

**Peningkatan Hiperplasia Lamela Insang Sekunder dan Penurunan Kecepatan Berenang
Danio rerio Juvenile yang Induknya dipapar Cadmium**

Dian Fitasari Malawat, Ariani Ratri Dewi, Noer Aini*

*Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan : *Cadmium* (Cd) merupakan logam berat yang bersifat toksik dan banyak ditemukan di lingkungan. Efek dosisi subkronis CdCl_2 dapat menyebabkan hiperplasia lamela insang sekunder dan perubahan kecepatan berenang pada *Danio rerio* juvenile. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek teratogenik terhadap hiperplasia lamela insang sekunder dan kecepatan berenang pada *D. rerio* juvenile (F2) yang induknya (F1) dipapar CdCl_2 subkronis.

Metode : *Danio rerio* dewasa (F1) dibagi 4 kelompok yaitu kontrol, CdCl_2 0,5 ppm, 1 ppm, dan 1,5 ppm yang dipapar selama 30 hari. Hiperplasia lamela insang sekunder *D. rerio* juvenile (F2) dihitung menggunakan presentase dengan pewarnaan *Haematoxylin and eosin* (HE) dan kecepatan berenang dianalisa menggunakan *software tracker*TM. Data diuji dengan *One Way ANOVA* ($p < 0,05$).

Hasil : Paparan CdCl_2 dosis 0,5 ppm, 1 ppm, dan 1,5 ppm subkronis pada induk *Danio rerio* (F1) meningkatkan jumlah hiperplasia lamela insang sekunder pada *D. rerio* juvenile (F2) dibandingkan kelompok kontrol ($p < 0,05$) berturut-turut 61%, 84%, dan 90% dibandingkan kelompok kontrol. Paparan CdCl_2 dosis 0,5 ppm, 1 ppm, dan 1,5 ppm subkronis pada induk *Danio rerio* (F1) menurunkan kecepatan berenang *D. rerio* juvenile (F2) berturut-turut 52%, 70%, dan 84% dibandingkan kelompok kontrol ($p < 0,05$).

Kesimpulan : Paparan CdCl_2 dosis 0,5 ppm, 1 ppm, dan 1,5 ppm subkronis pada induk *Danio rerio* (F1) meningkatkan jumlah hiperplasia lamela insang sekunder dan menurunkan kecepatan berenang *D. rerio* juvenile (F2).

Kata kunci : *Cadmium chloride* (CdCl_2), hiperplasia lamela insang sekunder, kecepatan berenang, *D. rerio* juvenile.

Korespondensi

Noer Aini

e-mail: noeraini@unisma.ac.id

**Increased Secondary Gill Lamellar Hyperplasia and Decreased Swimming Speed
of Juvenile *Danio rerio* whose Mother was Exposed to Subchronic Cadmium**

Dian Fitasari. M, Ariani Ratri Dewi, Noer Aini*

*Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRACT

Introduction : The *Cadmium* (Cd) is heavy metal that is toxic and is commonly found in the environment. Subchronic exposure of CdCl_2 can cause secondary gill lamellae hyperplasia and decrease swimming speed. The aim of this research is to evaluate teratogenic effects of CdCl_2 exposure on juvenile zebrafish's (*Danio rerio*)(F2) secondary gill lamellae hyperplasia and swimming speed whose mother was exposed by CdCl_2 subchronically.

Method: Adult *D. rerio* (F1) were divided into four groups, which were control group, CdCl_2 0,5 ppm, 1 ppm, and 1,5 ppm groups underwent thirty days exposure. Juvenile *D. rerio* (F2) secondary gill lamella hyperplasia was calculated using the percentage with *Haematoxylin and eosin* (HE) staining while swimming speed were analyzed using *software Tracker*TM. Data were analyzed by *One Way ANOVA* ($p < 0.05$).

Results: Subchronic exposure of CdCl_2 with concentration of 0,5 ppm, 1 ppm, and 1,5 ppm to mother *D. rerio* (F1) were able to increase the amount of secondary gill lamellae hyperplasia in juvenile zebrafish (F2) ($p < 0,05$) as much as 61%, 84%, and 90% compared to the control group. Subchronic exposure of CdCl_2 with concentration of 0,5 ppm, 1 ppm, and 1,5 ppm to mother *D. rerio* (F1) were able to decrease juvenile *D. rerio* swimming speed as much as 52%, 70%, and 84% compared to control group ($p < 0,05$).

Conclusion: Subchronic exposure of CdCl_2 to mother *D. rerio* with concentration of 0,5 ppm, 1 ppm, and 1,5 ppm increase secondary gill lamellae hyperplasia and decrease swimming speed of juvenile *D. rerio*

Keywords: *Cadmium chloride* (CdCl_2), secondary gill lamellae hyperplasia, swimming speed, juvenile *D. rerio*

Correspondence

Noer Aini

e-mail: noeraini@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Cadmium adalah logam berat yang dapat ditemukan pada pembakaran sampah, pembakaran fosil, logam nonferrous, produk besi, semen, pupuk, rokok, baterai, produk besi dan secara alami ditemukan dalam kerak bumi. Bentuk paling umum *cadmium* yang ditemukan di lingkungan adalah dalam kombinasi misalnya *cadmium* oksida, *cadmium chloride* (CdCl_2), dan *cadmium* sulfida. Efek toksik dari semua senyawa *cadmium* disebabkan oleh ion *cadmium*.^{1,2}

