

EFEK PAPARAN KRONIK *CADMIUM CHLORIDE* (CdCl_2) DOSIS RENDAH TERHADAP HIPERPLASIA LAMELA SEKUNDER INSANG DAN NEKROSIS SEL TUBULUS PROKSIMAL GINJAL IKAN ZEBRA DEWASA (*Danio rerio*)

Evilya Fitra Indriana, Rio Risandiansyah, Noer Aini
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: *Cadmium* (Cd) merupakan salah satu logam berat yang toksik, dan bisa larut dalam air. Pada paparan dosis rendah kronik dapat menimbulkan gangguan pada sistem respirasi dan ginjal. Pada ikan zebra dewasa efek toksik menyebabkan hiperplasia organ insang dan nekrosis inti sel ginjal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek toksisitas kronik CdCl_2 terhadap hiperplasia lamela sekunder insang dan nekrosis inti sel ginjal pada ikan zebra yang dipapar CdCl_2 pada fase juvenile hingga dewasa.

Metode: Ikan zebra (*Danio rerio*) fase juvenile usia 3 bulan dibagi 4 kelompok yaitu; kelompok kontrol, CdCl_2 dosis 0,5 ppm, 1 ppm, dan 1,5 ppm yang dipapar selama 30 hari. Lamela sekunder insang dan inti sel ginjal diberi pewarnaan *Haematoxylin and eosin* (HE), untuk pemeriksaan hiperplasia insang dan nekrosis sel ginjal. Data lamela sekunder insang diuji One-Way Anova dilanjutkan uji Post Hoc Tests, data nekrosis inti sel tubulus proksimal ginjal diuji Kruskal Wallis dilanjutkan uji Mann Whitney ($p < 0,05$).

Hasil: Paparan CdCl_2 dosis 0,5 ppm, 1 ppm, dan 1,5 ppm signifikan meningkatkan jumlah hiperplasia lamela sekunder insang ikan zebra dewasa berturut-turut 67%, 78%, dan 86% dibandingkan kelompok kontrol. Paparan CdCl_2 dosis 0,5 ppm, 1 ppm, dan 1,5 ppm signifikan meningkatkan nekrosis inti sel ginjal ikan zebra dewasa berturut-turut 75%, 79%, dan 84% dibandingkan kelompok kontrol.

Kesimpulan: Paparan CdCl_2 dosis 0,5 ppm, 1 ppm, dan 1,5 ppm meningkatkan jumlah hiperplasia lamela sekunder insang dan nekrosis inti sel ginjal ikan zebra.

Kata Kunci: *Cadmium chloride* (CdCl_2), hiperplasia lamela sekunder insang, nekrosis inti sel ginjal, ikan zebra dewasa.

Korespondensi : Noer Aini.

Email : noeraini@unisma.ac.id

CHRONIC EFFECTS OF LOW DOSE *CADMIUM CHLORIDE* (CdCl_2) EXPOSURE ON SECONDARY LAMELLA GILLS HYPERPLASIA AND NECROSIS OF PROXIMAL TUBULAR KIDNEY CELL IN ADULT ZEBRAFISH (*Danio rerio*)

ABSTRACT

Introduction: *Cadmium* (Cd) is a toxic heavy metal, and can water soluble. Chronic low-dose exposure of the metal causes disturbances on the respiratory system and kidneys. In adult zebrafish the toxic effect causes hyperplasia gill and necrotic nuclei of kidney cell in adult fish. This research studies the effect of chronic toxicity of CdCl_2 on secondary lamella of gills and kidney cell nucleus in zebrafish exposed to CdCl_2 since juvenile phase to adulthood.

Methods: Juvenile zebrafish (*Danio rerio*), age 3 months, were divided into 4 groups, namely the control group, 3 groups receiving CdCl_2 dose of 0,5 ppm, 1 ppm, and 1,5 ppm respectively, for 30 days. Hiperplasia secondary lamella of gills and necrotic nuclei of kidney cells were histologically observed. Prior to the observations the gill and kidney were stained by HE. Secondary lamella gill data were tested by One-Way Anova followed by Post Hoc Tests, data of renal proximal tubular cell nuclei necrosis was tested by Kruskal Wallis followed by Mann Whitney test ($p < 0.05$).

Results: Exposure to CdCl_2 doses of 0,5 ppm, 1 ppm, and 1,5 ppm significantly increased the amount of hyperplasia secondary lamella of the gills by 67%, 78%, and 86% respectively compared to those of the control group. Exposure to CdCl_2 doses of 0.5 ppm, 1 ppm, and 1.5 ppm significantly increased the core necrosis of kidney cells nucleus in adult zebrafish 75%, 79%, and 84% compared to the control group.

Conclusion: Exposure to CdCl_2 doses of 0.5 ppm, 1 ppm, and 1.5 ppm increases the number of hyperplasia secondary lamella of gills and necrotic nuclei of kidney cells adult zebrafish.

Keywords: *Cadmium chloride* (CdCl_2), secondary lamella hyperplasia of gills, kidney cell nucleus necrosis, adult zebrafish.

Correspondence : Noer Aini.

Email : noeraini@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Cadmium adalah logam berat memiliki kandungan racun yang sangat kuat memiliki warna perak-putih.^{1,2} *Cadmium* bisa berasal dari beberapa sumber seperti asap rokok tembakau, penambangan, pembakaran sampah (baterai dan plastik yang mengandung *cadmium*), pemurnian dan peleburan logam non-besi, dan pestisida.³ *Cadmium* juga sering digunakan sebagai bahan tambahan dalam berbagai industri.⁴

Cadmium akan masuk ke tubuh manusia melalui jalur paru-paru, saluran gastrointestinal dan kulit.⁵ Sedangkan pada ikan air tawar, *cadmium* serap tubuh melalui insang, kulit, dan melalui makanan yang diserap usus.⁶

