pada insang dan membantu mengidentifikasi dan menetralkan partikel pencemar yang masuk ke dalam tubuh.

Pada penelitian biomonitoring ini, kerang yang terpapar dengan tingkat pencemaran sedang dan berat mempunyai konsentrasi LXB4 yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kerang yang tidak terpapar. Namun, kerang yang terpapar dengan tingkat pencemaran sedang menunjukkan konsentrasi LXB4 yang paling tinggi, dengan lama paparan 7 hari. LXB4 diketahui memiliki antioksidan dan anti-inflamasi, sehingga peningkatan konsentrasi LXB4 mengindikasikan adanya kontaminasi di ekosistem Sungai Winongo dan peningkatan stres oksidatif pada jaringan insang (Karra et al. 2015; Ye et al. 2019).

Penelitian ini juga mengidentifikasi keberadaan LysoPC (17:0) dan lysophosphatidylcholine (LPC) sebagai bagian dari jalur metabolisme lipid. Konsentrasi LysoPC (17:0) meningkat secara signifikan pada jaringan insang kerang tersebut yang terpapar pencemar pada tingkat pencemaran sedang dan berat, khususnya antara hari ke-7 hingga ke-28 paparan, tetapi menurun secara signifikan pada kerang

dengan tingkat paparan ringan selama periode yang sama. Berdasarkan studi sebelumnya, peningkatan LysoPC (17:0) mengindikasikan tingginya aktivitas metabolik yang berkaitan dengan respons kerang terhadap paparan pencemar, termasuk perannya sebagai mediator dalam proses inflamasi dan pemulihan jaringan.

Konsentrasi glutathione (GSH) dan karnitin meningkat secara signifikan pada kerang yang terpapar tingkat pencemaran sedang dan berat, baik pada hari ke-7 maupun ke-28 paparan. Peningkatan ini mencerminkan peningkatan transportasi asam lemak ke mitokondria untuk proses  $\beta$ -oksidasi, yang mengindikasikan bahwa lipid digunakan sebagai sumber energi utama dalam kondisi stres. Peran antioksidatif L-karnitin dan GSH telah dikonfirmasi pada berbagai spesies kerang (Danielli et al. 2017). Keberadaan senyawa antioksidan tersebut menunjukkan adanya respons biologis adaptif terhadap stres oksidatif. Hal ini sesuai dengan hipotesis bahwa stres oksidatif meningkat pada jaringan insang kerang yang terpapar aliran tercemar, yang dikonfirmasi oleh peningkatan aktivitas *scavenging* DPPH dan ABTS pada insang *S. woodiana*.

Temuan tersebut menunjukkan bahwa metabolit lipid seperti LXB4, LysoPC (17:0), karnitin, dan GSH memainkan peran penting dalam respons inflamasi dan antioksidatif *S. woodiana* terhadap pencemaran Sungai Winongo. Peningkatan konsentrasi metabolit tersebut, khususnya pada tingkat paparan sedang hingga berat, menandakan aktivasi mekanisme perlindungan seluler terhadap stres oksidatif, dan memperkuat potensi biomarker lipid sebagai indikator sensitif dalam studi biomonitoring ekosistem perairan yang tercemar.

## Respons proteomik

*Hadirin yang saya muliakan,*

Beberapa studi sebelumnya telah mengidentifikasi biomarker protein spesifik pada jaringan insang kerang, antara lain *actin*, *antimicrobials* (AMPs), *heat shock protein* (HSPs), *metallothioneins* (MTs), *cytochrome P450 enzyme*, *ferritin*, *glutathione S-transferase* (GST), *transferrin*, dan *superoxide dismutase* (SOD). Biomarker tersebut digunakan untuk mengevaluasi aspek fisiologi kerang dan respons imun kerang terhadap stres lingkungan dan paparan patogen

(Campos et al. 2013; Giarratano et al. 2014). Analisis *untargeted proteomic* memungkinkan identifikasi profil protein secara menyeluruh (Manes and Nita-Lazar 2018; Windarsih et al. 2022). Dalam penelitian ini, analisis proteom menggunakan *LC-HRMS* mengungkap bahwa  $\beta$ -Actin merupakan satu-satunya peptida yang terdeteksi.  $\beta$ -actin adalah protein globular multifungsi yang terlibat dalam berbagai aktivitas fisiologis, termasuk migrasi sel, transportasi membran, sistem imun, dan pemeliharaan sitoskeleton (Yanuhar and Khumaidi 2017). Kehadiran beragam peptida dalam  $\beta$ -aktin mencerminkan kemampuan adaptif protein ini terhadap perubahan kondisi lingkungan. Peptida  $\beta$ -actin terdeteksi pada semua sampel insang kerang, baik yang tidak terpapar maupun terpapar, mengonfirmasi peran penting peptida tersebut dalam fungsi dasar seluler kerang *S. woodiana*. Urutan peptida khas  $\beta$ -actin yang teridentifikasi pada *S. woodiana*, yaitu SYELPDGQVITIGNER, TTGIVLDSGDGVTHTVPIYEGYALPHAIMR, dan VAPEEHPVLLTEAPLNPK. Keragaman profil peptida antara kelompok kerang terpapar dan tidak terpapar menunjukkan bahwa pencemaran Sungai Winongo memicu perubahan ekspresi protein. Variasi dalam urutan peptida yang terdeteksi, memperkuat indikasi adanya respons proteomik terhadap kondisi lingkungan yang berbeda.