Sumber paparan CdCl_2 dapat melalui inhalasi (merokok dan udara sekitar), digesti (kerang dan sayuran), dan melalui kulit (air).^{3,4,5} Paparan *cadmium* dapat menyebabkan gangguan fungsi organ tubuh hingga timbulnya penyakit akibat dari akumulasi logam berat dalam organ tubuh.³

Pada ikan zebra (*Danio rerio*) insang merupakan bagian tubuh yang paling *permeable* yang berperan dalam respirasi dan transport ion pada proses osmoregulasi.^{6,7,8,9} Penelitian yang dilakukan Indriana *et al.*, (2019) pada *D. rerio* dewasa yang dipapar *cadmium* dosis 0,5 ppm, 1 ppm, dan 1,5 ppm selama 30 hari didapatkan peningkatan hiperplasia lamela insang sekunder *D. rerio* dewasa.

Cadmium dapat meningkatkan konsentrasi kalsium (Ca^{2+}) intraseluler.¹⁰ Peningkatan ini dapat merusak saraf pusat dengan mereduksi *asetilkolinesterase*, menurunkan glutathione, *superoxide dismutase* (SOD), katalase dengan meningkatkan stres oksidatif sehingga menyebabkan terjadinya apoptosis. Kerusakan pada saraf pusat dapat mempengaruhi fungsi sistem saraf motorik dan sensorik.¹¹ Penelitian yang dilakukan oleh Indiyani *et al.*, (2020) menunjukkan bahwa kerusakan pada struktur otot dan juga kerusakan neuromast akibat paparan *cadmium*, menyebabkan terjadinya penurunan dari aktivitas motorik sehingga terjadi penurunan kecepatan berenang *D. rerio*.

D. rerio merupakan jenis ikan yang digunakan sebagai hewan coba untuk mempelajari efek teratogenik pada manusia. Hal ini disebabkan karena kesamaan genetik sekitar 70% dari semua gen manusia⁸.

Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini dilakukan pengamatan lamela insang sekunder dan kecepatan berenang *D. rerio* juvenile (F2) yang induknya (F1) dipapar beberapa dosis CdCl_2 secara subkronis.

METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Pada penelitian ini metode yang digunakan yaitu metode eksperimen laboratorium dengan *in vivo* yaitu *control group post-test only design* dengan hewan coba *D. rerio* juvenile (F2). Penelitian dilakukan pada Laboratorium Pusat Riset Kedokteran (LPRK) Universitas Islam Malang dan juga Laboratorium Reproduksi Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Penelitian yang telah dilakukan pada bulan Januari hingga Juli 2019, telah

mendapatkan laik etik dari Komisi Etik Penelitian (*Animal Care and Use Committee*) Universitas Brawijaya dengan nomor sertifikat No. 1070-KEP-UB tahun 2019.

Penentuan Hewan Coba

Hewan coba *D. rerio* yang dipakai pada penelitian ini adalah *D. rerio* juvenile (F2) 30 dpf yang induknya (F1) didapat dari tempat budi daya ikan Kabupaten Tulungagung serta telah diidentifikasi dan tersertifikasi dari Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga dengan nomor: 006/ULMKILP/UA/FPK/03/2019.

Pada penelitian ini terdapat empat kelompok yaitu kontrol dan perlakuan CdCl_2 0,5 ppm, 1 ppm, 1,5 ppm. Setiap kelompok *D. rerio* ditentukan dengan metode *simple random sampling* kemudian jumlah sampel dihitung dengan rumus Federer.¹² Sehingga didapatkan setiap kelompok terdapat 6 *D. rerio* juvenile (F2).

Penentuan Dosis dan Pembuatan Larutan *Cadmium Chloride* (CdCl_2)

Dosis CdCl_2 pada penelitian ini yang digunakan adalah 0,5 ppm, 1 ppm, dan 1,5 ppm. Dosis tersebut adalah hasil eksplorasi dalam 7 hari. Dari hasil eksplorasi kemudian didapatkan dosis *Lethal Concentration* 50 (LC 50) *cadmium* pada *D. rerio* juvenile adalah 2,5 ppm. Larutan CdCl_2 dibuat dengan cara membaut larutan induk 500 ppm dari *cadmium stock* merek Loba Chemie. *Cadmium* yang berbentuk *white crystal* kemudian menggunakan digital Ohaus Pioneer PA214210 sebanyak 250 mg setelah itu dilarutkan pada gelas beaker dengan aquadest sebanyak 250 mL, kemudian diaduk kemudian dilarutkan dalam labu ukur 500 mL. Sehingga didapat larutan induk 500 ppm, lalu hitunglah kebutuhan masing-masing aquarium.¹³

Pembedahan Sampel dan Pembuatan Preparat Lamela Insang Sekunder Juvenile (F2)

Masing-masing 1 ekor *D. rerio* diambil dari Glass Aquarium berlabel kontrol, 0,5 ppm, 1 ppm, dan 1,5 ppm. Preparasi dari sampel insang *D. rerio* dilakukan dengan cara, *D. rerio* juvenile dibius dengan menggunakan kloroform, setelah itu insang diambil kemudian difiksasi dengan larutan fiksatif *Buffer Neutral Formalin* 10%, dengan metode paraffin, selanjutnya deparafinasi yaitu blok parafin yang berisi jaringan dengan menggunakan mikrotom dipotong dengan ketebalan 5 mikron kemudian dilakukan pewarnaan dengan *hematoxyline eosin* (HE).¹⁴