Cadmium mempunyai *half-life* yang panjang sehingga berbahaya bagi tubuh karena akan terakumulasi di hati dan ginjal, yang berperan sebagai target utama toksisitas.⁷ Efek *cadmium* pada tubuh dalam jangka waktu pendek berupa sesak nafas, kelemahan, demam, edema paru, pneumonia, muntah dan diare.^{8,9} Sedangkan pada jangka panjang *cadmium* bisa menyebabkan gangguan pada; ginjal (kerusakan sel yang menetap), tulang (*itai-itai disease*), paru-paru (empisema), anosmia, rinitis kronis, penyakit paru obstruktif kronis, peradangan yang menyebabkan proliferasi sel paru dan kanker paru-paru), jantung dan pembuluh darah (aterosklerotik), gastrointestinal (inflamasi), dan reproduksi (kerusakan fungsi testis).⁸

Pada penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Jalaludeen (2012) disebutkan penggunaan *cadmium* menyebabkan edema, sekresi mukus pada lamela insang dan nekrosis pada sel-sel ginjal dan pada penelitian yang dilakukan oleh Hayati (2014) paparan *cadmium nitrat* menyebabkan hiperplasia lamela sekunder insang.^{10,11} Insang pada ikan memiliki peranan yang penting dalam proses oksigenasi dalam darah. Air yang masuk melalui mulut, diatas insang dan keluar melalui operkula. Aliran air didorong melalui ekspansi alternatif, kontraksi buccal, dan bilik opercular. Darah mengalir melalui filamen arteri aferen dari lamela primer masuk ke dalam ruang darah lamela sekunder, dimana CO₂ dilepaskan ke dalam air dan O₂ diambil. Lamela sekunder terdiri dari satu lapis sel epitel, didukung, dan dipisahkan, oleh sel-sel pilar.¹¹ Ginjal merupakan bagian organ tubuh yang vital dan berfungsi untuk homeostasis. Ginjal tidak hanya melakukan fungsi reabsorpsi selektif saja tetapi juga membantu dalam menjaga volume, pH darah, cairan tubuh dan erythropoieses. Ginjal juga merupakan organ pertama yang terkena kontaminasi air yang tercemar.¹⁰

Ikan zebra (*Danio rerio*) adalah hewan yang memiliki 70% kemiripan genetik dengan manusia, serta terdapat persamaan fisiologi, anatomi, dan pemeliharaannya mudah sehingga model ikan ini

dapat digunakan untuk memprediksi toksisitas pada manusia.^{12,13}

Oleh karena itu maka perlu dilakukan analisis seberapa berpengaruh efek toksisitas kronis *cadmium chloride* (CdCl₂) yang dipaparkan selama 30 hari pada ikan zebra untuk mengetahui pengaruhnya terhadap struktur lamela sekunder insang dan nekrosis sel tubulus proksimal ginjal pada ikan zebra.

METODE PENELITIAN

Desain penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratorium secara *in vivo* dengan *control group post test only design* menggunakan ikan zebra fase juvenile. Pelaksanaanya di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang. Penelitian dimulai dari bulan Januari 2019 sampai dengan April 2019. Penelitian ini mendapatkan laik 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 ikan zebra usia 3 bulan yang didapatkan dari petani ikan Kabupaten Tulungagung dan telah diidentifikasi dan disertifikasi oleh Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga dengan Nomor : 006/ULMKILP/UA.FPK/03/2019.

Ikan zebra juvenile dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kontrol, dosis 0,5 ppm, 1 ppm, dan 1,5 ppm yang dipapar selama 30 hari. Penentuan dosis CdCl₂ berdasarkan eksplorasi kelompok penelitian. Setiap kelompok masing-masing terdiri dari 6 ekor ikan zebra juvenile. Perhitungan jumlah ikan yang digunakan setiap kelompok menggunakan rumus Federer.

Penentuan Dosis dan Pembuatan Larutan

Cadmium Chloride (CdCl₂)

Dosis yang digunakan adalah 0,5 ppm, 1 ppm, dan 1,5 ppm. Dosis paparan berasal dari hasil eksplorasi selama satu minggu. Dari hasil eksplorasi tersebut ditentukan *Lethal Concentration* 50 (LC 50) *cadmium* pada ikan zebra juvenile adalah 2,5 ppm.¹⁴

Pengeceran dilakukan dengan membuat larutan induk 500 ppm dari *cadmium stock* merek *Loba Chemie*. *Cadmium* dalam bentuk *white crystal* ditimbang menggunakan timbangan digital Ohaus Pionner PA214210 sebanyak 250 mg CdCl₂, kemudian CdCl₂ dilarutkan dalam gelas *beaker* menggunakan aquadest sebanyak 250 mL, diaduk dan dilarutkan pada labu ukur 500 mL. Gelas *beaker* ditambahkan aquadest hingga mencapai 500 mL pada labu ukur 500 mL. Setelah larutan induk didapatkan

500 ppm, kemudian dihitung kebutuhan masing-masing akuarium untuk mendapatkan dosis 0,5 ppm, 1 ppm, dan 1,5 ppm dan didapatkan pengenceran larutan *cadmium* yaitu 50 ml, 100 ml, dan 150 ml.

Pembedahan Hewan Coba dan Pengambilan Sampel

Pembedahan dan pengambilan sampel organ ikan zebra dimulai dengan proses penghilangan kesadaran hewan coba dengan cara memasukkan ikan ke dalam toples kaca yang telah diisi air 5 ml. Setelah itu ditutup rapat dan ditunggu beberapa menit sampai ikan tidak sadar. Kemudian dilakukan pengambilan sampel insang dan ginjal pada ikan zebra dewasa. Dimasukkan dalam wadah yang telah diberi larutan formalin 10% untuk proses pembuatan dan pewarnaan preparat histologi.¹⁵

Pengamatan Histologis Lamela Insang Ikan Zebra Dewasa

Preparat yang telah terwarnai dengan *Hematoxylen* dan *eosin* (HE) diamati dibawah mikroskop *binokuler Olympus* dengan perbesaran 1000X. Hiperplasia lamela insang diidentifikasi dengan adanya penambahan jumlah sel pada lamela sekunder sehingga terlihat seperti pemukul bisbol atau *clubbing distal*.¹⁶ Pengamatan histologis hiperplasia lamela insang dilakukan pada 6 sampel disetiap kelompok perlakuan dan diamati pada 5 lapang pandang oleh 3 orang pengamat. Selanjutnya dilakukan penghitungan presentasi hiperplasia lamela insang dengan rumus:¹⁷

$$\% \text{ Hiperplasia} = \frac{\text{Jumlah lamela sekunder hiperplasia}}{\text{Total lamela sekunder}} \times 100\%$$

Pengamatan Histologis Nekrosis Inti Sel pada Ginjal.