Peptida  $\beta$ -actin yang terdeteksi pada kerang *S. woodiana* dengan tingkat paparan ringan menunjukkan respons yang relatif stabil selama periode paparan. Cakupan (%) peptida ini tetap konsisten, terdiri dari lima peptida dengan total cakupan 23%, dibandingkan dengan kerang yang tidak terpapar, yang hanya memiliki tiga peptida dengan cakupan 17%. Sebaliknya, pada kerang yang terpapar tingkat pencemaran sedang dan berat, terdeteksi 8 peptida  $\beta$ -actin dengan cakupan 34%, menunjukkan respons ekspresi yang lebih tinggi terhadap kondisi stres lingkungan. Studi sebelumnya oleh Bultelle et al. (2021) melaporkan bahwa peningkatan cakupan protein  $\beta$ -actin berkaitan dengan stres termal, yang menginduksi peningkatan ekspresi protein tersebut untuk mendukung fungsi silia, filtrasi, dan proses pernapasan di jaringan insang kerang. Temuan ini memperkuat indikasi bahwa peningkatan tingkat pencemaran di Sungai Winongo dapat mempengaruhi cakupan peptida  $\beta$ -actin, yang cenderung meningkat pada individu kerang yang

mengalami stres fisiologis (David et al. 2005). Oleh karena itu, cakupan peptida  $\beta$ -actin dapat berfungsi sebagai indikator potensial dalam studi biomonitoring berbasis proteomik pada organisme akuatik.

Perbandingan antara profil *total ion chromatogram* (*TIC*) antara jaringan insang kerang *S. woodiana* yang tidak terpapar dan terpapar pada hari ke-28, menunjukkan variasi respons proteomik akibat perbedaan tingkat pencemaran. Perubahan intensitas dalam profil *TIC* ini berkaitan dengan variasi jumlah peptida yang berasal dari protein  $\beta$ -actin, yang merupakan satu-satunya protein yang terdeteksi. Meskipun terdapat variasi dalam intensitas puncak dan area di bawah kurva *TIC*, variasi tersebut tidak signifikan secara statistik antar kelompok, mengindikasikan bahwa respons proteomik secara umum relatif stabil.

Hasil tersebut menunjukkan bahwa  $\beta$ -actin merupakan protein utama yang terekspresi secara konsisten pada insang *S. woodiana*, dan variasi jumlah peptida yang teridentifikasi mencerminkan respons adaptif terhadap paparan pencemar di Sungai Winongo. Meskipun terdapat perubahan cakupan peptida dan intensitas sinyal dalam *TIC*, kestabilan ekspresi  $\beta$ -actin menunjukkan bahwa protein ini berperan penting sebagai biomarker struktural dan fungsional dalam menghadapi stres di ekosistem akuatik.

### ***Free radical scavenging activities***

*Hadirin yang berbahagia,*

Pencemaran perairan sungai oleh berbagai pencemar dapat memicu stres oksidatif pada organisme akuatik. Stres ini terjadi akibat peningkatan *ROS* yang melebihi kapasitas sistem antioksidan alami dalam tubuh organisme. Sel memiliki mekanisme pertahanan antioksidatif untuk mengurangi atau menetralkan efek *ROS*. Antioksidan bekerja dengan mentransfer elektron kepada *ROS*, sehingga mengubah *ROS* menjadi senyawa tidak berbahaya dan mengurangi kerusakan oksidatif dalam proses biologis (Gulcin 2020; He et al. 2022). Salah satu respons biologis yang penting dalam menghadapi stres oksidatif adalah aktivitas *free radical scavenging*, yaitu kemampuan organisme menetralkan radikal bebas guna mencegah kerusakan biomolekul vital seperti DNA, protein, dan lipid.

Molekul  $\alpha,\alpha$ -diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) merupakan senyawa radikal bebas yang stabil dan umum digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan. Senyawa ini berfungsi sebagai reagen untuk mengukur kemampuan suatu sampel dalam menangkalkan radikal bebas, yang menjadi indikator aktivitas antioksidan atau efektivitas senyawa antioksidan dalam menetralkan radikal bebas. 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS), dalam kondisi tertentu, dapat dioksidasi menjadi bentuk radikal bebas dan juga sering digunakan dalam penelitian untuk mengukur aktivitas antioksidan. DPPH dan ABTS dianggap sebagai garis pertahanan pertama dalam mengevaluasi kemampuan antioksidan, baik polar maupun non-polar, dalam mendonorkan elektron atau hidrogen, untuk menetralkan radikal bebas, sehingga mencegah kerusakan oksidatif (Patil et al. 2015; Embuscado 2015; Torres et al. 2018).

Beberapa penelitian sebelumnya telah mengungkapkan bahwa kerang memiliki aktivitas antioksidan yang signifikan (Mamelona et al. 2010; Esmat et al. 2013; Pachaiyappan et al. 2014). Uji aktivitas *radical scavenging*, seperti DPPH dan ABTS, secara luas digunakan untuk mengevaluasi kapasitas antioksidan pada organisme akuatik. Dalam penelitian biomonitoring aktif ini, pengukuran aktivitas *scavenging* DPPH dan ABTS pada hari ke-3 bertujuan untuk mengungkapkan respons antioksidan fase awal, yang mencerminkan aktivasi cepat senyawa atau enzim antioksidan sebagai bentuk adaptasi awal kerang terhadap perubahan lingkungan. Pada semua organ, aktivitas *scavenging* DPPH pada hari ketiga menunjukkan peningkatan yang signifikan dibandingkan dengan kerang yang tidak dipapar. Pada tingkat paparan rendah, aktivitas DPPH cenderung lebih tinggi pada insang dan kelenjar pencernaan dibandingkan dengan tingkat paparan sedang dan tinggi. Namun, pada hari ke -28, aktivitas DPPH pada insang dan mantel cenderung lebih tinggi pada kelompok paparan sedang dan tinggi dibandingkan dengan kerang yang tidak terpapar maupun paparan rendah. Aktivitas DPPH pada insang dan mantel kerang pada tingkat paparan rendah menunjukkan penurunan selama 28 hari paparan, kecuali pada kelenjar pencernaan. Sebaliknya, pada tingkat paparan sedang dan tinggi, aktivitas DPPH pada semua organ cenderung meningkat pada hari ke-28.