Pengamatan Hiperplasia Lamela Sekunder Insang *D. rerio* Juvenile (F2)

Penghitungan jumlah hiperplasia lamela sekunder insang *D. rerio* (F2) dilakukan secara manual menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x dengan gambaran penebalan jaringan epitel di ujung filamen yang menggambarkan bentuk seperti pemukul bisbol (*clubbing distal*).¹⁵

Penghitungan dilakukan oleh tiga orang pengamat dengan menggunakan lima lapang pandang setelah itu diambil rerata jumlah dalam satu lapang pandang kemudian dihitung kembali dalam proporsi (%) dan diskoring. Perhitungan presentase sel yang mengalami hiperplasia menggunakan rumus:¹⁶

$$P = \frac{a}{a + b} \times 100 \%$$

Keterangan:

P = Presentase hiperplasia (%)
 a = Jumlah lamela hiperplasia
 b = Jumlah lamela normal

Pengamatan Kecepatan Berenang *D. rerio* Juvenile (F2)

Pengamatan perubahan kecepatan berenang dilakukan dengan mengamati perubahan motorik *D. rerio* juvenile (F2) yang telah diberi paparan CdCl_2 . *D. rerio* diambil menggunakan jaring masing-masing 1 ekor sample diambil pada *Glass Aquarium* berlabel kontrol, 0,5 ppm, 1 ppm, dan 1,5 ppm. Dilakukan perekaman kecepatan berenang *D. rerio* selama satu menit kemudian hasil video dianalisis menggunakan *software tracker*TM.

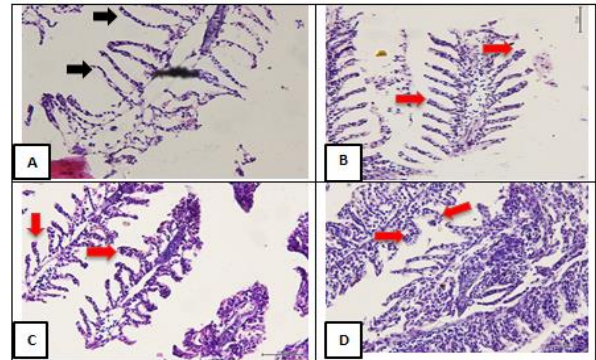
Teknik Analisis Data

Data penelitian ini telah diuji dengan metode *One Way ANOVA* dan dilanjutkan menggunakan *Post Hoc Test Tukey HSD* untuk melihat perbedaan antara masing-masing kelompok perlakuan. Uji statistik tersebut dilakukan dengan program *software SPSS (Statistical Product and Service Solution)* hasil dapat dikatakan bermakna apabila $p < 0,05$.

HASIL PENELITIAN

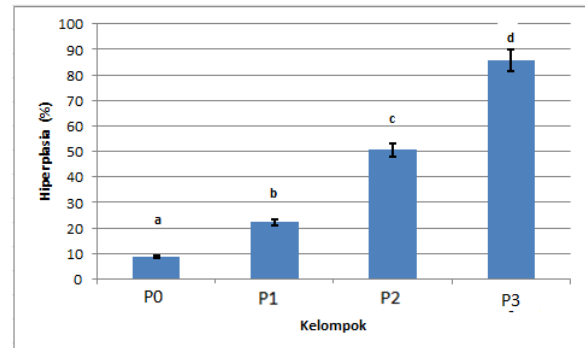
Hasil Analisis Hiperplasia Lamela Insang Sekunder *Danio rerio* (F2)

Efek paparan subkronis CdCl_2 terhadap hiperplasia lamela insang sekunder *D. rerio* juvenile (F2) yang induknya (F1) dipapar CdCl_2 terlihat pada Gambar 1 dan 2 serta Tabel 1 berikut ini:



Gambar 1 Hasil Pengamatan Struktur Histologi Lamela Insang Sekunder *D. rerio* Juvenile (F2) Perbesaran 400x, pewarnaan HE.

Keterangan: (A) Pada kelompok kontrol tanda panah hitam menunjukkan lamela insang sekunder normal yang ditandai dengan tidak adanya penebalan jaringan epitel diujung filamen; Pada kelompok perlakuan (B,C, dan D) dosis CdCl_2 0.5 ppm, 1 ppm, 1,5 ppm tampak hiperplasia dengan gambaran pemukul bisbol (*clubbing distal*) yang ditunjuk dengan panah warna merah.



Gambar 2 Histogram Rerata Hiperplasia Lamela Insang Sekunder *D. rerio* Juvenile (F2)

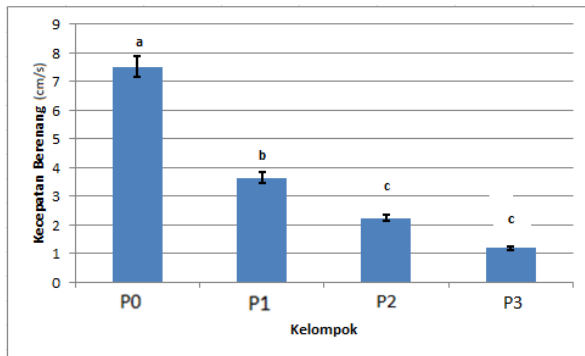
Keterangan: Gambar 2 menunjukkan rerata hiperplasia lamela insang sekunder *D. rerio* juvenile (F2) yang induknya (F1) dipapar CdCl_2 selama satu bulan. Pada kelompok kontrol didapatkan hasil rata-rata dan SD sebagai berikut ($8,61 \pm 2,02$), P1 ($22,14 \pm 7,76$), P2 ($50,64 \pm 9,96$), dan P3 ($85,88 \pm 7,23$). Data diatas diuji *One Way ANOVA* dengan nilai $p < 0,05$. Notasi huruf berbeda menunjukkan perebedaan signifikan.