Preparat yang telah terwarnai dengan *Hematoxylen* dan *eosin* (HE) diamati dibawah mikroskop *binokuler Olympus* dengan perbesaran 1000X. Nekrosis inti sel pada ginjal dapat diidentifikasi menjadi piknotik, karioreksis, dan kariolisis. Pengamatan histologis nekrosis inti sel dilakukan pada 6 sampel disetiap kelompok perlakuan dan diamati pada 5 lapang pandang oleh 3 orang pengamat. Selanjutnya dilakukan penghitungan presentasi nekrosis inti sel ginjal dengan rumus:^{18,37}

$$\% \text{ Nekrosis} = \frac{\text{Inti sel ginjal nekrosis}}{\text{Total inti sel ginjal}} \times 100\%$$

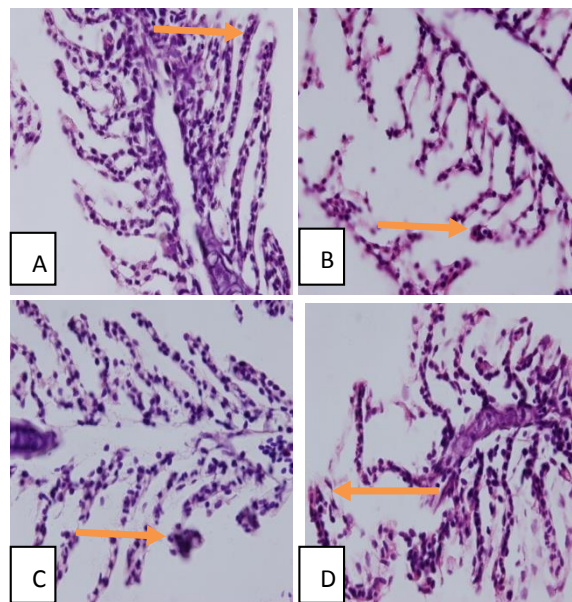
Analisis Data

Data hiperplasia lamela insang dianalisis dengan menggunakan *One Way ANOVA* untuk menguji hipotesis dilanjutkan *Post Hoc Test LSD* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan. Dinyatakan berbeda signifikan apabila ($p < 0.05$). Data nekrosis inti sel pada ginjal dianalisis dengan menggunakan *Kruskal Wallis* untuk menguji hipotesis dilanjutkan *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan. Dinyatakan berbeda signifikan apabila ($p < 0.05$).

HASIL DAN ANALISIS DATA

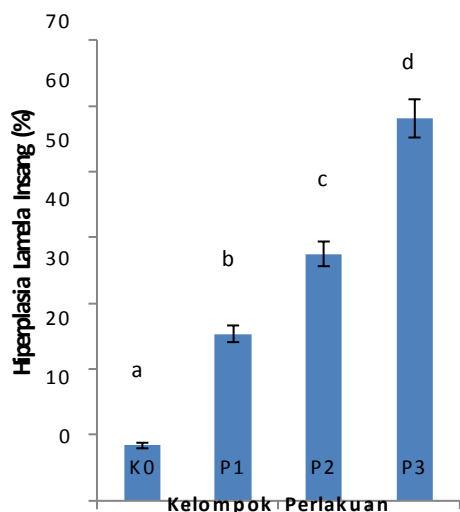
Efek Toksisitas Kronik *Cadmium Chloride* (CdCl_2) Dosis Rendah Terhadap Struktur Lamela Sekunder Insang Ikan Zebra Dewasa (*Danio rerio*)

Efek Toksisitas *cadmium chloride* (CdCl_2) terhadap terhadap struktur lamela sekunder ikan zebra dewasa dapat dilihat pada gambar 1 di bawah ini:



Gambar 1 Struktur Histologis Lamela Insang pada Ikan Zebra Dewasa (*Danio rerio*)

Keterangan: Gambar 1 menunjukkan gambaran mikroskopis struktur histologis lamela sekunder insang pada ikan zebra dewasa kelompok kontrol (A), kelompok CdCl_2 0,5 ppm (B), kelompok CdCl_2 1 ppm (C), dan kelompok CdCl_2 1,5 ppm (D) dengan perbesaran 1000x. Hiperplasia lamela sekunder insang pada ikan zebra dewasa ditunjukkan oleh anak panah kuning yang ditandai dengan *clubbing distal* tampak seperti pemukul bisbol.



Gambar 2 Histogram Rerata Persentase Hiperplasia Lamela Insang pada Ikan Zebra Dewasa (*Danio rerio*)

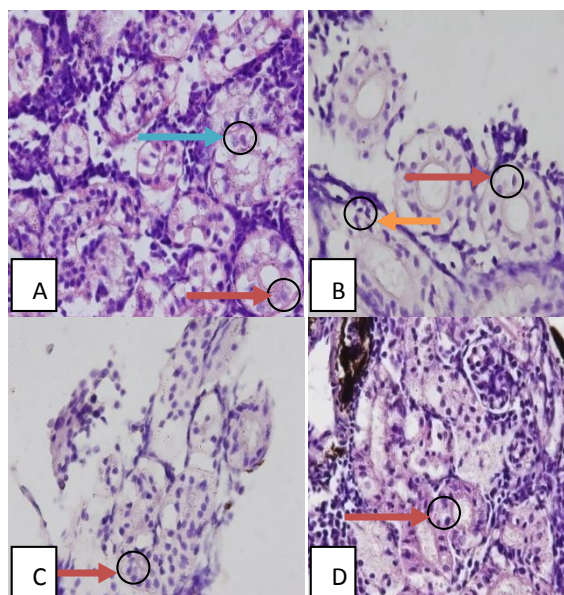
Keterangan:

Gambar 2 menunjukkan rerata persentase hiperplasia lamela sekunder insang pada ikan zebra dewasa pada K0 (8,40 ± 2,43), P1 (25,37 ± 1,33), P2 (37,51 ± 2,24), dan P3 (58,08 ± 3,43). Data dalam mean ± SD dan telah diuji statistik *One Way ANOVA* dilanjutkan *Post Hoc Tests* dengan nilai signifikan ($p < 0,05$). Notasi (a) signifikan terhadap P1, P2, P3, (b) signifikan terhadap K0, P2, P3, (c) signifikan terhadap K0, P1, P3, (d) signifikan terhadap K0, P1, P2. Notasi yang berbeda menunjukkan hasil signifikansi yang bermakna.

