

PAPARAN KRONIS CdCl₂ MENURUNKAN KECEPATAN BERENANG DAN MENINGKATKAN NEKROSIS INTI HEPATOSIT IKAN ZEBRA DEWASA (*Danio rerio*)

Indriyani, Rio Risandiansyah, Noer Aini*
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan Kadmium merupakan logam berat yang berbahaya karena bisa mencemari udara, air dan tanah. Senyawa kadmium lebih larut dalam air dibandingkan dengan logam lainnya dan berdampak buruk pada kehidupan di lingkungan perairan terutama ikan. Kadmium terakumulasi paling banyak dalam hepar, ginjal, insang, dan jaringan otot ikan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh paparan kronis CdCl₂ pada kecepatan berenang dan nekrosis hepatosit ikan zebra (*Danio rerio*) dari fase juvenile hingga dewasa.

Metode Fase *juvenile D. rerio* usia tiga bulan dibagi menjadi empat kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol, kelompok paparan dengan dosis CdCl₂ 0,5, 1, dan 1,5 ppm selama tiga puluh hari. Kecepatan berenang diamati menggunakan perangkat lunak *Tracker* versi 5.1.2, sedangkan nekrosis hepatosit menggunakan pewarnaan *Haematoxylin and eosin* (HE) pada jaringan hepar yang diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000 kali. Data dianalisis dengan *One Way ANOVA* dan nilai signifikan jika ($p < 0,05$).

Hasil Perbandingan paparan kronis CdCl₂ pada dosis 0,5, 1, dan 1,5 ppm signifikan menurunkan kecepatan berenang *D. rerio* dengan nilai p 0,000. Demikian pula, paparan kronis CdCl₂ (0,5, 1, dan 1,5 ppm) meningkatkan secara signifikan jumlah nekrosis hepatosit pada *D. rerio* dengan nilai p 0,000.

Kesimpulan Paparan kronis CdCl₂ dosis 0,5 ppm, 1 ppm, dan 1,5 ppm mampu menurunkan kecepatan berenang dan meningkatkan jumlah nekrosis hepatosit *D. rerio* dewasa.

Kata Kunci CdCl₂, kecepatan berenang, nekrosis hepatosit, *D. rerio* dewasa.

*Korespondensi : Noer Aini, M. Kes., P.hD

Jl. MT Haryono 193, Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65145

Telp +62(341)573920, alamat email : noeraini@unisma.ac.id

CHRONIC EXPOSURE OF CdCl₂ ON DECREASES SWIMMING SPEED AND INCREASES NECROSIS NUCLEUS OF HEPATOCYTE IN ADULT ZEBRAFISH (*Danio rerio*)

Indriyani, Rio Risandiansyah, Noer Aini*
Faculty of Medicine, University of Islam Malang

ABSTRACT

Introduction Cadmium is a dangerous heavy metal because it can pollute air, water and soil. Cadmium compounds are more soluble in water compared to other metals and have a negative impact on life in the aquatic environment, especially for fish. Cadmium accumulates most in the liver, kidneys, gills, and muscle tissue of fish. This study aims to determine the effect of chronic exposure to CdCl₂ on swimming speed and necrosis of zebra fish (*Danio rerio*) hepatocytes from the juvenile to the adult phase.

Methods The three month juvenile *D. rerio* phase was divided into four treatment groups: the control group, the exposure group with CdCl₂ doses of 0.5, 1, and 1.5 ppm for thirty days. Swimming speed was observed using Tracker software version 5.1.2, while hepatocyte necrosis using Haematoxylin and eosin (HE) staining of liver tissue was observed using a microscope with 1000 times magnification. Data were analyzed using One Way ANOVA with significance ($p < 0,05$).

Results Comparison of chronic exposure to CdCl₂ at doses of 0.5, 1, and 1.5 ppm significantly reduced the swimming speed of *D. rerio* with p value 0,000. Similarly, chronic exposure to CdCl₂ (0.5, 1, and 1.5 ppm) significantly increases the number of hepatocyte necrosis in *D. rerio* with p value 0,000.

Conclusion Chronic exposure of CdCl₂ at 0.5 ppm, 1 ppm, and 1.5 ppm can reduce swimming speed and increase the number of adult *D. rerio* hepatocyte necrosis.

Keywords CdCl₂, swimming speed, hepatocyte necrosis, adult *D. rerio*.

* Correspondence: Noer Aini, M. Kes., P.hD

Jl. MT Haryono 193, Malang, East Java, Indonesia, 65145

Tel +62 (341) 573920, e-mail address: noeraini@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Di lingkungan terdapat banyak jenis logam berat akibat polusi atau pencemaran. Salah satu jenis logam berat yang ditemukan adalah kadmium yang merupakan logam berat berbahaya bagi makhluk hidup dan lingkungan. Kadmium tersebar di udara, air, dan tanah.¹ Sumber paparan kadmium berasal dari bahan bakar fosil, produksi besi dan baja, semen, produksi logam nonferrous, pembakaran sampah, industri baterai, rokok, pupuk dan lain sebagainya.² Senyawa kadmium dibandingkan dengan logam berat lainnya lebih larut dalam air. Kadmium pada tingkat paparan yang sangat rendah dapat bersifat toksik dan memiliki efek akut serta kronis terhadap kesehatan tubuh.³ Efek paparan kadmium dapat mengakibatkan kerusakan sel yang berupa mutasi gen, apoptosis, penghambatan proliferasi, karsinogenitas, dan nekrosis sel. Paparan secara kronis kadmium telah terbukti karsinogenik pada organ hepar, ginjal, paru-paru, prostat, hematopoietik dan sistem lainnya.⁴ Kadmium memiliki waktu paruh sekitar dua puluh sampai empat puluh tahun.⁵