Hasil penelitian didapatkan perbedaan signifikan hiperplasia lamela insang sekunder *D. rerio* juvenile (F2) antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Pada paparan CdCl_2 dengan dosis 0,5 ppm, 1 ppm, dan 1,5 ppm secara signifikan meningkatkan hiperplasia lamela insang sekunder *D. rerio* juvenile sebesar 61%, 84%, dan 90% dibandingkan kelompok

control, diantara kelompok perlakuan didapat perbedaan yang signifikan.

Hasil Analisis Kecepatan Berenang *D. rerio* (F2)

Efek dari paparan subkronis CdCl_2 pada kecepatan berenang *D. rerio* juvenile (F2) yang induknya (F1) dipapar CdCl_2 terdapat pada Gambar 3 dibawah ini:



Gambar 3 Histogram Rerata Kecepatan Berenang *D. rerio* Juvenile (F2)

Keterangan: Gambar 3 menunjukkan rata-rata kecepatan berenang *D. rerio* juvenile (F2) yang induknya dipapar (F1) CdCl_2 selama 30 hari. Pada P0 ($7,522 \pm 1,745^a$), P1 ($3,646 \pm 0,381^b$), P2 ($2,242 \pm 0,623^c$), P3 ($1,191 \pm 0,115^c$). Data dalam mean $\pm$ SD, dan telah diuji statistik *One Way ANOVA* dengan nilai signifikan ($p < 0,05$). Data diuji statistik *One Way ANOVA* dengan nilai $p < 0,05$. Notasi huruf berbeda menunjukkan perbedaan signifikan.

Hasil penelitian menunjukkan perbedaan signifikan pada kecepatan berenang *D. rerio* juvenile antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Pada paparan CdCl_2 dengan dosis 0,5 ppm, 1 ppm, 1,5 ppm terjadi penurunan kecepatan berenang *D. rerio* juvenile (F2) berturut-turut sebesar 52%, 70%, dan 84% dibandingkan kelompok kontrol ($p < 0,05$). Pada P2 dan p3 tidak terdapat perbedaan yang signifikan.

PEMBAHASAN

Efek Paparan Subkronis *Cadmium* (CdCl_2) terhadap Hiperplasia Lamela Insang Sekunder *D. rerio* Juvenile

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa induk *D. rerio* (F1) yang dipapar *cadmium* secara subkronis dapat meningkatkan hiperplasia lamela insang sekunder *D. rerio* juvenile. Hiperplasia lamela insang sekunder dalam penelitian ini mengalami peningkatan yang signifikan seiring dengan peningkatan dosis paparan, peningkatan jumlah sel dalam suatu jaringan ini disebabkan oleh pembelahan sel dan menyebabkan peningkatan jumlah sel. Hiperplasia insang merupakan proses adaptasi ikan yang bersifat fisiologis dan patologis serta reversibel dan irreversible.¹⁷ Hiperplasia terjadi akibat peningkatan metabolisme seluler yang bertujuan untuk memperbaiki kerusakan subseluler

yang berfungsi untuk meningkatkan kemampuan transfer gas dan ion yang dibutuhkan oleh *D. rerio*.¹⁵

Hiperplasia dapat terjadi pada kondisi lingkungan normal atau tidak terpapar logam berat sehingga dapat mempengaruhi kondisi fisiologis ikan, misalnya peningkatan suhu air yang dapat menurunkan kelarutan oksigen pada air. Kekurangan oksigen mempengaruhi hemoglobin yang mengikat oksigen, menyebabkan darah yang membawa oksigen untuk menyuplai oksigen ketubuh ikan berkurang dan ikan mengalami hipoksia. Gangguan pada fisiologi ikan ini akan menimbulkan stress yang kemudian dikompensasi oleh ikan dengan hiperplasia pada insang untuk memenuhi kebutuhan oksigen.¹⁸

Hiperplasia patologis pada lamela insang sekunder *D. rerio* mengalami akumulasi paparan dari *cadmium* menyebabkan iritan sehingga terjadi peningkatan jumlah mukus dalam insang. Paparan secara terus menerus, mengakibatkan proliferasi sel epitelium lamela insang sebagai adaptasi terhadap paparan *cadmium* dan perlindungan terhadap toksin yang berlebihan. Kerusakan tersebut dikompensasi dengan hiperplasia sel.³⁵

Pada penelitian ini paparan *cadmium* diberikan pada induk *D. rerio* (F1) kemudian akibat paparannya diamati pada *D. rerio* juvenile (F2). *Cadmium* dapat masuk melalui kanal kalsium di sel telur. Penetrasi *cadmium* ini akan mencegah ikatan ion kalsium dengan kalmodulin sehingga menyebabkan kebocoran pada oosit. Kebocoran oosit ini kemudian menyebabkan *cadmium* mudah masuk pada embrio dan menyebabkan disregulasi gen antioksidan NF-E2 p45-related Factor 2 (Nrf2) yang dapat diturunkan ke generasi berikutnya.^{19,20}