Selain itu, aktivitas *scavenging* ABTS pada hari ketiga menunjukkan perubahan yang signifikan dibandingkan dengan kerang yang tidak dipapar pada semua tingkat pencemaran. Pada tingkat paparan rendah, aktivitas ABTS cenderung lebih tinggi pada insang dan kelenjar pencernaan dibandingkan dengan tingkat paparan sedang dan tinggi. Pada hari ke-28, aktivitas ABTS pada kelompok paparan rendah menunjukkan penurunan pada insang dan mantel, tetapi mengalami peningkatan yang signifikan pada kelenjar pencernaan dibandingkan dengan hari ketiga. Sementara itu, kerang yang terpapar pada tingkat paparan sedang dan tinggi menunjukkan peningkatan aktivitas ABTS pada hari ke -28.

Paparan logam berat seperti Cu, Fe, Cd, Pb, dan pencemar kimia lainnya dari limbah industri dan domestik dapat menyebabkan peningkatan aktivitas *scavenging* DPPH (Garg and Yadav 2015; Abdel-Mohsen et al. 2024). Berdasarkan temuan tersebut, peningkatan aktivitas DPPH dalam studi ini mengindikasikan kehadiran pencemar pada perairan Sungai Winongo. Aktivitas ABTS yang berfluktuasi pada kerang, tergantung pada organ, tingkat pencemaran, dan durasi paparan, menggambarkan kemampuan fisiologis kerang dalam menangkap radikal bebas. Hal ini mencerminkan ketahanan sistem antioksidan kerang terhadap stres oksidatif. Secara umum, kerang menyaring pencemar melalui insang, kemudian terdistribusi ke seluruh organ, terutama menuju kelenjar pencernaan. Proses ini menyebabkan akumulasi pencemar pada organ tersebut. Oleh karena itu, aktivitas penangkap radikal bebas tertinggi, baik untuk ABTS maupun DPPH, ditemukan pada kelenjar pencernaan, yang berfungsi sebagai organ utama untuk akumulasi dan detoksifikasi senyawa toksik (Faggio et al. 2018). Penelitian sebelumnya juga menunjukkan bahwa peningkatan aktivitas *scavenging* DPPH dapat menetralkan radikal bebas, menjadikannya kurang berbahaya atau tidak berbahaya. Aktivitas ini berperan dalam menghentikan reaksi berantai radikal, yaitu serangkaian reaksi kimia yang melibatkan radikal bebas dan sering menjadi penyebab kerusakan sel dan stres oksidatif (Wang et al. 2013, 2019).

Studi ini mengidentifikasi ethyl eicosapentaenoic acid and 4 - methoxycinnamic acid, yang meningkat pada jaringan kerang di semua tingkat pencemaran. Ethyl eicosapentaenoic acid (EPA), merupakan

asam lemak omega-3, yang diketahui memiliki sifat antioksidan dan mampu menetralkan radikal bebas. EPA dapat meningkatkan kemampuan penangkalan radikal oleh DPPH dan ABTS, sehingga memperkuat perlindungan sel terhadap kerusakan oksidatif. Sementara itu, 4-methoxycinnamic acid, turunan dari asam sinamat, adalah asam fenolik alami yang memiliki berbagai efek biologis, termasuk perlindungan saraf dan aktivitas antikanker (Wang et al. 2023). Kedua metabolit ini berkontribusi terhadap peningkatan aktivitas penangkap radikal bebas dengan meningkatkan aktivitas DPPH dan ABTS, yang pada akhirnya mendukung kapasitas antioksidan total dalam jaringan kerang. Hal ini sejalan dengan temuan meningkatnya aktivitas *scavenging* DPPH dan ABTS pada semua jaringan kerang.

## Penutup

Studi ini memberikan bukti kuat mengenai dampak signifikan berbagai tingkat pencemaran terhadap respons metabolomik dan proteomik pada *S. woodiana* di Sungai Winongo. Biomonitoring aktif yang dilakukan dengan pendekatan metabolomik, mengungkap perbedaan profil metabolomik *S. woodiana* antar tingkat pencemaran. Peningkatan cakupan protein  $\beta$ -actin mengindikasikan respons seluler terhadap stres lingkungan akibat pencemaran. Temuan ini menunjukkan bahwa metabolit spesifik dalam jaringan insang kerang berpotensi sebagai biomarker dalam program biomonitoring ekosistem sungai. Konsentrasi beberapa metabolit, seperti anandamida, timidin 5' - monofosfat, asam sitrat, anandamida, ceramide, threonin, dan LysoPC, menunjukkan peningkatan atau penurunan konsentrasi yang linier seiring dengan perubahan kualitas air, mendukung fungsinya sebagai indikator biologis. Selain itu, peningkatan aktivitas *scavenging* DPPH dan ABTS pada jaringan kerang mencerminkan peningkatan kapasitas antioksidan sebagai respons terhadap paparan pencemaran.

Pendekatan multi-biomarker untuk biomonitoring ekosistem sungai merupakan strategi terpadu yang memungkinkan evaluasi efek pencemar secara holistik, mencakup tingkat molekuler, seluler, hingga fisiologis pada organisme akuatik. Pendekatan ini mengintegrasikan berbagai indikator biologis, seperti aktivitas enzim antioksidan, biomarker neurotoksisitas, stres oksidatif, kerusakan DNA, dan

perubahan profil metabolit, sehingga mampu memberikan informasi yang lebih akurat, sensitif, dan dini, dibandingkan metode konvensional. Penggunaan organisme indikator, seperti *S. woodiana*, memungkinkan pemantauan pencemaran secara *real-time* yang mencerminkan kondisi lingkungan aktual. Selain mendeteksi keberadaan pencemar, pendekatan ini juga berperan dalam memprediksi risiko ekologis jangka panjang terhadap biodiversitas dan stabilitas ekosistem akuatik. Dengan demikian, pendekatan multi-biomarker tidak hanya berfungsi sebagai alat deteksi dini terhadap gangguan ekosistem sungai, tetapi juga sebagai landasan ilmiah penting dalam perumusan kebijakan pengelolaan lingkungan yang berkelanjutan. Strategi ini mendukung upaya konservasi sumber daya air dan keanekaragaman hayati serta berkontribusi terhadap pencapaian Tujuan Pembangunan Berkelanjutan (*SDGs*), khususnya Tujuan (kehidupan di bawah air) dan Tujuan 17 (kemitraan untuk mencapai tujuan).