Berdasarkan penelitian oleh Avallone (2015) menggunakan ikan Zebra (*Danio rerio*) jantan dewasa yang dipapar CdCl_2 dengan konsentrasi (0.3 dan 3 mg/L) selama tiga puluh hari menyebabkan terjadinya mekanisme disorganisasi struktural otot. Sehingga, terjadi penurunan cadangan glikogen pada otot mengakibatkan energi yang dihasilkan otot menjadi berkurang. Hal ini berdampak pada terjadinya penurunan kecepatan berenang.⁶ Pada penelitian dari Sperandio (2015) menggunakan ikan Baramundi (*P. fluviatilis*) yang dipapar CdCl_2 dengan konsentrasi 5 g/L CdCl_2 selama 20 hari menyebabkan terjadinya gangguan fungsi pada neuromast, sehingga mengalami penurunan refleks dalam penerimaan getaran dan gerakan. Kemampuan ikan dalam mendeteksi adanya makanan atau mangsa yang mendekat akan menurun.⁷ Berdasarkan dari kerusakan otot dan kerusakan neuromast akibat paparan kadmium menyebabkan terjadinya penurunan aktivitas motorik. Ikan tampak lesu dan mudah lelah, sehingga terjadi penurunan kecepatan berenang.⁷ Dalam penelitian yang dilakukan Sarong (2013), menggunakan ikan Gurami (*Osphronemus goramy*) yang diambil di perairan Krueng Keuretoe Kabupaten Aceh Utara, dilaporkan pada hepar terakumulasi kadmium rata-rata sekitar 0,027 ppm, otot 0,021 ppm, dan jantung 0,020 ppm.⁸ Sedangkan, pada yang dilakukan Setyowati (2010), menggunakan ikan Belanak (*Mugil cephalus*) dari muara sungai Aloo Sidoarjo yang tercemar lumpur Lapindo dan diperkirakan mengandung kadmium 10,45 ppm, pada struktur histologis jaringan heparnya terjadi kerusakan berupa bridging nekrosis, fokal nekrosis, degenerasi intralobular dan peradangan serta fibrosis pada hepar.⁹

Ikan zebra (*Danio rerio*) merupakan salah satu jenis ikan air tawar yang banyak digunakan sebagai organisme model pengembangan berbagai penyakit pada manusia, pengembangan genetika, studi toksikologi, studi neurobiologi, dan gangguan-gangguan metabolisme.¹⁰ *D.rerio* memiliki persamaan gen yang menyerupai manusia hingga mencapai 75%.¹¹ Ikan zebra mempunyai kemampuan merasakan sensasi rasa, sentuhan, keseimbangan, dan pendengaran, serta pola hidup sirkadian.^{12,13} Persamaan lainnya, yaitu ada di sistem saluran pencernaan, jaringan adiposa visceral, dan sistem otot rangka yang menjadi landasan dasar untuk pengembangan berbagai macam model penyakit dan obat pada manusia.¹⁴

Berdasarkan hal tersebut, maka diperlukan suatu penelitian untuk menguji efek paparan CdCl_2 secara kronis dengan dosis tertentu terhadap kecepatan berenang dan struktur histologi hepar *D.rerio* dewasa.

METODE PENELITIAN

Metode penelitian eksperimental laboratorium secara *in vivo* dengan *control group post test only design* menggunakan *D.rerio juvenile*. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang dari Januari sampai April 2019. Penelitian ini mendapatkan etik dari Komisi Etik Penelitian Biosains, Universitas Brawijaya dengan nomor sertifikat No. 1070-KEP-UB tahun 2019.

Penentuan Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah *D.rerio juvenile* usia tiga bulan yang didapatkan dari peternak ikan Kabupaten Tulungagung dan telah diidentifikasi dan sertifikasi oleh Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga dengan Nomor: 006/ULMKILP/UA.FPK/03/2019.

Ikan zebra dibagi menjadi empat kelompok yaitu kontrol, dosis 0,5, 1, dan 1,5 ppm. Penentuan dosis CdCl_2 ini berdasarkan modifikasi pada penelitian sebelumnya oleh Wold (2017) Setiap kelompok masing-masing terdiri dari enam ekor *D.rerio juvenile*. Perhitungan jumlah ikan yang digunakan setiap kelompok menggunakan rumus Federer:

$$(t-1)(n-1) \geq 15 \dots (1)$$

Keterangan:

t = jumlah perlakuan

n = jumlah sampel ikan untuk tiap perlakuan

Penentuan Dosis dan Pembuatan Larutan CdCl_2

Dosis yang digunakan adalah 0,5, 1, dan 1,5 ppm. Dosis paparan berasal dari hasil eksplorasi selama satu minggu untuk mengetahui berapa dosis terendah hingga tertinggi yang masih bisa ditoleransi oleh *D.rerio juvenile*. Dari hasil

eksplorasi tersebut didapatkan Lethal Concentration 50 (Lc 50) CdCl_2 pada *D.rerio juvenile* adalah 2,5 ppm.¹⁵

Pengenceran dilakukan dengan membuat larutan induk 500 ppm dari *cadmium stock* Loba Chemie (Jakarta Selatan, Indonesia, 2417-500). Kadmium dalam bentuk *white crystal* ditimbang menggunakan timbangan digital *Ohaus Pioneer* PA214210 (Swiss). CdCl_2 (250 mg) dilarutkan dalam *aquadest* (250 mL) pada gelas *beaker*. Setelah larutan diaduk kemudian dilarutkan pada labu ukur 500 mL. Larutan induk ini mengandung konsentrasi CdCl_2 500 ppm. Selanjutnya dihitung kebutuhan masing-masing akuarium sesuai dosis yang digunakan (0,5, 1, dan 1,5 ppm).

Pengambilan Sampel dan pengamatan Kecepatan Berenang

Penelitian ini terdiri dari empat kelompok (kontrol, dosis 0,5, 1, 1,5 ppm) dengan masing-masing terdiri dari enam *D.rerio juvenile*. Setiap ikan pada setiap kelompok diletakkan dalam akuarium pengamatan yang berukuran tinggi 15 cm, panjang 25 cm, dan lebar 17 cm dengan kedalaman air sekitar 10 cm. Kemudian dilakukan perekaman selama satu menit dan diamati menggunakan perangkat lunak *Tracker* versi 5.1.2.