Pada saat induk *D. rerio* bertelur, *cadmium* mampu berdifusi melewati pori-pori chorion dikarenakan *cadmium* berukuran lebih kecil 158 picometer dibandingkan pori-pori chorion yang berukuran 0,6-0,7 μm . Proses tersebut juga dapat terjadi akibat perbedaan muatan antara muatan positif *cadmium* dan muatan negatif chorion sehingga saling tarik-menarik. Keberadaan chorion hanya bisa menghambat sekitar 60% dari penetrasi *cadmium* pada embrio sehingga sisanya menempel pada vitelline membrane (38%).²¹ Pada *vitteline membrane*, *cadmium* bersirkulasi secara difusi pada embrio *D. rerio* (Jezierska et al., 2009).²² Setelah itu *cadmium* masuk ke intraseluler melalui kanal kalsium embrio *D. rerio*.²³ Hal ini dapat didukung pada penelitian sebelumnya oleh Muclisin et al., 2021 didapatkan hasil pada paparan *cadmium* secara subkronik menyebabkan nekrosis sel spermatosit primer dan meningkatkan presentase atresia folikel vitelogenik.

Lamela insang sekunder merupakan organ yang berfungsi dalam pertukaran gas, pada manusia organ respirasi yang berfungsi dalam pertukaran oksigen dan karbondioksida adalah alveolus. *Cadmium* dikenal sebagai karsinogenik kuat yang mempengaruhi paru-paru dimana hiperplasia yang terjadi dapat berkembang menjadi kanker. Efek paparan *cadmium* pada ibu juga

menyebabkan penurunan dari berat badan janin, termasuk berat paru-paru yang berkurang sehingga pematangan biokimia dan morfologi paru terganggu. Analisis biokimia yang dilakukan pada paru-paru janin dari ibu yang terekspos cadmium menunjukkan akumulasi sphingomyelin dan lestin yang merupakan komponen surfaktan memiliki tingkat yang lebih rendah.³⁶

Hasil penelitian ini mendukung hasil beberapa penelitian sebelumnya. Penelitian oleh Messerli *et al.*, 2020 membuktikan bahwa *D. rerio* yang mengalami adaptasi organ pernapasan ikan dan metabolisme O₂ dengan berenang memiliki jumlah lamela insang yang lebih banyak dibanding kontrol.³³ Penelitian lain menunjukkan bahwa paparan *D. rerio* terhadap merkuri selama 96 jam dengan dua konsentrasi HgCl₂ 7,7 dan 38,5 µg/L dapat meningkatkan jumlah lamela sekunder *D. rerio* dibanding kontrol (Macirella dan Brunelli, 2017). Penelitian lain menggunakan paparan uranium terhadap *D. rerio* jantan dewasa usia 120 dpf selama 20 hari dengan dosis 100 µg/L, 93,3 µg/L dan 6,65 µg/L mengakibatkan hiplerplasia lamela insang, kerusakan otot dan gonad.²⁴

Efek Paparan Subkronis Cadmium (CdCl₂) terhadap Kecepatan Berenang *D. rerio* Juvenile (F2)

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa paparan cadmium terhadap induk *D. rerio* (F1) dapat menurunkan aktivitas berenang *D. rerio* juvenile (F2). Kecepatan berenang *D. rerio* mengalami penurunan yang signifikan seiring dengan peningkatan dosis paparan CdCl₂. Peningkatan dosis paparan CdCl₂ diketahui dapat meningkatkan toksisitas terhadap *D. rerio* sehingga meningkatkan kerusakan pada sel saraf yang dapat menurunkan kecepatan berenang.²⁵

Kecepatan berenang *D. rerio* dipengaruhi oleh sistem saraf dan otot. Jalur subkortikal yang berfungsi untuk mengontrol pergerakan merupakan penghubung antara ganglia basal dan sumsum tulang belakang tempat *Central Pattern Generators* (CPGs). Salah satu struktur motorik tersebut adalah *Mesencephalic Locomotor Region* (MLR) yang menstimulasi pergerakan pada *D. rerio*.²⁷

Asetilkolin (ACh) diproduksi oleh saraf kolinergik di sistem saraf pusat, pada presinaps asetilkolin keluar dan menempel pada kanal reseptor yang terdapat pada sel otot. Pada intra sel otot, natrium lebih banyak dibandingkan dengan kalium diluar sel otot sehingga natrium masuk ke dalam sel otot dan kalium keluar sel. Hal ini menyebabkan sel otot mengalami depolarisasi yang menimbulkan potensial aksi.³⁷

Potensial aksi ini akan menyebar keseluruhan permukaan sel otot melalui membran plasma yang merambat ke tubulus T, kemudian direspon oleh dihidropiridin yang diteruskan ke retikulum sarkoplasma (RS) sehingga mengeluarkan ion-ion kalsium (Ca²⁺) melalui kanal. Keluarnya Ca²⁺ ke sitosol kemudian menempel pada tropinin

menyebabkan perubahan pada susunan filamen tipis, selanjutnya molekul troponin dan tropomiosin bergeser dan membuka sisi aktif dari aktin, hal ini membuat jembatan silang dari miosin tersambung, kemudian miosin akan berikatan dengan sisi aktif aktin. Setelah berikatan terjadi pergeseran oleh ATP, filamen tipis bergerak ke bagian medial dari miosin menyebabkan serat otot lebih pendek atau terjadinya kontraksi kemudian akan terjadi relaksasi apabila dari sel neuron tidak ada lagi terjadi potensial aksi dan juga AChE menghambat ACh.³⁷