## Ucapan Terima Kasih

*Hadirin yang saya hormati,*

Dalam kesempatan yang berbahagia ini, saya sebagai pribadi, menyampaikan ucapan terima kasih kepada Pemerintah Republik Indonesia melalui Kementerian Pendidikan Tinggi, Sains, dan Teknologi, yang telah memberikan kepercayaan kepada saya sebagai Guru Besar dalam bidang Ekotoksikologi di Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada. Ucapan terima kasih, saya sampaikan kepada Rektor Universitas Gadjah Mada beserta jajarannya, Senat Akademik, Dewan Guru Besar, yang telah memproses dan menyetujui pengangkatan saya sebagai Guru Besar.

Ucapan terima kasih kepada Ketua Senat Fakultas Biologi UGM periode 2018-2024, Prof. Dr. Suwarno Hadisusanto, dan Dekan Fakultas Biologi UGM, Prof. Dr. Budi Setiadi Daryono, M.Agr.Sc., beserta jajarannya, khususnya Departemen Biologi Tropika dan Unit SDM, yang telah mendukung dan membantu selama proses pengusulan guru besar saya serta Prof. Dr. Issirep Sumardi, yang telah memproses pengangkatan saya sebagai dosen di Fakultas Biologi UGM.

Dengan penuh hormat, saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Bapak/Ibu Guru saya, mulai dari pendidikan dasar, menengah, dan tinggi, atas segala ilmu, bimbingan, dan dedikasi yang telah diberikan selama ini. Semoga segala kebaikan dan ketulusan Bapak/Ibu dibalas dengan keberkahan yang berlimpah. Terima kasih telah menjadi bagian penting dalam perjalanan pendidikan saya.

Ucapan terima kasih yang tulus, saya sampaikan kepada Prof. Dra. Sukarti Moeljopawiro, M.App.Sc., Ph.D., dosen pembimbing Skripsi saya, yang telah membimbing dalam menyelesaikan Skripsi bidang Biokimia dan memberikan teladan kehidupan dan kesahajaan beliau sebagai dosen. Ucapan terima kasih kepada almarhum Dr. Noorsalam Rahman Nganro, M.Sc., pembimbing Tesis saya saat tugas belajar program magister bidang Ekologi di Institut Teknologi Bandung. Ucapan terima kasih yang tulus kepada Prof. Dr. Hartmut Frank, pembimbing saya selama tugas belajar program doktor bidang Ekotoksikologi di Universitaet Bayreuth, Jerman, atas bimbingan, segala kebaikan, keteladanan hidup, dan kesahajaan serta sosok orang tua.

Dengan segala kerendahan hati, saya menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar- besarnya kepada senior saya di Laboratorium Ekologi dan Konservasi, Fakultas Biologi UGM, almarhum Prof. Dr. Shalihuddin Djalal Tandjung, M.Sc., Prof. Dr. Jusup Subagja, M.Sc., Prof. Dr. Tjut Sugandawaty Djohan, M.Sc., Prof. Dr. Suwarno Hadisusanto, dan almarhumah Dr. Retno Peni Sancayaningsih, M.Sc. serta Pak Suyanto dan Pak Suyono. Kepada rekan saya yang masih aktif di Laboratorium Ekologi dan Konservasi, Siti Nurleily Marliana, S.Si., M.Sc., Ph.D., Akbar Reza, S.Si., M.Sc., Mukhlis Jamal Musa Holle, S.Si., M.Env.Sc., D.Phil., dan Pak Tukijan, saya ucapkan terima kasih atas kebersamaan dan kerja samanya.

Terima kasih yang tulus saya haturkan kepada Prof. Dr. Budi Setiadi Daryono, M.Agr.Sc., Prof. Dr. Endang Semiarti, M.S., M.Sc., dan Prof. Dr. L. Hartanto Nugroho, M.Agr., atas kesediaannya mereview naskah pidato pengukuhan ini.

Ucapan terima kasih juga saya sampaikan kepada seluruh sivitas akademika Fakultas Biologi UGM atas kebersamaan dan pertemanan yang tulus selama ini serta kepada para mahasiswa bimbingan saya,

yang tidak dapat saya sebutkan satu per satu, atas kepercayaan, kerja keras, dan semangat belajar yang luar biasa selama proses pembimbingan. Setiap diskusi, tantangan, dan pencapaian bersama menjadi bagian yang berharga dalam perjalanan akademik kita. Semoga ilmu dan pengalaman yang diperoleh menjadi bekal yang bermanfaat di masa depan. Terima kasih yang tulus juga saya sampaikan kepada teman dan sahabat saat menempuh studi di SMP Negeri 1 Karanganyar, SMA Negeri 1 Karanganyar, dan Program Sarjana Fakultas Biologi UGM (angkatan 1994), atas persahabatan yang penuh warna dan doa yang saling menguatkan. Pada kesempatan ini, saya juga mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada rekan-rekan di Seksi Akademik dan Kemahasiswaan, yang telah kebersamai dan mendukung saya selama lebih dari 15 tahun.

Saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada orang tua saya tercinta, almarhum Drs. Poerjanto Sastrosemito dan almarhumah Dra. Tri Susialisasi, M.M., atas segala cinta, doa, pengorbanan, dan dukungan yang tiada henti. Tanpa restu dan ketulusan kalian, saya tidak akan sampai pada titik ini. Semoga pencapaian ini menjadi bentuk kecil dari rasa hormat dan balas budi saya kepada kalian. Terima kasih setulus-tulusnya kepada adik saya, H. Permata Ariyanto Nugroho, S.E., M.M. dan Wibawa Andriyanto Nugroho, S.Kom., yang selalu kebersamai dan mendukung selama perjalanan hidup saya. Rasa terima kasih yang mendalam, saya ucapkan kepada mertua saya, Prof. Dr. Suratman, M.Sc. dan Dra. Sri Subekti Handayani, juga kepada saudara ipar saya, Novi Pramesti, S.E., M.Si., Ade Novalia Susanti, S.Tr.RMIK., Dr. rer. nat. Herlan Darmawan, M.Sc., dr. Fadlilla Fitriani, M.Sc., Sp.PD., Yoga Darmajati, S.T., M.Sc., dan Lia Rahmawati, S.K.G. Ucapan terima kasih juga saya sampaikan kepada keluarga besar Donoharjo, Sastrosemito, Toto Wiryono, dan Tono Sumarto.

Kepada istri tercinta Sari Darmasiwi, S.Si., M.Biotech., Ph.D. dan ananda Haqqi Adhirajasa Nugroho, kehadiran kalian adalah sumber semangat dan kekuatan dalam setiap langkah hidup saya. Terima kasih atas kesabaran, cinta, dan doa yang selalu kalian berikan. Capaian ini adalah milik kita bersama.

Demikian yang bisa saya sampaikan kepada para hadirin yang saya muliakan dan mohon maaf apabila tutur kata dan sikap yang kurang berkenan dari saya selama ini.

*Wassalamu'alaikum warrohmatullahi wabarakatuh*

## REFERENSI

- Abdel-Mohsen HA, Ismail MM, Moussa Moussa R (2024) Hazardous impacts of heavy metal pollution on biometric and biochemical composition of pearl oyster *Pinctada radiata* from five sites along Alexandria coast, with reference to its potential health risk assessment. *Environ Sci Poll Res* 31:23262 –23282. <https://doi.org/10.1007/s11356-024-32571-z>
- Basuki TM, Indrawati DR, Nugroho HYSH, et al (2024) Water Pollution of Some Major Rivers in Indonesia: The Status, Institution, Regulation, and Recommendation for Its Mitigation. *Pol J Environ Stud* 33:3515 –3530
- Bonada N, Prat N, Resh VH, Statzner B (2006). Developments in aquatic insect biomonitoring: A comparative analysis of recent approaches. *Annu Rev Entomol* 51:495–523. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.51.110104.151124>
- Birk S, Bonne W, Borja A, et al (2012) Three hundred ways to assess Europe's surface waters: An almost complete overview of biological methods to implement the Water Framework Directive. *Ecol Indic* 18:31–41. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2011.10.009>
- Brettschneider DJ, Misovic A, Schulte-Oehlmann U, et al (2019) Detection of chemically induced ecotoxicological effects in rivers of the Nidda catchment (Hessen, Germany) and development of an ecotoxicological, Water Framework Directive –compliant assessment system. *Environ Sci Eur* 31:1-22. <https://doi.org/10.1186/s12302-019-0190-4>
- Bultelle F, Boutet I, Devin S, et al (2021) Molecular response of a sub-antarctic population of the blue mussel (*Mytilus edulis platensis*) to a moderate thermal stress. *Mar Environ Res* 169:1-11. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2021.105393>
- Buss DF, Carlisle DM, Chon TS, et al (2015) Stream biomonitoring using macroinvertebrates around the globe: a comparison of large-scale programs. *Environ Monit Assess* 187:1-21. <https://doi.org/10.1007/s10661-014-4132-8>

- Campos A, Puerto M, Prieto A, et al (2013) Protein extraction and two-dimensional gel electrophoresis of proteins in the marine mussel *Mytilus galloprovincialis*: An important tool for protein expression studies, food quality and safety assessment. *J Sci Food Agric* 93:1779–1787. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5977>
- Cappello T, Maisano M, Mauceri A, Fasulo S (2017) 1H NMR-based metabolomics investigation on the effects of petrochemical contamination in posterior adductor muscles of caged mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Ecotoxicol Environ Saf* 142:417–422. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.04.040>
- Catteau A, Porcher JM, Bado-Nilles A, et al (2022) Interest of a multispecies approach in active biomonitoring: Application in the Meuse watershed. *Sci Total Environ* 808:152148. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.152148>
- Chandel NS (2021) Nucleotide metabolism. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 13:1–17. <https://doi.org/10.1101/CSHPERSPECT.A040592>
- Chen H, Diao X, Wang H, Zhou H (2018) An integrated metabolomic and proteomic study of toxic effects of Benzo[a]pyrene on gills of the pearl oyster *Pinctada martensii*. *Ecotoxicol Environ Saf* 156:330–336. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.03.040>
- Chen X, Su Y, Liu H, Yang J (2019) Active biomonitoring of metals with cultured *Anodonta woodiana*: a case study in the Taihu Lake, China. *Bull Environ Contam Toxicol* 102:198–203. <https://doi.org/10.1007/s00128-018-2482-6>
- Chon J, Stover PJ, Field MS (2017) Targeting nuclear thymidylate biosynthesis. *Mol Aspects Med* 53:48–56. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2016.11.005>
- Dalzochio T, Gehlen G (2016) Confounding factors in biomonitoring using fish. *Ecotox Environ Contam* 11:53–61. <https://doi.org/10.5132/eec.2016.01.08>
- Danielli NM, Trevisan R, Mello DF, et al (2017) Upregulating Nrf2 - dependent antioxidant defenses in Pacific oysters *Crassostrea gigas*: Investigating the Nrf2/Keap1 pathway in bivalves. *Comp Biochem Physiol C* 195:16–26. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2017.02.004>