Pembedahan Hewan Coba dan Pengambilan Sampel

Pembedahan dan pengambilan sampel organ ikan zebra dewasa dimulai dengan proses penghilangan kesadaran hewan coba dengan cara memasukkan ikan kedalam toples kaca yang telah diisi air 5 mL. Setelah itu ditutup rapat dan ditunggu beberapa menit sampai ikan hilang kesadaran. Kemudian dilakukan pengambilan sampel hepar, organ dimasukkan dalam wadah yang telah diberi larutan formalin 10% untuk proses pembuatan dan pewarnaan preparat histologi.¹⁶

Pengamatan Histologis Inti Hepatosit *D.rerio* Dewasa

Preparat yang telah terwarnai dengan *Hematoxylen* dan *eosin* (HE) diamati dibawah mikroskop binokuler *Olympus* BX51 nomor 2210.100 (Ontario, New York, Amerika Serikat). Pengambilan gambar dilakukan dengan kamera DP71 dan perbesaran 1000 kali. Pembacaan gambar menggunakan perangkat lunak *olyVia* dengan skala 5 μm . Nekrosis inti hepatosit diidentifikasi dengan adanya tanda-tanda nekrosis yang ditandai dengan kerusakan nyata pada inti hepatosit yang menyusut (piknosis), inti sel terpecah menjadi fragmen-fragmen (karioreksis), kromatin pucat dan inti sel menghilang (kariolisis). Pengamatan histologis inti hepatosit dilakukan pada enam sampel disetiap kelompok perlakuan dan diamati pada lima lapang pandang oleh tiga orang pengamat. Selanjutnya dilakukan penghitungan presentasi nekrosis inti hepatosit dengan rumus:^{17,18}

$$\% \text{ Nekrosis} = \frac{\text{Jumlah nekrosis inti sel hepatosit}}{\text{Total inti sel hepatosit}} \times 100\% \dots (2)$$

Analisis Data

Setelah selesai dilakukan penelitian, dilakukan pengumpulan data. Data yang diperolehakan dianalisa secara statistik dengan menggunakan analisa metode *One-Way analysis of variance* (ANOVA) untuk menguji hipotesis yang ada dan *Post Hock* (LSD) untuk menentukan perbedaan antara kelompok perlakuan. Hasil dikatakan bermakna bila ($p < 0,05$).

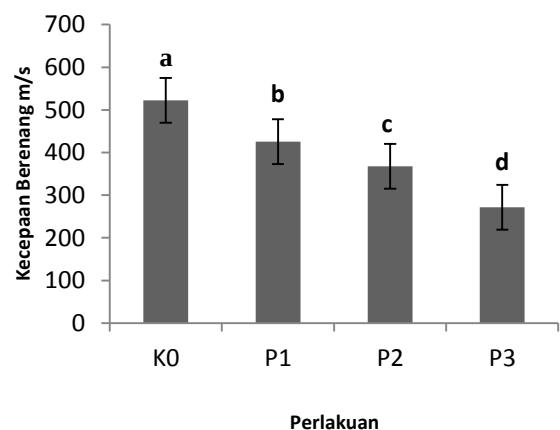
HASIL DAN ANALISIS DATA

Hasil Paparan Kronis CdCl_2 Terhadap Kecepatan Berenang *D.rerio* Dewasa

Efek paparan kronis CdCl_2 terhadap kecepatan berenang *D.rerio* dewasa dapat dilihat pada Tabel 1 berikut ini:

Tabel 1 Kecepatan Berenang Pada *D.rerio* Dewasa

No	Kelompok Perlakuan	Rerata $\pm$ SD (m/s)
1	Kontrol (K0)	522.60 $\pm$ 2.06 (a)
2	CdCl_2 0,5 ppm (P1)	425.38 $\pm$ 1.77 (b)
3	CdCl_2 1 ppm (P2)	367.59 $\pm$ 1.70 (c)
4	CdCl_2 1,5 ppm (P3)	271.51 $\pm$ 1.62 (d)



Gambar 1 Histogram Rerata Kecepatan Berenang pada *D.rerio* Dewasa

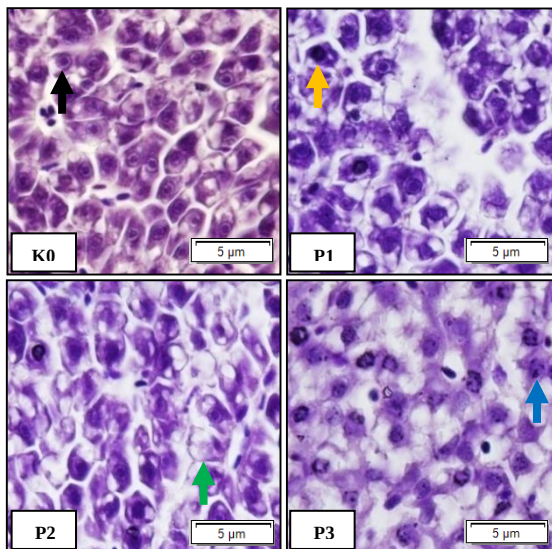
Keterangan:

Menunjukkan rerata kecepatan berenang *D.rerio* dewasa yang dipapar CdCl_2 selama 30 hari. Pada K0 (522.60 $\pm$ 2.06 m/s), P1 (425.38 $\pm$ 1.77 m/s), P2 (367.59 $\pm$ 1.70 m/s), dan P3 (271.51 $\pm$ 1.62 m/s). Data dalam mean $\pm$ SD, dan telah diuji statistik *One Way ANOVA* dengan nilai signifikan p 0,000. Notasi (a) signifikan terhadap kelompok (P1), (P2), (P3), (b) signifikan terhadap kelompok (K0), (P2), (P3), (c) signifikan terhadap kelompok (K0), (P1), (P3), dan (d) signifikan terhadap kelompok (K0), (P1), (P2).

Hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Pada kelompok kontrol menghasilkan kecepatan berenang pada *D.rerio* dewasa paling tinggi dan berbeda signifikan dengan kelompok perlakuan dosis 0,5, 1, dan 1,5 ppm. Pada paparan CdCl_2 dengan dosis 0,5, 1, dan 1,5 ppm signifikan menurunkan kecepatan berenang pada *D.rerio* dewasa sekitar 19%, 30%, dan 48% dibandingkan dengan kelompok kontrol. Terjadi penurunan kecepatan berenang *D.rerio* dewasa pada kelompok CdCl_2 1,5 ppm sebesar 36% dibandingkan kelompok CdCl_2 0,5 ppm serta 26% dibandingkan dengan kelompok CdCl_2 1 ppm dengan nilai p 0,000.