Paparan cadmium menyebabkan gangguan pada kode gen untuk AChE yang menyebabkan akumulasi *acetylcholine* (ACh). *Acetylcholinesterase* (AChE) terlibat dalam penghentian pertukaran impuls melalui hidrolisis ACh. Gangguan pada *neurotransmitter acetylcholine* (ACh) yang terlibat dalam sistem pensinyalan kolinergik mempengaruhi aktivitas motorik *D. rerio*. Inaktivasi enzim ini menyebabkan gangguan transmisi saraf sehingga mempengaruhi kecepatan *D. rerio*.³⁸

Gangguan ACh mempengaruhi kerja otot sehingga tidak dapat mengontrol gerakan secara normal. Pada bayi yang terpapar cadmium dari ibu menunjukkan lesi yang luas pada sistem saraf pusat sehingga terjadi ketidakseimbangan yang menyebabkan kejang pada bayi (tetani).³⁸

Kecepatan berenang *D. rerio* juga dipengaruhi oleh faktor otot ikan yang diatur dalam myomere rostrocaudal. Serat otot dalam myomere mempengaruhi pergerakan tubuh dan kekuatan berenang *D. rerio*.²⁸ Otot *D. rerio* diinervasi secara polineuronale oleh neuron primer atau neuron motorik sekunder. Kedua jaringan membentuk koneksi fisik yang disebut *neuromuscular junction* (NMJ) yang menyebabkan aktivitas otot kontraktile motorik.²⁹ Pada proses kontraksi ini membutuhkan transfer intraseuler dari Ca²⁺ melalui membran retikulum sarkoplasma.²⁸

Pada penelitian ini pemberian cadmium pada induk *D. rerio* (F1) dapat menurunkan kecepatan berenang *D. rerio* juvenile (F2). Cadmium menurunkan gen *th1* yang berfungsi untuk meregulasi perkembangan saraf. Penurunan perkembangan saraf ini dapat menurunkan kemampuan inervasi otot motorik pada *D. rerio* sehingga menurunkan kecepatan berenang *D. rerio*.³⁰ Penelitian lain menyebutkan bahwa pemberian cadmium dapat menurunkan protein Neurexin 2a (Nrxn2a) yang berperan terhadap perkembangan saraf locomotor *D. rerio*.³¹

Cadmium juga menghambat rantai transpor mitokondria, hal ini menyebabkan absorpsi ion kalsium (Ca²⁺) menurun dalam mitokondria mengakibatkan kerusakan pada mitokondria sehingga terjadi penurunan ATP dalam otot. Selain itu, cadmium juga mengaktifkan enzim *calpains* atau *caspase 3* sehingga terjadi degradasi miofibril yang berperan pada kontraksi otot dan mempengaruhi kecepatan berenang.³⁴

Hasil penelitian ini selaras dengan penelitian sebelumnya. Penelitian oleh Avallone *et al.*, (2015)

didapatkan pada *D. rerio* jantan dewasa yang terpapar CdCl_2 0,3 mg/L dan 30 mg/L selama 30 hari terjadi penurunan glikogen dan lemak otot serta menurunkan kecepatan berenang *D. rerio*.³⁴ Penelitian lain oleh Capriello et al., (2019) pada embrio *D. rerio* 6 hpf yang dipapar CdCl_2 9, 18, 36 dan 72 mM serta 50, 100 dan 200 mM AlCl_3 selama 72 jam membuktikan bahwa pemberian aluminium dan cadmium dapat menurunkan daya tetas telur dan kecepatan berenang embrio *D. rerio*. Penelitian lain juga membuktikan bahwa pemberian CdCl_2 0.01 $\mu\text{mol/L}$, 0.1 $\mu\text{mol/L}$, dan 1 $\mu\text{mol/L}$ selama 60 hari pada induk 120 dpf (F0) dapat mengganggu regulasi gen perkembangan saraf dan menurunkan kecepatan berenang larva *D. rerio* (F1) 120 hpf.³⁰ Pada kelompok perlakuan dosis 1 dan 1,5 ppm tidak terjadi perbedaan yang signifikan, hal ini diperkirakan terjadi karena adanya proses absorpsi, distribusi atau eliminasi zat yang menyebabkan terjadinya proses penjenjuran.²⁶

KESIMPULAN

1. Paparan subkronis cadmium dosis 0,5 ppm, 1 ppm, dan 1,5 ppm pada induk *D. rerio* (F1) menyebabkan hiperplasia lamela insang sekunder *D. rerio* juvenile (F2).
2. Paparan subkronis cadmium dosis 0,5 ppm, 1 ppm, dan 1,5 ppm pada induk *D. rerio* (F1) mampu menurunkan kecepatan berenang *D. rerio* juvenile (F2)

SARAN

1. Pemeriksaan perubahan ekspresi gen Nrf2 pada *D. rerio* yang dipapar cadmium secara kronik
2. Pemeriksaan perubahan ekspresi gen *th1* dan protein Neurexin 2a pada *D. rerio* yang dipapar cadmium secara kronik
3. Menentukan dosis cadmium pada F1 yang tidak menimbulkan efek teratogenik pada F2