- David E, Tanguy A, Pichavant K, Moraga D (2005) Response of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* to hypoxia exposure under experimental conditions. *FEBS Journal* 272:5635–5652. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2005.04960.x>
- Ding K, Xu Q, Zhang X, Liu S (2023) Metabolomic insights into neurological effects of BDE-47 exposure in the sea cucumber *Apostichopus japonicus*. *Ecotoxicol Environ Saf* 266:. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.115558>
- Dunphy BJ, Watts E, Ragg NLC (2015) Identifying thermally -stressed adult green-lipped mussels (*Perna canaliculus* Gmelin, 1791) via metabolomic profiling. In: *American Malacological Bulletin*. American Malacological Society
- Dvoretzky AG, Dvoretzky VG (2023) Shellfish as biosensors in online monitoring of aquatic ecosystems: a review of russian studies. *Fishes* 8:1 –34. <https://doi.org/10.3390/fishes8020102>
- Embuscado ME (2015) Spices and herbs: Natural sources of antioxidants - A mini review. *J Funct Foods* 18:811–819. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.03.005>
- Erlania, Radiarta IN (2011) Kondisi kualitas perairan di Teluk Lada, Pandeglang Provinsi Banten untuk mendukung budidaya kerang hijau (*Perna viridis*). *Jurnal Riset Akuakultur* 6(3):507-519
- Esmat AY, Said MM, Soliman AA, et al (2013) Bioactive compounds, antioxidant potential, and hepatoprotective activity of sea cucumber (*Holothuria atra*) against thioacetamide intoxication in rats. *Nutrition* 29:258–267. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2012.06.004>
- Faggio C, Tsarpali V, Dailianis S (2018) Mussel digestive gland as a model tissue for assessing xenobiotics: An overview. *Sci Total Environ* 636:220–229. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.264>
- Faquim RCP, Machado KB, Teresa FB, et al (2021) Shortcuts for biomonitoring programs of stream ecosystems: Evaluating the taxonomic, numeric, and cross -taxa congruence in phytoplankton, periphyton, zooplankton, and fish assemblages. *PLoS One* 16: 1-20. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0258342>

- Fredholm BB (2007) Adenosine, an endogenous distress signal, modulates tissue damage and repair. *Cell Death Differ* 14:1315 – 1323. <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4402132>
- Garg A, Yadav H (2015) Impacts of Air Pollution on Human Health, Plant and Vegetation. *IJAEMS* 1(2): 13-15
- Gauthier PT, Evenset A, Christensen GN, et al (2018) Lifelong exposure to PCBs in the remote norwegian arctic disrupts the plasma stress metabolome in Arctic Charr. *Environ Sci Technol* 52:868–876. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b05272>
- Giarratano E, Gil MN, Malanga G (2014) Biomarkers of environmental stress in gills of ribbed mussel *Aulacomya atra atra* (Nuevo Gulf, Northern Patagonia). *Ecotoxicol Environ Saf* 107:111–119. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.05.003>
- Gouveia D, Chaumot A, Charnot A, et al (2017) Ecotoxic -Proteomics for Aquatic Environmental Monitoring: First in Situ Application of a New Proteomics -Based Multibiomarker Assay using Caged Amphipods. *Environ Sci Technol* 51:13417–13426. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b03736>
- Gulcin İ (2020) Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Arch Toxicol* 94:651–715. <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3>
- Hartati ST, Prihatiningsih, Nugraha B (2020) Perubahan bentuk jaringan biota terdegradasi (kerang hijau, rajungan, dan beronang) di Perairan Kamal dan Cilincing, Teluk Jakarta. *Jurnal Riset Jakarta* 13:81-94. <https://doi.org/10.37439/jurnaldrd.v13i2.18>
- He X, Xue J, Shi L, et al (2022) Recent antioxidative nanomaterials toward wound dressing and disease treatment via ROS scavenging. *Mater Today Nano* 17 : 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.mtnano.2021.100149>
- Izdihar RNT, Perdana DA, Alwaini F, **Nugroho AP** (2023) Individual and combined effects of pesticides with active ingredients of mancozeb and methomyl on the DNA damage of *Daphnia magna* (Straus, 1820; Cladocera, Daphniidae). *Environ Nat Resour J* 21:333-344. <https://doi.org/10.32526/ennrj/21/20230036>

- James L, Gomez E, Ramirez G, et al (2023) Liquid chromatography-mass spectrometry based metabolomics investigation of different tissues of *Mytilus galloprovincialis*. *Comp Biochem Physiol D* 45:1-8. <https://doi.org/10.1016/j.cbd.2022.101051>
- Jiang W, Fang J, Du M, et al (2021) Integrated transcriptomics and metabolomics analyses reveal benzo[a]pyrene enhances the toxicity of mercury to the Manila clam, *Ruditapes philippinarum*. *Ecotoxicol Environ Saf* 213:1-11. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112038>
- Kadim MK, Risjani Y (2022) Biomarker for monitoring heavy metal pollution in aquatic environment: An overview toward molecular perspectives. *Emerg Contam* 8:195–205. <https://doi.org/10.1016/j.emcon.2022.02.003>
- Karra L, Haworth O, Priluck R, et al (2015) Lipoxin B4 promotes the resolution of allergic inflammation in the upper and lower airways of mice. *Mucosal Immunol* 8:852 –862. <https://doi.org/10.1038/mi.2014.116>
- Kim CK, Choi MS (2017) Biomonitoring of trace metals using transplanted mussels, *Mytilus galloprovincialis*, in coastal areas around Ulsan and Onsan Bays, Korea. *Ocean Sci* 52:31–42. <https://doi.org/10.1007/s12601-017-0017-4>
- Krishnamoorthy V, Chuen L, Sivayogi V, et al (2019) Exploration of antioxidant capacity of extracts of *Perna viridis*, a marine bivalve. *Pharmacogn Mag* 15:402. [https://doi.org/10.4103/pm.pm\\_301\\_19](https://doi.org/10.4103/pm.pm_301_19)
- Krungkrai SR, Krungkrai J (2016) Insights into the pyrimidine biosynthetic pathway of human malaria parasite *Plasmodium falciparum* as chemotherapeutic target. *Asian Pac J Trop Med* 9:525–534. <https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2016.04.012>
- Kwon YK, Jung YS, Park JC, et al (2012) Characterizing the effect of heavy metal contamination on marine mussels using metabolomics. *Mar Pollut Bull* 64:1874–1879. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.06.012>
- Leija C, Rijo-Ferreira F, Kinch LN, et al (2016) Pyrimidine Salvage Enzymes Are Essential for De Novo Biosynthesis of