Hasil Paparan Kronis CdCl_2 Terhadap Nekrosis Struktur Histologi Inti Hepatosit *D.rerio* Dewasa

Efek paparan kronis CdCl_2 terhadap nekrosis struktur histologi sel hepatosit *D.rerio* dewasa dapat dilihat pada **Gambar 2** dan **Tabel 2** berikut ini:



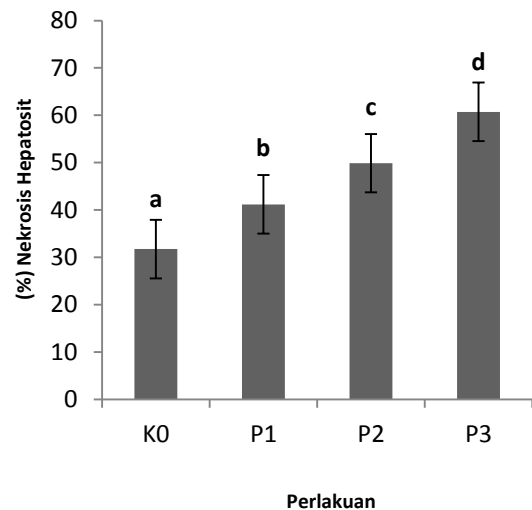
Gambar 2 Struktur Histologis Hepatosit pada *D.rerio* Dewasa Perbesaran 1000 Kali

Keterangan:

Menunjukkan gambaran mikroskopis struktur histologi inti hepatosit *D.rerio* dewasa pada kelompok K0, P1, P2, dan P3 dengan perbesaran 1000 kali. Sel hepatosit normal ditunjukkan dengan anak panah hitam, untuk sel yang piknosis ditunjukkan anak panah berwarna jingga, sel yang karioreksis ditunjukkan anak panah berwarna biru, dan sel yang kariolisis ditunjukkan anak panah berwarna hijau.

Tabel 2 Persentase Nekrosis Hepatosit Pada *D.rerio* Dewasa

No	Kelompok Perlakuan	Rerata $\pm$ SD
1	Kontrol (K0)	31.74 $\pm$ 0.86 (a)
2	CdCl_2 0,5 ppm (P1)	41.19 $\pm$ 0.84 (b)
3	CdCl_2 1 ppm (P2)	49.89 $\pm$ 0.76 (c)
4	CdCl_2 1,5 ppm (P3)	60.73 $\pm$ 1.23 (d)



Gambar 3 Histogram Rerata Nekrosis Hepatosit pada *D.rerio* Dewasa

Keterangan:

Menunjukkan rerata persentase nekrosis sel hepatosit pada *D.rerio* dewasa yang dipapar CdCl_2 selama 30 hari. Pada kelompok K0 (31.74 $\pm$ 0.86), P1 (41.19 $\pm$ 0.84), P2 (49.89 $\pm$ 0.76), P3 (60.73 $\pm$ 1.23). Data dalam mean $\pm$ SD dan telah diuji statistik *One Way ANOVA* dengan nilai signifikan p 0,000. Notasi (a) signifikan terhadap kelompok (P1), (P2), (P3), (b) signifikan terhadap kelompok (K0), (P2), (P3), (c) signifikan terhadap kelompok (K0), (P1), (P3), dan (d) signifikan terhadap kelompok (K0), (P1), (P2).

Hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Pada kelompok kontrol menghasilkan persentase nekrosis hepatosit pada *D.rerio* dewasa paling rendah dan berbeda signifikan dengan kelompok dosis 0,5, 1, dan 1,5 ppm. Pada paparan CdCl_2 dengan dosis 0,5, 1, dan 1,5 ppm signifikan meningkatkan jumlah nekrosis hepatosit pada *D.rerio* dewasa sekitar 23%, 36%, dan 49% dibandingkan dengan kelompok kontrol. Terjadi peningkatan jumlah nekrosis hepatosit *D.rerio* dewasa pada kelompok CdCl_2 1,5 ppm sebesar 32% dibandingkan kelompok CdCl_2 0,5 ppm serta 18% dibandingkan dengan kelompok CdCl_2 1 ppm dengan nilai p 0,000.

PEMBAHASAN

Paparan Kronis CdCl_2 Menurunkan Kecepatan Berenang pada *D. rerio* Dewasa

Pada penelitian ini didapatkan hasil kecepatan berenang pada kelompok kontrol paling tinggi dan pada kelompok perlakuan dosis 1.5 ppm paling rendah. Kemampuan berenang pada ikan berfungsi untuk melakukan migrasi, baik untuk mencari makan, memijah maupun menangkap mangsa atau makanan. Kecepatan berenang dipengaruhi oleh aktivitas dari jaringan otot, sirip dan jaringan saraf yang mempengaruhinya. Peranan jaringan otot dalam gerak renang ikan sangat penting, terutama untuk pergerakan tubuh dan sirip. Kontraksi *myomere* menghasilkan gelombang gerak tubuh ikan (*metachronal*), sehingga ikan bisa berenang.¹⁹ *Myomere* merupakan struktur berupa blok-blok otot pada tubuh ikan yang terdapat pada otot lurik atau rangka dan bekerja secara sadar, karena kerjanya dipengaruhi oleh rangsangan otak. Kontraksi dari otot *myomere* di satu sisi akan diikuti oleh kontraksi kelompok *myomere* di sisi yang lain, menyebabkan tubuh ikan menjadi meliuk-liuk untuk membentuk gerakan berenang.²⁰ Sirip berfungsi sebagai tenaga penggerak dan keseimbangan pada saat ikan berenang.¹⁹ Peranan paling penting ada pada sirip ekor, di mana terdapat hubungan linear yang positif antara frekwensi kibasan ekor dengan kecepatan renang.²¹ Dorongan dari kegiatan kibasan ekor ikan berhubungan dengan kecepatan renang dan konsumsi oksigen selama aktivitas spontan. Sehingga, semakin cepat aktivitas dan kecepatan renang maka akan semakin banyak pula oksigen yang dibutuhkan, dimana oksigen didapatkan dari insang.²² Pada ikan memiliki neuromast yang berada di sisi garis lateral tubuhnya. Neuromast berfungsi sebagai penerima getaran dan gerakan yang dapat mendeteksi suara jarak jauh untuk mendeteksi adanya makanan dan mangsa yang datang.²³