Pada penelitian ini pemaparan CdCl_2 0,5 ppm, 1 ppm, dan 1,5 ppm signifikan meningkatkan jumlah lamela sekunder hiperplasia pada ikan zebra dewasa sebesar 67%, 78%, dan 86% dibandingkan dengan kelompok kontrol. Didapatkan hasil peningkatan jumlah hiperplasia lamela sekunder insang ikan zebra dewasa pada kelompok perlakuan CdCl_2 1,5 ppm sebesar 56% dibandingkan kelompok CdCl_2 0,5 ppm, kelompok CdCl_2 1,5 ppm sebesar 35% dibandingkan dengan kelompok CdCl_2 1 ppm dan kelompok CdCl_2 1 ppm sebesar 32% dibandingkan dengan kelompok CdCl_2 0,5 ppm ($p < 0,05$).

Efek Toksisitas Kronik *Cadmium Chloride* (CdCl_2) Dosis Rendah Terhadap Nekrosis Inti Sel Pada Tubulus Proksimal Ginjal Ikan Zebra Dewasa.

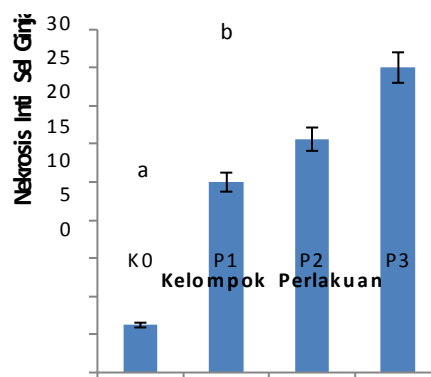
Efek toksisitas *cadmium chloride* (CdCl_2) dosis rendah terhadap nekrosis inti sel pada ginjal dapat dilihat pada gambar 3 :



Gambar 3 Struktur Histologis Inti Sel Ginjal pada Ikan Zebra Dewasa (*Danio rerio*)

Keterangan:

Gambar 3 menunjukkan gambaran mikroskopis struktur histologis inti sel ginjal pada ikan zebra dewasa pada kelompok kontrol (A), kelompok CdCl_2 0,5 ppm (B), kelompok CdCl_2 1 ppm (C), dan kelompok CdCl_2 1,5 ppm (D) dengan perbesaran 1000x. Nekrosis inti sel ginjal ditunjukkan oleh anak panah berwarna kuning (piknosis), anak panah biru (karioreksis) dan anak panah merah (kariolisis).



Gambar 4 Histogram Rerata Persentase Nekrosis Inti Sel Ginjal pada Ikan Zebra Dewasa (*Danio rerio*)

Keterangan:

Gambar 5.4 menunjukkan rerata persentase nekrosis inti sel ginjal ikan zebra dewasa pada K0 (6,23 ± 2,70), P1 (24,99 ± 3,75), P2 (30,63 ± 1,05), dan P3 (40,03 ± 1,96). Data dalam mean ± SD dan telah diuji statistik *Kruskal Wallis* dilanjutkan *Mann Whittney* dengan nilai signifikan ($p < 0,05$). Notasi (a) signifikan terhadap P1, P2, P3, (b) signifikan terhadap K0, P2, P3, (c) signifikan terhadap K0, P1, P3, (d) signifikan terhadap K0, P1, P2. Notasi yang berbeda menunjukkan hasil signifikansi yang bermakna.

Pada penelitian ini pemaparan CdCl_2 0,5 ppm, 1 ppm, dan 1,5 ppm signifikan meningkatkan jumlah nekrosis inti sel pada ginjal ikan zebra dewasa sebesar 75%, 79%, dan 84% dibandingkan dengan kelompok kontrol. Didapatkan hasil peningkatan jumlah nekrosis inti sel ginjal ikan zebra dewasa pada kelompok CdCl_2 1,5 ppm sebesar 36% dibandingkan kelompok CdCl_2 0,5 ppm, kelompok CdCl_2 1,5 ppm sebesar 23% dibandingkan dengan kelompok CdCl_2 1 ppm dan kelompok CdCl_2 1 ppm sebesar 18% dibandingkan dengan kelompok CdCl_2 0,5 ppm ($p < 0,05$).

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada perlakuan kelompok kontrol terdapat hiperplasia lamela sekunder insang ikan zebra dewasa dengan persentase rerata sebesar 8,40%. Menurut penelitian sebelumnya insang pada ikan zebra dewasa berperan untuk oksigenasi dalam darah, keseimbangan asam basa, osmoregulasi, dan ekskresi produk limbah karena adanya jaringan epitelium branchial yang menjadi tempat berlangsungnya transport aktif antara organisme dan lingkungannya.^{19,20} Insang pada ikan memiliki peranan yang penting dalam proses oksigenasi dalam darah. Air yang masuk melalui mulut, diatas insang dan keluar melalui operkula. Aliran air didorong melalui ekspansi alternatif, kontraksi buccal, dan bilik opercular. Darah mengalir melalui filamen arteri aferen dari lamela primer masuk kedalam ruang darah lamela sekunder, dimana CO_2 dilepaskan ke dalam air dan O_2 diambil. Lamela sekunder terdiri dari satu lapis sel epitel, didukung, dan dipisahkan, oleh sel-sel pilar. Darah yang beroksigen akan meninggalkan lamela sekunder dari arteri lamela eferen yang dialirkan ke aorta dorsal dan akan didistribusikan ke semua jaringan. Selain berperan untuk oksigenasi dalam darah, insang juga berperan penting untuk keseimbangan asam basa, osmoregulasi, dan ekskresi produk limbah. Oleh karena itu, apabila terdapat perubahan-perubahan yang terjadi dilingkungan perairan akan secara langsung dan tidak langsung akan berdampak pada struktur dan fungsi insang.²¹