- Deoxypyrimidine Nucleotides in *Trypanosoma brucei*. PLoS Pathog 12:1-30. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006010>
- Liu F, Wang WX (2012) Proteome pattern in oysters as a diagnostic tool for metal pollution. J Hazard Mater 239–240:241–248. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.08.069>
- Liu L, Wu Q, Miao X, et al (2022) Study on toxicity effects of environmental pollutants based on metabolomics: A review. Chemosphere 286:1-12. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131815>
- Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N (2010) Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. Pharmacogn Rev 4:118 –126. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.70902>
- Machado AADS, Wood CM, Bianchini A, Gillis PL (2014) Responses of biomarkers in wild freshwater mussels chronically exposed to complex contaminant mixtures. Ecotoxicology 23:1345–1358. <https://doi.org/10.1007/s10646-014-1277-8>
- Magni S, Gagné F, André C, et al (2018) Evaluation of uptake and chronic toxicity of virgin polystyrene microbeads in freshwater zebra mussel *Dreissena polymorpha* (Mollusca: Bivalvia). Sci Total Environ 631–632:778–788. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.075>
- Mamelona J, Saint-Louis R, Pelletier É (2010) Nutritional composition and antioxidant properties of protein hydrolysates prepared from echinoderm byproducts. Int J Food Sci Technol 45:147–154. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.02114.x>
- Manes NP, Nita-Lazar A (2018) Application of targeted mass spectrometry in bottom-up proteomics for systems biology research. J Proteomics 189:75–90. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2018.02.008>
- Meng H, Lin Y, Zhong W, et al (2023) Fish Biomonitoring and Ecological Assessment in the Dianchi Lake Basin Based on Environmental DNA. Water (Switzerland) 15: 1-16. <https://doi.org/10.3390/w15030399>
- Moreau H, Bayer EM (2023) Lipids: plant biology's slippery superheroes. Frontiers in Plant Physiology 1:1-8. <https://doi.org/10.3389/fphgy.2023.1273816>

- Moussa MA, Mohamed HRH, Abdel-Khalek AA (2022) Metal Accumulation and DNA Damage in *Oreochromis niloticus* and *Clarias gariepinus* After Chronic Exposure to Discharges of the Batts Drain: Potential Risk to Human Health. Bull Environ Contam Toxicol 108:1064–1073. <https://doi.org/10.1007/s00128-022-03512-8>
- Nadar YE, **Nugroho AP** (2022) Combined effect of pesticides containing active ingredients of chlorpyrifos and mancozeb on the DNA damage of *Chlorella sorokiniana* Shihira et Krauss. Jurnal Pendidikan IPA Indonesia 11:640-648. <https://doi.org/10.15294/jpii.v11i4.39619>
- Nugroho AP**, Frank H (2012) Effects of copper on lipid peroxidation, glutathione, metallothionein, and antioxidative enzymes in the freshwater mussel *Anodonta anatina*. Toxicol Environ Chem 94:918 –929. <https://doi.org/10.1080/02772248.2012.675156>
- Nugroho AP**, Frank H (2011) Producing Cu-loaded algae for feeding experiments: Effects of copper on *Parachlorella kessleri*. Toxicol Environ Chem 93:537-548. <https://doi.org/10.1080/02772248.2010.537859>
- Nugroho AP**, Handayani NSN, Darmasiwi S, et al (2020) Biochemical responses and dna damage of *Chlorella pyrenoidosa* H. Chick upon exposure to combined Cu and Cd at environmentally realistic levels. Environ Nat Resour J 18:290–303. <https://doi.org/10.32526/ennrj.18.3.2020.28>
- O'Rourke K, Virgiliou C, Theodoridis G, et al (2023) The impact of pharmaceutical pollutants on daphnids – A metabolomic approach. Environ Toxicol Pharmacol 100:1-10. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2023.104157>
- Pachaiyappan A, Muthuvel A, Sadhasivam G, et al (2014) In vitro antioxidant activity of different gastropods, bivalves and echinoderm by solvent extraction method. Int J Pharm Sci Res 5:2539. [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.5\(6\).2529-35](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.5(6).2529-35)
- Patil S, Rao RS, Majumdar B, Anil S (2015) Clinical appearance of oral *Candida* infection and therapeutic strategies. Front Microbiol 6 :1-10. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2015.01391>