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih disampaikan kepada Ikatan Orang Tua Mahasiswa (IOM) yang telah mendanai penelitian ini serta dosen kelayakan seminar hasil proposal (SHP) drh. H. M. Zainul Fadli, M.Kes

DAFTAR PUSTAKA

1. Sutrisno; dan Kuntastuti, H. Pengelolaan Cemar Kadmium. Buletin Palawija. 2015
2. European Chemicals Agency. Cadmium chloride. Substance of Very High Concern support document. 2014
3. Mitra, P.; dan Rahim, M. A. Cadmium: An Environmental Heavy Metal with Nephrotoxic Potency Especially in Diabetic Population, Journal of Enam Medical College, 2017. Vol 7 No 3.
4. Burke, F.; Hamza, S.; Naseem, S.; Nawaz-ul-Huda, S.; Azam, M.; and Khan, I. Impact of Cadmium

- Polluted Groundwater on Human Health: Winder, Balochistan. SAGE Open, 2016. 1-8.
5. Endrinaldi. Logam-Logam Berat Pencemar Lingkungan dan Efek Terhadap Manusia. Jurnal Kesehatan Masyarakat. 2010. Vol 4 No 1.
 6. Pan, Z.; Gou, Y.; Xiang, H.; Hui, Y.; Ju, H.; and Xu, S. Effects of Lead, Mercury, and Cadmium Co-exposure on Children's Pulmonary Function. Biological Trace Element Research. 2019. <https://doi.org/10.1007/s12011-019-01772-w>.
 7. Liu, Z.; Cai, L.; Liu, Y.; Chen, W.; and Wang, Q. Association Between Prenatal Cadmium Exposure and Cognitive Development of Offspring: A systematic review. Elsevier Ltd. 2019.
 8. Santoriello, C.; Zon, L. I.; Santoriello, C.; and Zon, L. I. Hooked! Modeling Human Disease in Zebrafish. The Journal of Clinical Investigation. 2012. 122(7), 2337-2343. <https://doi.org/10.1172/JCI60434.combines>
 9. Yudiati, E.; Sedjati, S.; Enggar, I.; and Hasibuan, I. Dampak Paparan Logam Berat Kadmium pada Salinitas yang Berbeda terhadap Mortalitas dan Kerusakan Jaringan Insang Juvenile Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). Ilmu Kelautan Indonesia Journal of Marine Sciences. 2009. Vol 14 (4): 29-35.
 10. Branca. J. J. V.; Morucci. G.; Pacini. A. Cadmium-induced neurotoxicity: still much ado. Neural Regeneration Research. 2020. 13(11):1879-1882.
 11. Sofiana, K. D.; W, P. M., Husnul, K.; dan Widodo, M. A. Analisis Efek Paparan Kadmium Konsentrasi Rendah pada Morfologi dan Viabilitas Sel HUVECs (Human Umbilical Vein Endothelial Cells). Journal of Agromedicine and Medical Sciences. 2019. Vol. 5 No. 1.
 12. Federer, W. Experimental Design Theory and Application. Oxford and Lbh Publish Hinc. 1963.
 13. John; dan Rachmawati. Chemistry 3A. PT. Penerbit Erlangga. 2011.
 14. Sukami; Maftuch; dan Nursyam, H. Kajian Penggunaan Ciprofloxacin terhadap Histologi Insang dan Hati Ikan Botia (*Botia macracanthus*, Bleeker) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophilia*. Universitas Brawijaya. 2012. Vol 2
 15. Macirella, R.; and Brunelli, E. Morphofunctional alterations in zebrafish (*Danio rerio*) gills after exposure to mercury chloride. International Journal of Molecular Sciences. 2017. 18(4). <https://doi.org/10.3390/ijms18040824>
 16. Pantung; Nuntiya; Kerstin, G.; Helander; Herbert F. H.; and Voravit C. Histopathological Alterations of Hybrid Walking Catfish (*Clarias macrocephalus* x *Clarias gariepinus*) in Acute and Sub acute Cadmium Exposure. Environment Asia. 2008. page 22-27
 17. Hassaninezhad, L.; Safahieh, A.; Salamat, N.; Savari, A.; and Majd, N. E. Assessment of Gill Pathological Responses In The Tropical Fish Yellowfin Seabream of Persian Gulf Under