Dalam keadaan normal (tidak terpapar logam berat) hiperplasia bisa terjadi karena kondisi lingkungan yang mempengaruhi kondisi fisiologis ikan, seperti yang dijelaskan oleh Saputra (2013), bahwa hiperplasia pada insang dapat diakibatkan oleh suhu yang tinggi.^{11,21} Kenaikan suhu air dapat menyebabkan menurunnya kelarutan oksigen di perairan. Apabila ikan mengalami kekurangan oksigen akan terjadi hipoksia karena hemoglobin yang mengikat oksigen dan dibawa oleh darah akan berkurang dalam menyuplai oksigen ke dalam tubuh

ikan seiring dengan menurunnya jumlah oksigen yang terlarut di dalam air, sehingga sistem fisiologis dalam tubuh ikan tidak berfungsi dengan baik. Hal ini menyebabkan stres pada ikan yang berakibat terjadinya kerusakan pada insang seperti hiperplasia dan lepasnya sel-sel epitelium pada lamela insang.^{11,22}

Pada kelompok CdCl_2 0,5 ppm, 1 ppm, dan 1,5 ppm didapatkan peningkatan jumlah hiperplasia lamela sekunder insang dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Hayati (2014), perubahan struktur lamela sekunder insang akan meningkat, hal ini karena konsentrasi *cadmium* yang terpapar pada insang. Tingginya konsentrasi logam berat dalam tubuh organisme maka efek toksik yang di timbulkan juga akan kuat atau membesar.¹¹

Insang adalah satu organ yang dapat secara langsung terpapar racun di daerah perairan, dengan permukaan yang luas dan terbuka berakibat bagian ini menjadi sasaran utama bagi bahan toksik di perairan seperti logam berat.^{11,23} Hiperplasia merupakan adaptasi fisiologis yang permanen dalam kurun waktu tertentu yang disertai dengan adanya perubahan struktural insang. Hal ini merupakan respon dari insang akibat adanya bahan toksik yang mengontaminasinya.²⁴ Jika terdapat suatu bahan toksik yang masuk, maka lamela insang akan beradaptasi secara fisiologis dengan mengeluarkan mukus untuk mengurangi akumulasi.²⁵

Toksik bisa masuk ke insang dengan melewati lamela pada saat ikan mengalami inspirasi. *Cadmium* bisa masuk ke dalam insang melalui *calcium channel* di membran sel, akan mengakibatkan timbulnya penurunan/kerusakan aktivitas pompa ion kalsium (Ca^+), yang selanjutnya bisa menyebabkan peningkatan enzim ATPase. Peningkatan dari enzim ATPase dan terganggunya proses difusi oksigen akibat perlekatan lamela insang oleh pengaruh dari logam berat akan mengakibatkan berkurangnya sumber oksigen sebagai sumber ATP di dalam sel insang.¹¹ Hal ini akan menyebabkan terjadinya pembelahan sel epitel yang tidak terkontrol, sehingga akan menyebabkan terjadinya hiperplasia.^{22,26}

Ca^{2+} intrasel sebagai salah satu *second messenger* berperan penting dalam regulasi fungsi sel. Beberapa komponen yang berperan penting dalam keseimbangan Ca^{2+} intrasel adalah ikatan Ca^{2+} dengan protein EF-hand (helix- loop- helix- Ca) dan kalmodulin. Bila sebuah sel teraktivasi akibat sinyal ekstraseluler, kadar bebas Ca^{2+} intraseluler akan meningkat sampai 100 kali karena masuknya Ca^{2+} ekstrasel atau pengeluaran Ca^{2+} dari penyimpanannya. Sinyal Ca^{2+} adalah salah satu sistem sinyal utama didalam sel. Sinyal Ca^{2+} ini berfungsi untuk mengatur proses seluler.²⁷

Di dalam sel, *cadmium* akan menimbulkan kerusakan pada proses penyerapan Ca^{2+} dengan demikian maka kesamaan dalam ukuran ion dan muatan. Ion Cd melalui Ca^{2+} channel membran bagian apikal bisa masuk pada sel epitel dan berinteraksi secara kompetitif dengan Ca^{2+} binding site ditransport membran basolateral. Kalsium ATPase pada insang memiliki afinitas 100x lebih tinggi pada Cd^{2+} daripada Ca^{2+} . Berdasarkan hal tersebut, aktifitas pompa Ca^{2+} di membran basolateral sangat sensitif terhadap Cd^{2+} dalam insang, sehingga bisa mengurangi penyerapan Ca^{2+} dan meningkatkan akumulasi Cd^{2+} pada lamela insang. Selain terjadinya penghambatan pompa Ca^{2+} di membran basolateral, Cd^{2+} juga bisa mengganggu perpindahan Ca^{2+} melalui Ca^{2+} channel di membran apikal.^{11,28}

Keunggulan Ca^{2+} menimbulkan permeabilitas membran sehingga akan menurun, hal ini karena terjadi perbedaan konsentrasi, hal ini akan memicu peristiwa osmosis. Dampak yang ditimbulkan adalah gradien konsentrasi dan berakibat kerusakan membran. Proses keterhambatan pompa Ca^{2+} berakibat enzim ATPase secara aktif. Enzim ATPase berfungsi untuk menghasilkan energi dengan cara menghidrolisis ATP. Sedangkan ATP digunakan untuk transport aktif. Apabila ATPase aktif, akan mengakibatkan kurangnya pasokan ATP di sel epitel insang sehingga akan berakibat pada kegagalan fungsi pompa Ca^{2+} , Na^+ , dan K^+ . Kegagalan pompa tersebut akan meningkatkan jumlah ion Ca^{2+} dan Na^+ di dalam sel sehingga mengakibatkan enzim endonuklease aktif bekerja. Enzim nuklease berfungsi untuk memotong rantai polipeptida DNA, sehingga ketika enzim nuklease aktif, maka akan merusak inti sel. Enzim lain yang aktif ketika Ca^{2+} berlebih adalah enzim fosfolipase dan enzim protease. Enzim fosfolipase menghidrolisis fosfolipid menjadi asam lemak dan enzim protease bertugas untuk memecah protein. Penyusun membran sel dan sistoskeleton lainnya adalah protein. Apabila enzim protease aktif, maka akan mengganggu permeabilitas dari membran sel tersebut.¹¹

Hiperplasia pada lamela sekunder diduga terjadi saat logam Cd dalam air mengion menjadi Cd^{2+} . Hal ini akan menyebabkan proliferasi massif pada sel epitel kapiler juga pada sekresi mukus. Kondisi ini akan menyebabkan tertutupnya permukaan lamela insang oleh hasil proliferasi tersebut.²⁹ Proliferasi yang berlebihan menyebabkan pembelahan sel (terutama pada sel yang mampu membelah dengan cepat) menjadi tidak terkontrol sehingga terjadi hiperplasia.³⁰

Efek Toksisitas Kronik *Cadmium Chloride* (CdCl_2) Dosis Rendah Terhadap Struktur Histologi Inti Sel Pada Ginjal Ikan Zebra Dewasa.