- Poortmans JR, Carpentier A (2016) Protein metabolism and physical training: any need for amino acid supplementation? *Nutrire* 41 :1-17. <https://doi.org/10.1186/s41110-016-0022-x>
- Rahayu TH, **Nugroho AP** (2020) Integrated assessment of biomarker responses in algae *Chlorella sorokiniana* exposed to copper and cadmium. *Biodiversitas* 21:3569-3575. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d210820>
- Rasquel-Oliveira FS, Silva MDV da, Martelossi-Cebinelli G, et al (2023) Specialized pro- resolving lipid mediators: Endogenous roles and pharmacological activities in infections. *Molecules* 28:1-28. <https://doi.org/10.3390/molecules28135032>
- Rathahao-Paris E, Alves S, Junot C, Tabet JC (2016) High resolution mass spectrometry for structural identification of metabolites in metabolomics. *Metabolomics* 12:1 –15. <https://link.springer.com/article/10.1007/s11306-015-0882-8>
- Reid AJ, Carlson AK, Creed IF, et al (2019) Emerging threats and persistent conservation challenges for freshwater biodiversity. *Nature* 578(7796):327–337. <https://doi.org/10.1111/brv.12480>
- Rivaldi M, Frediansyah A, Aziz SAA, **Nugroho AP** (2025) Active biomonitoring of stream ecosystems: untargeted metabolomic and proteomic responses and free radical scavenging activities in mussels. *Ecotoxicology* 34:425-443. <https://doi.org/10.1007/s10646-024-02846-9>
- Sabilillah AM, Palupi FR, Adji BK, **Nugroho AP** (2023) Health risk assessment and microplastic pollution in streams through accumulation and interaction by heavy metals. *Global Journal of Environmental Science and Management* 9:719 –740. <https://doi.org/10.22035/gjesm.2023.04.05>
- Santana MS, Yamamoto FY, Sandrini-Neto L, et al (2018) Diffuse sources of contamination in freshwater fish: Detecting effects through active biomonitoring and multi -biomarker approaches. *Ecotoxicol Environ Saf* 149:173–181. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.11.036>
- Serra-Compte A, Álvarez-Muñoz D, Solé M, et al (2019) Comprehensive study of sulfamethoxazole effects in marine mussels: Bioconcentration, enzymatic activities and

- metabolomics. Environ Res 173:12–22.  
<https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.03.021>
- Stalin A, Saiyad M, Amanullah B (2011) Histological alterations in the gills of freshwater mussel *Lamellidens marginalis* exposed to sub-lethal concentration of an organophosphorus insecticide, chlorpyrifos. Asian J Microbiol Biotechnol Environ Sci 13(1):139-142.
- Tang Q, Tan P, Ma N, Ma X (2021) Physiological functions of threonine in animals: Beyond nutrition metabolism. Nutrients 13:1-13.  
<https://doi.org/10.3390/nu13082592>
- Torres P, Santos JP, Chow F, et al (2018) Comparative analysis of in vitro antioxidant capacities of mycosporine-like amino acids (MAAs). Algal Res 34:57–67.  
<https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.07.007>
- Ukasha T, Faisal NUH, Adji BK, **Nugroho AP** (2024) Active biomonitoring in streams by using multimarker approaches of mussels. Global J Environ Sci Manage 10 (3):1171-1196.  
<https://doi.org/10.22035/gjesm.2024.03>
- Waller D, Putnam J, Steiner JN, et al (2023) Targeted metabolomics characterizes metabolite occurrence and variability in stable freshwater mussel populations. Conserv Physiol 11:1-19.  
<https://doi.org/10.1093/conphys/coad040>
- Walter M, Herr P (2022) Re-Discovery of Pyrimidine Salvage as Target in Cancer Therapy. Cells 11:1-19.  
<https://doi.org/10.3390/cells11040739>
- Wang B, Li L, Chi CF, et al (2013) Purification and characterisation of a novel antioxidant peptide derived from blue mussel (*Mytilus edulis*) protein hydrolysate. Food Chem 138:1713–1719.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.12.002>
- Wang J, Suhre MH, Scheibel T (2019) A mussel polyphenol oxidase-like protein shows thiol- mediated antioxidant activity. Eur Polym J 113:305–312. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2019.01.069>
- Wang J, Zhang J, Li J, et al (2021) Exogenous Application of 5 - Aminolevulinic Acid Promotes Coloration and Improves the Quality of Tomato Fruit by Regulating Carotenoid Metabolism.

- Front Plant Sci 12:1-16.  
<https://doi.org/10.3389/fpls.2021.683868>
- Wang Y, Yin M, Gu L, et al (2023) The therapeutic role and mechanism of 4 -Methoxycinnamic acid in fungal keratitis. *Int Immunopharmacol* 116:..  
<https://doi.org/10.1016/j.intimp.2023.109782>
- Wei S, Wei Y, Gong Y, et al (2022) Metabolomics as a valid analytical technique in environmental exposure research: application and progress. *Metabolomics* 18 :1-17.  
<https://doi.org/10.1007/s11306-022-01895-7>
- Windarsih A, Suratno, Warmiko HD, et al (2022) Untargeted metabolomics and proteomics approach using liquid chromatography -Orbitrap high resolution mass spectrometry to detect pork adulteration in *Pangasius hypophthalmus* meat. *Food Chem* 386: 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132856>
- Yan LL, Zaher HS (2019) How do cells cope with RNA damage and its consequences? *Journal of Biological Chemistry* 294:15158 – 15171. <https://doi.org/10.1074/jbc.REV119.006513>
- Yanuhar U, Khumaidi A (2017) The application of pigment-protein fraction from *Nannochloropsis oculata* on  $\beta$ -actin response of *Cromileptes altivelis* infected with viral nervous necrosis. *Jurnal Akuakultur Indonesia* 16:22. <https://doi.org/10.19027/jai.16.1.22-32>
- Ye W, Zheng C, Yu D, et al (2019) Lipoxin A4 ameliorates acute pancreatitis-associated acute lung injury through the antioxidative and anti-inflammatory effects of the Nrf2 pathway. *Oxid Med Cell Longev* 197017:1 -15.  
<https://doi.org/10.1155/2019/2197017>
- Yoon H, Shaw JL, Haigis MC, Greka A (2021) Lipid metabolism in sickness and in health: Emerging regulators of lipotoxicity. *Mol Cell* 81:3708–3730.  
<https://doi.org/10.1016/j.molcel.2021.08.027>
- Zeb BS, Ping Z, Mahmood Q, et al (2017) Assessment of combined toxicity of heavy metals from industrial wastewaters on *Photobacterium phosphoreum* T3S. *Appl Water Sci* 7:2043–2050. <https://doi.org/10.1007/s13201-016-0385-4>