Kadmium masuk ke dalam tubuh ikan sebagian besar melalui insang dan usus. Kadmium dari air masuk ke dalam insang saat ikan membuka mulut. Tiap lembaran insang terdiri dari sepasang filamen yang terdapat pembuluh darah mengandung kapiler sebagai tempat pertukaran udara. Kadmium masuk bersama O_2 ke dalam insang yang kemudian diikat oleh kapiler darah untuk dibawa ke jaringan tubuh.²⁴ Sedangkan melalui sistem pencernaan, kadmium masuk melalui makanan yang terkontaminasi. Dalam saluran pencernaan, makanan yang sudah dicerna sari-sarinya akan diserap oleh dinding usus. Melalui pembuluh darah kapiler pada jonjot usus, sari makanan akan diserap ke dalam darah. Zat-zat makanan yang terkontaminasi kadmium yang telah diserap oleh darah kemudian diedarkan ke seluruh tubuh.²⁵ Kadmium akan di distribusikan ke dalam otot, kemudian terakumulasi di dalam otot.²⁶

Berdasarkan pengamatan, didapatkan hasil yang berbeda secara signifikan, dari kelompok *D. rerio* yang menerima paparan CdCl_2 0,5, 1, dan 1,5 ppm mengalami perlambatan dalam aktivitas berenangnya. Bahkan semakin besar dosis yang diberikan, maka semakin rendah kecepatan berenang yang dihasilkan. Pada penelitian yang dilakukan oleh Avallone (2015) dengan menggunakan kadmium jenis CdCl_2 dosis 0,3 dan 3 mg/l dipapar ke *D. rerio* dilarutkan dalam air selama 15 dan 30 hari, menyebabkan jaringan pada otot putih tampak tidak teratur. Jaringan otot menunjukkan pola sarkomer dengan struktur yang longgar, miofibril tidak teratur dan mengalami degenerasi. Pada retikulum sarkoplasma di bagian *terminal cisternae* tampak melebar dan miofibril mengalami pengudaran atau pembongkaran. Sehingga otot akan mengalami disorganisasi struktural.⁶

Pada saat kadmium masuk kedalam tubuh ikan, maka akan menimbulkan berbagai macam gangguan sistem organ dan kerusakan bagian tubuh. Waktu paruh untuk kadmium sekitar dua puluh sampai empat puluh tahun.⁴ Dalam insang, kadmium dapat memasuki sel klorida melalui kanal Ca^{2+} .²⁴ Kemudian logam berinteraksi dengan komponen sitoplasma, seperti enzim (menyebabkan efek toksik) dan *metallothioneine* (didetoksifikasi). Meskipun *metallothioneine* diinduksi dalam insang, namun tidak mampu menyerap sebagian besar akumulasi kadmium dan berdampak pada kerusakan struktur organ insang.²⁷ Jika struktur insang mengalami kerusakan maka oksigen yang dihasilkan tidak seimbang dengan kebutuhan respirasi dan metabolisme saat berenang, sehingga mengakibatkan kelelahan.²⁸

Pada otot, kadmium menyebabkan proses fisiologis dalam penggantian fibril terganggu, karena resorpsi terjadi di bagian dalam dan tidak di bagian terluar dari lapisan jaringan otot dimana biasanya proses pergantian terjadi.²⁹ Kadmium mengubah ekspresi mRNA atau keseimbangan Ca^{2+} dengan efek aktivasi enzim yang terlibat dalam degradasi myofibril, seperti calpain.^{30,31,32}

Disorganisasi struktural jaringan otot mengakibatkan banyak proses metabolisme dalam otot mengalami gangguan.⁶ Pada struktur mitokondria mengalami gangguan, sehingga mengalami penurunan kemampuan dalam menyimpan cadangan glikogen dan lipid netral.³³ Kadmium mengganggu proses glikosilasi (modifikasi otot dalam penambahan gugus gula pada untaian polipeptida untuk menunjang kinerja dari protein) yang berakibat terganggunya penyusunan myofibril, menyebabkan fungsi miosin terganggu.³⁴ Pada miosin terjadi proses glikasi (karamelisasi) yang mengakibatkan glukosa tidak dapat diubah menjadi ATP dan menumpuk diluar sel. Karena saat otot mengalami kontraksi, maka timbul panas dan membuat glukosa yang tidak terolah menjadi menggumpal dan menumpuk diluar sel, sehingga terjadi kerusakan pada struktural otot.⁶

Paparan kadmium dapat mengganggu kinerja neuromast di garis lateral pada ikan. Pada penelitian yang dilakukan oleh Sperandio (2015) menggunakan ikan Baramundi (*P. Fluvialtilis*) usia dua tahun, dengan paparan kadmium 50 µg/l selama enam minggu. Ditemukan bahwa kadmium mempengaruhi perilaku ikan, seperti tidak bisa mendeteksi adanya ancaman berupa tombak. Ikan berenang secara lambat dan tidak menghindari adanya tombak yang akan dilemparkan dikarenakan tidak bisa mendeteksi tombak atau isyarat bahaya yang datang. Ikan mengalami penurunan kewaspadaan saat berinteraksi dengan predator, mangsa atau sejenisnya. Perubahan perilaku yang terjadi berupa penurunan respon ikan dalam berkamuflase dan menghindari isyarat bahaya.⁷ Hal tersebut menimbulkan penurunan kemampuan dalam mencari makan, karena ikan mengalami kesulitan mendeteksi adanya makanan, akibatnya ikan kekurangan nutrisi, sehingga energi yang dihasilkan menurun.³⁵