Pemaparan hasil menunjukkan bahwa pada perlakuan kelompok kontrol terdapat nekrosis inti sel pada ginjal ikan zebra dewasa. Ginjal merupakan salah satu organ yang sensitif terhadap pencemaran. Ginjal memiliki fisiologis yang amat penting dan berkaitan dengan elektrolit dan keseimbangan air serta mempertahankan lingkungan internal yang stabil dalam osmoregulasi.³¹

Nekrosis adalah kondisi dimana kematian sel yang diakibatkan karena kerusakan sel akut (kekurangan oksigen, perubahan suhu yang ekstrim), dimana kematian sel tersebut terjadi secara tidak terkontrol yang dapat menyebabkan rusaknya sel. Sekelompok kematian sel dapat dikenali dengan adanya enzim-enzim lisis yang melarutkan berbagai unsur sel serta timbulnya peradangan. Nekrosis biasanya disebabkan karena adanya stimulus yang bersifat patologis. Selain karena stimulus patologis, kematian sel juga dapat terjadi melalui kematian sel yang sudah terprogram dimana setelah mencapai masa hidup tertentu maka sel akan mati. Mekanisme ini disebut apoptosis, sel akan menghancurkan dirinya sendiri (bunuh diri/suicide).³²

Nekrosis di tunjukkan dengan gejala hilangnya struktur jaringan, selanjutnya sel pada jaringan ginjal mengalami kerusakan sel. Kerusakan pada ginjal yang antara lain adalah nekrosis di timbulkan adanya kerusakan sel (kekurangan oksigen, kandungan logam, dan perubahan suhu yang ekstrim).³³ Nekrosis juga bisa disebabkan oleh trauma, agen-agen biologis (virus, bakteri, jamur, dan parasit) dan toksikan (logam berat).³⁴

Pada kelompok CdCl_2 0,5 ppm, 1 ppm, dan 1,5 ppm didapatkan peningkatan jumlah nekrosis inti sel pada ginjal dibandingkan dengan kelompok kontrol. Dari hasil histopatologi ginjal, terlihat bahwa dengan semakin tingginya konsentrasi *cadmium* yang masuk ke dalam tubuh serta semakin lamanya pemaparan maka kerusakan sel menjadi meningkat. Ginjal merupakan organ yang akan terkena kontaminan utama di dalam air dan organ yang mengakumulasi *cadmium* di dalam tubuh ikan.²⁵

Cadmium bisa masuk ke dalam ginjal melalui sistem sirkulasi dengan cara berikatan dengan *metallothionein*, karena *cadmium* berikatan dengan *metallothionein* di dalam ginjal ikatan ini mengakibatkan kerusakan pada celah membran glomerulus yang berfungsi sebagai penyaring sehingga *cadmium metallothionein* (CdMT) difiltrasi di glomerulus ginjal. Kemudian *cadmium metallothionein* (CdMT) akan diserap kembali oleh

sel tubulus proksimal^{25,35,36} *Cadmium metallothionein* (CdMT) akan terkumpul di dalam lisosom sel tubulus proksimal ginjal. Dalam lisosom *cadmium* akan melepaskan Cd^{2+} , sehingga ion *cadmium* menghambat enzim proteolitik dalam lisosom yang dapat merusak sel tubulus proksimal ginjal.^{32,33}

Cadmium bisa menyebabkan nekrosis pada sel tubulus proksimal ginjal karena *uptake cadmium* di sel tubulus proksimal melalui kanal kalsium dan mekanisme endositosis. *Cadmium* mengganggu fungsi pompa Na/K-ATPase pada membran sel sehingga bisa menyebabkan akumulasi natrium di intrasel dan difusi kalium keluar sel. Hal ini akan menyebabkan terjadinya retensi air di dalam sel sehingga terjadi pembengkakan sel yang bisa mengakibatkan kematian pada sel.¹⁸

Di dalam ginjal, *cadmium* bisa menyebabkan peningkatan radikal bebas melalui mekanisme *molecular ionic mimicry* yaitu dengan menggantikan ikatan Fe dan Cu dengan MT (*metallothionein*) maupun ferritin sehingga menyebabkan terjadinya reaksi fenton yang menghasilkan radikal hidroksil. *Cadmium* juga menggantikan ikatan logam CuZnSOD sehingga kerja enzim SOD menurun. Peningkatan ROS ini menyebabkan stres oksidatif yang memicu peningkatan kadar *Malondialdehyde* (MDA) sebagai produk akhir dari peroksidasi lemak dan perubahan seluler yang mengarah pada terjadinya nekrosis sel.¹⁸

Ginjal yang mengalami nekrosis akan terjadi perubahan secara mikroskopik akan tampak perubahan intinya yang kehilangan gambaran kromatin, menjadi keriput, tidak vasikuler lagi intinya lebih padat, berwarna gelap (piknosis), inti terbagi atas fragmen-fragmen, robek (karioreksis), inti tidak lagi mengambil warna yang banyak karena itu pucat tidak nyata (kariolisis).³⁷

EFEK CADMIUM PADA MANUSIA

Cadmium (Cd) adalah logam berat yang terkandung dalam tembakau rokok yang belum diketahui fungsinya secara biologis dan memiliki toksisitas yang tinggi. Semakin tinggi kadar dan semakin lama paparan *cadmium*, maka efek toksik yang diberikan akan lebih besar. *Cadmium* merupakan salah satu logam berat yang berbahaya karena element ini berisiko dan berpengaruh terhadap manusia dalam jangka panjang dapat terakumulasi dalam tubuh khususnya hati dan ginjal.³⁸