- Mercury Exposure. Toxicology reports. 2014. 621–628. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2014.07.016>
18. Indriana, E. F.; Risandiansyah, R.; dan Aini, N. Efek Paparan Kronik Cadmium Chloride (CdCl₂) Dosis Rendah Terhadap Hiperplasia Lamela Sekunder Insang dan Nekrosis Sel Tubulus Proksimal Ginjal Ikan Zebra Dewasa (*Danio rerio*) [skripsi]. Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang. 2020.
 19. Wu, S. M.; Tsai, P. J.; Chou, M. Y.; and Wang, W. D. Effects of Maternal Cadmium Exposure On Female Reproductive Functions, Gamete Quality, and Off Spring Development in Zebrafish (*Danio rerio*). Archives of Environmental Contamination And Toxicology. 2013. 65(3): 521–536
 20. Mills, M. G., & Gallagher, E. P. A targeted gene expression platform allows for rapid analysis of chemical-induced antioxidant mRNA expression in zebrafish Larvae. Plos One. 2017. DOI:10.1371/journal.pone.0171025.
 21. Burnison, B. K., Meinelt, T., Playle, R., Pietrock, M., Wienke, A., & Steinberg, C. E. Cadmium accumulation in zebrafish (*Danio rerio*) eggs is modulated by dissolved organic matter (DOM). Elsevier Ltd. (2006). 185–191.
 22. Jezierska, B.; Ługowska, K.; and Witeska, M. The Effects of Heavy Metals on Embryonic Development of Fish (a review). Fish Physiol Biochem. (2006). 35:625–640. DOI 10.1007/s10695-008-9284-4.
 23. Liu, C. T.; Chou, M. Y.; Lin, C. H.; and Wu, S. M. Effects of Ambient Cadmium with Calcium on mRNA Expressions of Calcium Uptake Related Transporters in Zebrafish (*Danio rerio*) Larvae. Fish Physiology and Biochemistry. 2012. 38(4), 977–988. <https://doi.org/10.1007/s10695-011-9583-z>
 24. Barillet, S.; Larno, V.; Floriani, M.; Devaux, A.; and Adam-Guillermin, C. Ultrastructural Effects on Gill, Muscle, and Gonadal Tissues Induced in Zebrafish (*Danio rerio*) by a Waterborne Uranium Exposure. Aquatic Toxicology (Amsterdam, Netherlands), 2010. 100(3), 295–302. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2010.08.002>
 25. Capriello, T.; Grimaldi, M. C.; Cofone, R.; Aniello, S.; and Ferrandino, I. Effects of Aluminium and Cadmium on Hatching and Swimming Ability in Developing Zebrafish. Chemosphere. 2019. 222, 243–249. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.01.140>
 26. Selderslaghs, I.; Hooyberghs, J.; and Witters H. Assessment of The Developmental Neurotoxicity of Compounds by Measuring Locomotor Activity in Zebrafish Embryos and Larvae. Neurotoxicology and Teratology. Elsevier Ltd. 2013. pp. 44–56
 27. Severi, K. E.; Portugues, R.; Marques, J. C.; O'Malley, D. M.; Orger, M. B.; and Engert, F. Neural Control and Modulation of Swimming Speed in The Larval Zebrafish. Elsevier Ltd. 2014. 692–707. doi:10.1016/j.neuron.2014.06.032.
 28. Voesenek, C. J.; Muijres, F. T.; and Van Leeuwen, J. L. Biomechanics of Swimming in Developing Larval Fish. Journal of Experimental Biology, 2018. 221(1).
 29. Dubińska-Magiera, M.; Daczewska, M.; Lewicka, A.; Migocka-Patrzałek, M.; Niedbalska-Tarnowska, J.; and Jagl, K. Zebrafish: A Model for The Study of Toxicants Affecting Muscle Development and Function. International Journal of Molecular Sciences. 2016. 17(11).
 30. Tian, J.; Hu, J.; Liu, D.; Yin, J.; Chen, M.; Zhou, L.; and Yin, H. Cadmium Chloride-induced Transgenerational Neurotoxicity in Zebrafish Development. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2021. 81, 103545. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2020.103545>
 31. Tu, H.; Fan, C.; Chen, X.; Liu, J.; Wang, B.; Huang, Z.; Zhang, Y.; Meng, X.; and Zou, F. Effects of Cadmium, Manganese, and Lead on Locomotor Activity and Neurexin 2a Expression in Zebrafish. Environmental Toxicology and Chemistry, 2017. 36(8), 2147–2154. <https://doi.org/10.1002/etc.3748>
 32. Indriyani; Risandiansyah, R.; dan Aini, N. Paparan Kronis CdCl₂ Menurunkan Kecepatan Berenang dan Meningkatkan Nekrosis Inti Hepatosit Ikan Zebra Dewasa (*Danio rerio*) [skripsi]. Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang. 2020.
 33. Messerli, M.; Aaldijk, D.; Habarthür, D.; Röss, H.; García-Poyatos, C.; Sande-Melón, M.; Khoma, O. Z.; Wieland, F.; Fark, S.; and Djonov, V. Adaptation Mechanism of The Adult Zebrafish Respiratory Organ to Endurance Training. Plos One 2020.15(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0228333>
 34. Avallone, B.; Claudio, A.; Raimondo, C.; Raffaele, P.; Palma, S.; Patrizia, C.; and Chiara, M. M. Structural and Functional Changes in The Zebrafish (*Danio rerio*) Skeletal Muscle After Cadmium Exposure. University of Naples Federico II. 2015
 35. Strzyzewska, E.; Szarek, J.; and Babinska, I.. Morphologic evaluation of the gills as a tool in the diagnostics of pathological conditions in fish and pollution in the aquatic environment: A review. Veterinarni Medicina. 2016. 61(3), 123–132. <https://doi.org/10.17221/8763-vetmed>
 36. Maina, J. N. Comparative Respiratory Morphology: Themes and Principles in the Design and Construction of the Gas Exchangers. The anatomical record (new anat.). 2000. 261:25–44
 37. Sherwood. L. Fisiologi Manusia Dari Sel ke Sistem. Penerbit Buku Kedokteran (ECG). 2013. Edisi 8
 38. Tian, J., Hu, J., Liu, D., Yin, J., Chen, M., Zhou, L., & Yin, H. Cadmium chloride-induced transgenerational neurotoxicity in zebrafish development. Environmental toxicology and pharmacology. 2021 <https://doi.org/10.1016/j.etap.2020.103545>