Berdasarkan dari kerusakan struktur otot dan kerusakan neuromast akibat paparan kadmium, menyebabkan terjadinya penurunan aktivitas motorik. Ikan tampak lesu dan mudah lelah, sehingga terjadi penurunan kecepatan berenang.⁶

Paparan Kronis CdCl₂ Meningkatkan Nekrosis Inti Hepatosit pada *D. rerio* Dewasa

Pada penelitian ini didapatkan hasil struktur inti hepatosit yang mengalami nekrosis pada perlakuan kelompok kontrol paling rendah dan pada kelompok perlakuan dosis 1.5 ppm paling tinggi. Hepar adalah organ penting yang berfungsi metoksifikasi dan mensekresikan bahan kimia dalam proses pencernaan. Hepar memiliki peran penting dalam proses metabolisme dan transformasi bahan pencemar dari lingkungan. Dengan fungsi-fungsi penting tersebut, hepar menjadi organ yang paling banyak mengakumulasi zat toksik yang berakibat mudahnya terkena efek toksik.³⁶ Struktur sel hepatosit yang masih normal terlihat jelas, inti bulat dengan letak sentralis dan sinusoid tampak jelas, serta vena sentralis sebagai pusat lobulus tampak berbentuk bulat dan kosong.^{37,38}

Kadmium dapat terakumulasi paling banyak dalam hepar, diikuti oleh ginjal, insang, dan otot.^{37,38} Kadmium dapat masuk ke dalam tubuh ikan melalui makanan yang terkontaminasi. Berdasarkan fungsi hepar mendetoksifikasi darah dari benda asing. Peran ini dimainkan oleh sel *kupffer*.³⁹ Bahan toksik dimodifikasi oleh hepar dan dibuat menjadi inaktif atau larut air dengan mengkonjugasikan (memindahkan) dengan senyawa kimia lain. Dengan proses ini, hepar memberi sinyal pada tubuh untuk mengekskresikan zat-zat tersebut.⁴⁰

Dalam penelitian ini didapatkan jaringan hepar pada kelompok kontrol diperoleh hepatosit nekrosis paling sedikit, diantaranya yaitu sebagian besar nekrosis berbentuk kariolisis, sedikit piknotik

dan karioreksis hampir tidak ada. Hal ini bisa disebabkan oleh kandungan zat kimia dan mikroorganisme dalam air isi ulang, karena kualitas air rendah. Adapun juga karena makanan yang diberikan tidak steril, sehingga membawa parasit. Ikan juga dapat diserang oleh patogen baik itu virus, bakteri, jamur, protozoa maupun parasit.⁴¹ Penularan penyakit dan parasit dapat terjadi melalui beberapa mekanisme, antara lain melalui kontak langsung antara ikan sakit dan ikan sehat, bangkai ikan sakit maupun melalui air, penularan ini biasanya terjadi dalam satu tempat, misalnya dalam satu akuarium.⁴² Pada ikan dengan perlakuan paparan CdCl₂ didapatkan nekrosis dari sel hepatosit yang lumayan signifikan dibandingkan dengan sample kontrol. Terutama pada dosis paparan CdCl₂ tertinggi, yaitu 1,5 ppm didapatkan sel hepatosit yang mengalami nekrosis paling tinggi diantara perlakuan paparan yang lain. Nekrosis didominasi bentuk kariolisis dan karioreksis.

Berdasarkan penelitian tentang akumulasi kadmium pada tiga organ ikan Gurame (*Osphronemus goramy*) yang dilakukan oleh Sarong (2013). Didapatkan pada organ hepar terakumulasi kadmium paling tinggi rata-rata sekitar 0,027 ppm, otot 0,021 ppm, dan jantung 0,020 ppm.⁸ Pada saat kadmium diserap ke dalam aliran darah maka akan berikatan dengan albumin.⁴³ Darah dari usus dan organ visera lainnya yang sudah terkontaminasi kadmium di alirkan ke hepar oleh vena porta dan terakumulasi dalam hepar.⁴⁴ Hal tersebut menginduksi sintesis *metallothioneine* yang menyebabkan terjadinya proses pengikatan kadmium dalam jaringan.⁴⁵ Sehingga berdampak pada berkurangnya kemampuan hepar dalam mendetoksifikasi zat toksik yang semakin lama akan menurunkan fungsi kerja dari hepar.⁴⁶ Dengan paparan kadmium secara terus-menerus menyebabkan *metallothionein* tidak mampu mendetoksifikasi zat toksik, sehingga menyebabkan rusaknya struktur histologi hepar.³⁵

Berdasarkan penelitian yang di lakukan oleh Pantung (2008) menggunakan ikan Lele (*Clarias macrocephalus* dan *Clarias gariepinus*) yang diberi paparan kadmium menyebabkan terjadinya pembengkakan hepatosit akibat pengaruh zat toksik secara langsung pada mekanisme transpor ion. Pembengkakan sel dicirikan dengan adanya vakuola akibat dari pembengkakan sel hepatosit, menyebabkan sinusoid menyempit dan sitoplasma tampak keruh. Pembengkakan sel terjadi karena ketidak setimbangan muatan elektrolit di luar dan di dalam sel. Terjadi ketidak stabilan sel saat memompa ion Na⁺ keluar dari sel yang menyebabkan peningkatan masuknya cairan dari ekstraseluler ke dalam sel sehingga sel tidak mampu memompa ion natrium yang cukup. Hal ini mengakibatkan sel membengkak, sehingga sel kehilangan integritas membrannya, kemudian berlanjut dengan sel mengeluarkan materinya (bocor) yang menyebabkan terjadi nekrosis.⁴³

Pada penelitian yang dilakukan oleh Setyowati (2010) menggunakan ikan Belanak (*Mugil cephalus L.*) diambil dari muara sungai Aloo Sidoarjo yang telah tercemar lumpur Lapindo dan diperkirakan mengandung kadmium 10,45 ppm. Dari hasil yang didapatkan kerusakan sel hepatosit berupa bridging nekrosis. Bridging nekrosis merupakan kerusakan hepatosit yang membentuk suatu rangkaian di area periportal akibat dari hepatosit, kemudian menjalar ke daerah pembuluh (portal ke portal, portal ke sentral, dan sentral ke sentral). Pembengkakan sel bersifat reversible, jika paparan zat toksik tidak berlanjut maka sel dapat kembali normal. Tapi, jika paparan zat toksik berlangsung terus-menerus, maka sel akan mengalami nekrosis dan tidak bisa kembali normal.⁹