Sumber utama keracunan *cadmium* melalui inhalasi yaitu berasal dari asap rokok. Dalam sebatang rokok yang dibakar rata-rata mengandung

cadmium sebesar 1-2 μg .⁸ Asap rokok tembakau yang mengandung *cadmium* akan di transport ke dalam paru – paru. Paru-paru manusia akan mengabsorpsi sebesar 40-60% *cadmium* dari asap rokok tembakau dan kemudian di diedarkan ke seluruh tubuh melalui darah.^{9,39} Rata-rata manusia yang berusia 50 tahun tidak merokok memiliki beban *cadmium* di dalam tubuh sebesar 15 mg, sedangkan manusia yang seumur hidupnya merokok memiliki *cadmium* yang ada di dalam tubuhnya sekitar 30 mg. Perokok umumnya memiliki kadar *cadmium* 4 sampai 5 kali lebih banyak dari pada yang tidak merokok.⁹ Sistem pernafasan sangat dipengaruhi oleh inhalasi, udara yang mengandung *cadmium* bisa menyebabkan nafas pendek, edema paru, kerusakan membran mukus yang bisa menyebabkan pneumonitis.⁹

Cadmium juga bisa menginduksi gangguan fungsi dan struktur kerusakan endotel dan sel otot polos pembuluh darah yang menyebabkan pembentukan plak aterosklerotik. Perokok memiliki jumlah peningkatan *cadmium* dalam darah dan terjadinya aterosklerosis, terutama penyakit pembuluh darah perifer.⁸

Paparan kronis *cadmium* bisa menyebabkan kerusakan pada ginjal. *Cadmium* bisa mencapai dalam ginjal dalam bentuk *cadmium-metallothionein* (Cd-MT). Cd-MT kemudian disaring dalam glomerulus dan selanjutnya diserap kembali dalam tubulus proksimal. Jumlah *cadmium* pada sel tubulus ginjal meningkat selama hidup seseorang. Ekskresi *cadmium* pada urin berkorelasi dengan derajat kerusakan ginjal akibat *cadmium*, ekskresi urin sebesar 2,5 mikrogram *cadmium* per gram kreatinin mencerminkan tingkat kerusakan tubular ginjal sebesar 4%. Namun, penanda utama kerusakan ginjal adalah β_2 - microglobulin, N – asetil – α – Dglucosaminidase (NAG), dan retinol- binding-protein (RBP). Kerusakan tubulus pada ginjal bersifat ireversibel.⁹

Pada tulang *cadmium* bisa menyebabkan penyakit itai-itai, penyakit ini terutama menyerang wanita dan ditandai dengan gangguan fungsi tubular dan glomerulus yang parah serta osteomalasia dan osteoporosis yang bisa mengakibatkan patah tulang.⁸ Keluhan penyakit seperti; adanya rasa sakit pada punggung dan diekstremitas, kesulitan berjalan, dan nyeri pada tulang yang tertekan.⁴⁰

Cadmium merupakan humancarcinogenik, karena paparan melalui inhalasi bisa menyebabkan kanker paru-paru, kanker prostat, ginjal, hati, sistem hematopoetik, kelenjar susu, endometrium, kandung kemih, pankreas, dan kanker lambung.^{8,40}

EFEK CADMIUM PADA IKAN ZEBRA

Paparan *cadmium* pada ikan zebra dapat menyebabkan kerusakan struktur histologi pada lamela insang yang bisa di lihat dengan adanya hiperplasia dan fusi lamela sekunder insang. Hiperplasia sel epitel dan fusi lamela ini dapat mengganggu efisiensi insang, bisa mengurangi pertukaran gas, dan gangguan fungsi osmoregulasi.^{41,42}

Pada ikan zebra paparan *cadmium* akan terakumulasi dalam hati dan ginjal.^{43,44} Pada penelitian yang dilakukan oleh Annabi *et al*, 2011 paparan *cadmium* pada ikan *Gambusia affinis* menyebabkan terjadinya nekrosis pada hati dan ginjal.²⁵ Pada embrio ikan zebra *cadmium* bisa menyebabkan *Acute Kidney Injury*, yang ditandai dengan adanya peningkatan nitrotyrosine. Nitrotyrosine merupakan senyawa yang menandai stres oksidatif, sebagai penanda patogenesis dan perkembangan *Acute Kidney Injury*.⁴⁵

Cadmium juga bisa menyebabkan perubahan perkembangan pada sistem saraf dan kematian sel pada otak ikan zebra. Pada otak ikan zebra *cadmium* bisa menyebabkan perubahan pada komponen neuroglial.⁴⁶

Pada ikan zebra paparan *cadmium* juga bisa mempengaruhi perubahan otot rangka seperti; pembengkakan dan nekrosis koagulasi dan disertai infiltrasi hemositosis pada otot rangka.⁶

KESIMPULAN

Pemberian paparan kronik CdCl_2 0,5 ppm, 1 ppm, dan 1,5 ppm meningkatkan hiperplasia lamela sekunder insang dan nekrosis inti sel pada tubulus proksimal ginjal ikan zebra dewasa yang terpapar sejak fase juvenile.

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian ini, peneliti menyarankan untuk:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut efek toksisitas kronik CdCl_2 terhadap kadar Ca^{2+} pada lamela insang ikan zebra dewasa.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut efek toksisitas kronik CdCl_2 terhadap kadar MDA ginjal ikan zebra dewasa.

3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut efek toksisitas kronik CdCl_2 dengan menggunakan hewan coba mamalia.