Nekrosis berupa bentuk piknotik, karioreksis dan kariolisis. Bentuk piknotik, yaitu inti sel mengalami pengerutan dan tampak berwarna lebih tua (kehitaman). Bentuk karioreksis ditandai dengan inti sel menjadi hancur atau pecah, pecahan dari kromatinnya tersebar dalam sel. Bentuk kariolisis ditandai dengan inti sel mengalami kehilangan kemampuan untuk diwarnai (pucat) atau tampak samar-samar berongga dan menghilang.⁹

KESIMPULAN

Pemberian paparan kronis CdCl_2 0,5, 1, dan 1,5 ppm mampu menurunkan kecepatan berenang dan meningkatkan nekrosis inti hepatosit pada hepar *D. rerio* dewasa.

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian ini, peneliti menyarankan:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut efek toksisitas kronis CdCl_2 terhadap kadar MDA otot *D. rerio* dewasa.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut efek toksisitas kronis CdCl_2 terhadap kadar kadmium pada otot *D. rerio* dewasa dengan metode Atomic Absorption Spectrophotometer.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada IOM FK UNISMA yang telah mendanai penelitian. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada dosen pembimbing, staf laboratorium, dan tim zebrafish yang telah membantu dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA:

1. Sharma Honey, Rawal Neetu, Mathew Blessy Baby. *The Characteristics, Toxicity and Effects of Cadmium*. Department of Biotechnology. Sapthagiri College of Engineering. Bangalore-57. Karnataka. India. 2015.
2. European Food Safety Authority. *Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission on cadmium in food*. 2009. 980:1–144.
3. Nordic Council of Ministers. *Cadmium Review*. January. 2003.
4. Sarkar Angshuman, Ravindran Greethanjali, Krishnamurthy Vishnuvardhan. *A brief review on the effect of cadmium toxicity: from cellular to organ level*. Department of Biological Sciences. BITS Pilani. K K Birla Goa Campus. Zuarinagar. India. 2013.
5. Sartor Francis A., Rondia Désiré J., Claeys Francoise D., and Staessen Jan A. *Impact of Environmental Cadmium Pollution on Cadmium Exposure and Body Burden*. Archives of Environmental Health. 1992. 47:347-353.
6. Avallone Bice, Claudio Agnisola, Raimondo Cerciello, Raffaele Panzuto, Palma Simoniello, Patrizia Cretì, and Chiara Maria Motta. *Structural and functional changes in the zebrafish (Danio rerio) skeletal muscle after cadmium exposure*. University of Naples Federico II. 2015.
7. Sperandio Giorgio. *Cadmium Affects boldness, freezing and swimming behaviour in Perca fluviatilis - European perch*. University of Siena. Italia. 2015.
8. Sarong M. Ali, Mawardi Abdul L., A. Muchlisin Z. *Akumulasi Logam Cadmium Pada Organ Tiga Spesies Ikan Di perairan Krueng Keuretoe Kabupaten Aceh Utara*. Unsyiah. Aceh. 2013.
9. Setyowati A., Hidayati D., Awik P.D.N, Abdulgani N. *Studi Histopatologi Hati Ikan Blanak (Mugil cephalus) Di Muara Sungai Aloo Sidoarjo*. Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya. 2010.
10. Volhard Christiane Nüsslein and Dahm Ralf. *The morphology of larval and adult zebrafish*. UK: Oxford University Press. 2002.
11. Khotimah Kusnul, dan Zulaika Enny. *Azotobacter sebagai Bioakumulator Merkuri*. Jurnal Sains Pomits. 2013. Vol. 2.
12. Moorman S. J. *Development of sensory systems in zebrafish (Danio rerio)*. Institute for Laboratory Animal Research Journal. 2001. 42(4):292-8.
13. Zhdanova I. *Zebrafish: High Throughput Approach to Sleep Research*. International Conference on Methods and Techniques in Behavioural Research, Wageningen. The Netherlands. 2005.
14. Seth, A., Stemple, D. L., and Barroso, I. *The Emerging Use of Zebrafish to Model Metabolic Disease*. 2013. 6:5. p1080-1088.
15. Wold M., Beckmann M., Poitra S., Espinoza S., Longie R., Mersereau E., Darland D. C., Darland T. *The Longitudinal Effects of Early Developmental Cadmium Exposure on*

- Conditioned Place Preference and Cardiovascular Physiology in Zebrafish. 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.07.017>
16. Putri A. N., Yahya A., Fadli M. Z. Uji Toksisitas Subkronik Dekokta Kombinasi *Imperata cylindrica*, *Gynura procumbens* dan *Syzygium polyanthum* Terhadap Hiperplasia Lamela Insang *Danio rerio*. Jurnal Kedokteran Komunitas. 2015. 3(1).
 17. Deakandi W. Y., Risandiansyah R., Yahya A. Pengaruh Dekokta *Eceng Gondok* (*Eichhornia crassipes*) terhadap Kadar Malodialdehid (MDA) dan Nekrosis Sel Tubulus Proksimal Ginjal Tikus Wistar Jantan dengan Induksi Oral Kadmium Klorida (CdCl_2) Subkronis Dosis Rendah. Journal of Islamic Medicine Research. 2017. 1(1).
 18. Fahrimal Y., Rahmiwati., dan Aliza D. Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan yang Diinfeksi Trypanosoma evansi dan Diberi Ekstrak Daun Sernai (*Wedelia biflora*). Jurnal Medika Veterinaria. 2016. 10(2).
 19. Lagler K.F., J.E. Bardach, R.R. Miller and D.R.M. Passino. Ichthyology. Sec. Ed. John Wiley & Sons. New York. 1977.
 20. Marsenda Pisca Hana. Sistem Otot (*Muscularis*) pada Ikan (*Pisces*). Universitas Jambi. 2012
 21. Nursall J.R. Swimming and the origin of paired appendages. In: Milton S. Love and Gregor M. Cailliet (eds), Reading in Ichthyology. Prentice-Hall of India. New Delhi. 1979.
 22. Steinhausen M. F, Steffensen J. F, Andersen N. G. The relationship between caudal differential pressure and activity of Atlantic cod: a potential method to predict oxygen consumption of free swimming fish. J Fish Biol. 2007. 71:957–969.
 23. Montgomery J. C., Coombs S., & Baker C. F . The mechanosensory lateral line system of the hypogean form of *Astyanax fasciatus*. Environmental Biology of Fishes. 2001. 62, 87–96.
 24. Olsson, P. E. Disorders associated with heavy metal pollution. In: Fish Diseases and Disorders Volume 2 (Non-infectious Disorders). (Eds. Leatherland, J.E. and Woo, P.T.K.), CABI International, U.K. 1998. pp: 105–131.
 25. Doull J. Factors influencing toxicology. Pp. 70–83 in Casarett and Doull's Toxicology: Basic Science of Poisons, 2nd ed., J. Doull, editor; C. D. Klaassen, editor; and M. O. Amdur, New York: Macmillan. 1980.
 26. McIntosh, A.W.B.K., R.A. Shephard, G.J. Mayes, Atchison, and D. W. Nelson. Some aspects of sediment distribution and macrophyte cycling of heavy metals in a contaminated lake. J. Environ. Qual. 1978. 7: 301–305.
 27. Olsson, P.E. and C. Hogstrand. Subcellular distribution and binding of cadmium to metallothionein in tissues of rainbow trout after exposure to ^{109}Cd via the water. Environ. Toxicol. Chem. 1987. 6: 867–874.
 28. Nofrizal dan Arimoto, T. ECG monitoring on swimming endurance and heart rate of jack mackerel *Trachurus japonicus* during repeated exercise. Journal Asian Fisheries Society . 2011. 24: 78–87.
 29. Neti G., Novak S. M, Thompson V. F, Goll D. E. Properties of easily releasable myofilaments: are the first step in myofibrillar protein turnover. Am J Cell Physiol. 2009. 296:C1383–90.
 30. Papa V, Wannenes F, Crescioli C, Caporossi D, Lenzi A, Migliaccio S, et al. The environmental pollutant cadmium induces homeostasis alteration in muscle cells in vitro. J Endocrinol Invest. 2014. 37:1073–80.
 31. Koohmaraie M. Ovine skeletal muscle multicatalytic proteinase complex (proteasome): purification, characterization and comparison of its effects on myofibrils with μ -calpains. J Anim Sci. 1992. 70:3697–708.
 32. Goll D. E., Neti G., Mares S. W., Thompson V. F. Myofibrillar protein turnover. The proteasome and the calpains. J Anim Sci. 2008. 86:19–35.
 33. Pierron F, Baudrimont M, Bossy A, Bourdineaud J. P, Brèthes D, Elie P, et al. Impairment of lipid storage by cadmium in the European eel (*Anguilla anguilla*). Aquat Toxicol. 2007. 81: 3304–11.
 34. Ramamurthy B., Hook P., Jones A. D., Larsson L. Changes in myosin structure and function in response to glycation. FASEB J. 2001. 15:2415–22.
 35. Coleman J. E., dan Wilson. Metal Ion Dependent Binding of Sulfonamide to Carbonic Anhydrase. Nature. 1998. 214:193–194.
 36. Hidayati Dewi. Aplikasi Fitoremediasi Polutan dengan Kiambang (*Salvinia molesta*) dan Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes*) pada Air Tercemar Lumpur Lapindo dan Uji Biologis Sebagai Media Pemeliharaan Bandeng (*Chanos chanos*). Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat. ITS. 2009.
 37. Andreji J., Dvorak P., Dvorakova Liskova Z., Massányi P., Stranai I., Nad P. Content of selected metals in muscle of cyprinid fish species from the Nitra River, Slovakia. Neuro Endocrinol Lett. 2012. 33 Suppl 3:84–9.
 38. Cao L., Huang W., Shan X., Ye Z., Dou S. Tissue specific accumulation of cadmium and its effects on antioxidative responses in Japanese flounder juveniles. Environ Toxicol Pharmacol. 2012. 33:16–25.
 39. Barrett K. E, Barman S. M, Boitano S., Brooks H. Ganong's Review of Medical Physiology. 24th Edition. Mc Graw Hill Professional. 2013.

40. Elizabeth J. Corwin. *Buku Saku Patofisiologi Corwin*. Jakarta. Aditya Media.2009.
41. Aryani N., Henny S., Iesje L., Morina R. *Parasit dan Penyakit Ikan*. UNAI Press. Pekanbaru. 2004.
42. Sunarto A. *Epidemiologi Penyakit Koi Herpes Virus (KHV) di Indonesia*. Pusat Riset Perikanan budidaya. Jakarta. 2005.
43. Nuntiya Pantung, Kerstin G. Helander, Herbert F. Helander, and Voravit Cheevaporna. *Histopathological Alterations of Hybrid Walking Catfish (Clarias macrocephalus x Clarias gariepinus) in Acute and Subacute Cadmium Exposure*. Faculty of Science, Burapha University, Chonburi 20131, Thailand. *EnvironmentAsia* 1. 2008. 22-27.
44. Loomis T. A. *Toksikologi Dasar*. Penerjemah Donatus. Semarang: IKIP Semarang Press.1978.
45. Dewi N. K., & Rosi P. *Determination of Liver Somatic Index (LSI) and Gonadosomatic Index (GSI) Value of Crap (Cyprinus carpio) and Nile tilapia (Perca fluviatilis)*. *International Journal of Scientific and Research Publication*.2017. 7(6). Retrieved from <http://www.ijsrp.org/research-paper-0617.php?rp=P666482>
46. Sanusi H. S. *Akumulasi logam berat Hg dan Cd pada tubuh ikan bandeng (Chanos chanos, Forskal)*. Disertasi. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor. 1985. 192 hal.