UCAPAN TERIMAKASIH

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

DAFTAR PUSTAKA

1. Witeska, M., Sarnowski, P., Ługowska, K. and Kowal, E. The Effects of Cadmium and Copper on Embryonic and Larval Development of *Ictalurus nebulosus* L. *Fish physiology and biochemistry*. 2014;40(1):151-163.
2. Istarani, F., Pandebesie, E.S. Studi Dampak Arsen (As) dan Kadmium (Cd) Terhadap Penurunan Kualitas Lingkungan. *Jurnal Teknik Promits*. 2014;3(1).
3. World Health Organization. Exposure to Cadmium: A Major Public Health Concern. 2010. <https://www.who.int/ipcs/features/cadmium.pdf>
4. Rahmadiani, W. Bioakumulasi logam berat kadmium oleh *Chaetoceros calcitrans* pada konsentrasi subletal. *Jurnal sains dan seni*. 2013;2(2):1-5.
5. Caciari, T., Sancini, A., Vioravanti, M. Cadmium and Hypertension in Exposed Workers. *Journal of Occupation Medicine and Environment Health*. 2013;26(3):1-17.
6. Al-safawi, A., Wang, L., Yan, Y. Cadmium Accumulation and its Histological Effect on Brain and Skeletal Muscle of Zebrafish. *Jurnal of Heavy Metal Toxicity and Disease*. 2017;2(1:2):1-6.
7. Rani, A., Kumar, A., Lal, A., & Pant, M. Cellular Mechanisms of Cadmium-Induced Toxicity: A Review International Journal of Environmental Health. 2014. Research,24:4,378399,Doi:10.1080/09603123.2013.835032
8. Sarkar, A., Ravindran, G., Krishnamurthy, V. A Brief Review Effect of Cadmium Toxicity From Cellular to Organ Level. *International Journal of Biotechnology and Research*. 2013;3(1):17-36.
9. Godt, J., Scheidig, F., Siestrup-Scse, V., Brandenburg, P., Reich, A., Groneberg, D. The Toxicity of Cadmium and Resulting Hazards for Human Health. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*. 2006;1(22): 1-6.

10. Jalaludeen, M.D., Arunachalam, M., Raja, M., Showket, A.B., Sundar, S., Palanimuthu, D. Histopathology of the Gill, Liver, and Kidney Tissues of the Freshwater Fish *Tilapia Mossambica* Exposed to Cadmium Sulphate. *International Journal of Advanced Biological Research*. 2012;2(4).
11. Hayati, A., Ummah, R., Winarni, D. Pengaruh Kadmium Terhadap Struktur Histologis Insang Ikan Lele (*Clarias batrachus*). *Jurnal Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam*. 2014;17(2).
12. Calvalcante, A., Ferreira, L., Rogero, S., Rogero, J. Evaluation of Resveratrol Toxicity in the Embryolarva Stage of *Danio rerio* Fish. *Jurnal Ecotoxicol Enviroment*. 2017;12(1).
13. William, W. Ikan Zebra (*Danio rerio*) dan Kegunaannya dalam Penelitian Fisiologi. *Jurnal Kedokteran Meditek*. 2017;23(64).
14. 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>
15. Putri, A.N., Yahya, A., Fadli, M.Z. Uji Toksisitas Subkronik Dekokta Kombinasi Imperata cylindrical, Gynura procumbers dan Syzygium polyanthum Terhadap Hiperplasia Lamela Insang *Danio rerio*. *Jurnal Kedokteran Komunitas*. 2015; 3(1).
16. Ronald, J.R. *Fish Pathology*. 4th Ed. Hoboken: Willey-Blackwell; 2012.
17. Alifia, F. Histopatologi Insang Ikan Bandeng (*Chanos chanos Forskall*) yang Tercemar Logam Timbal (Pb). *Jurnal Balik Diwa*. 2013;4(1).
18. Deakandi, W.Y., Risadiansyah, 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).
19. Menke, A., Spitsbergen, J., Wolterbeek. Normal Anatomy and Histology of the Adult Zebrafish. *Toxicology Pathology*. 2011;39.p: 759-775.
20. Soegianto, A., Primarastri, N.A., Winarni, D. Pengaruh Pemberian Kadmium Terhadap Tingkat Kelangsungan Hidup dan Kerusakan Struktur Insang Hepatopankreas Pada Udang Regang (*Macrobrachium sintangense (de Man)*). Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Airlangga Surabaya. 2004;10(59-66).
21. Saputra, H.M., Marusin, N., dan Santoso, P. Struktur Histologis Insang dan Kadar Hemoglobin Ikan Asang (*Oateochilus hasseltii* C.V) di Danau Singkarak dan Maninjau, Sumatera Barat. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. 2013; 2(2): 138-144.
22. Sipatuhur, L.W., Aliza, D., Winaruddin, dan Nazaruddin. Gambaran Histopatologi Insang Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Dipelihara Dalam Temperatur Air Diatas Normal. *Jurnal Medika Veterinaria*. 2013;7(1).
23. Yudiati, E., Sedjati, S., Enggar, I., dan Hasibuan, I. Dampak Pemaparan Logam Berat Kadmium pada Salinitas yang Berbeda Terhadap Mortalitas dan Kerusakan Jaringan Insang Juvenile Udang Vaname (*Litopeneus vannamei*). Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro, Semarang 2009;14(4):29-35.
24. Susanah, U.A., Santosa, K., dan Utami, N.R. Struktur Mikroanatomi Insang Ikan Bandeng di Tambak Wilayah Tapak Kelurahan Tugurejo Kecamatan Tugu Semarang. *Jurnal Biosantifika*. 2013;5(1).
<http://journal.unnes.ac.id/nju/index.php/biosaintifika>.
25. Annabi, A., Messaoudi, I., Kerkeni, A., Said, K.H. Cadmium Accumulation and Histological Lesion in Mosquitofish (*Gambusia affinis*) Tissues Following Acute and Chronic Exposure. *International Journal Research*. 2011;5(3): 745-756.
26. Aliza, D., Winaruddin., dan Sipatuhur, L.W. Efek Peningkatan Suhu Air Terhadap Perubahan Perilaku, Patologi Anatomi, dan Histologi Insang Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Medika Veterinaria*. 2013;7(2).
27. Kurniawan, S.N. Tinjauan Pustaka Homeostasis Ca^{2+} Intraselular. *Jurnal MNJ*. 2015;01(01). Doi:10.21776/ub.mnj.2015.001.01.7
28. Verboost, P. M., J. Van R., G. Flik, R. A. C. Lock, and Wendelaar B. The Movement of Cadmium through Freshwater Trout Branchial Epithelium and Its Interference with Calcium Transport. *J. exp. Biol*. 1989; 145:185-197.
29. Amalia, W.R., Halang, B., dan Naparin, A. Kandungan Kadmium (Cd) pada air, Daging serta Mikroanatomi Insang Ikan Kelabau (*Osteochilus melanopleurus*) di Muara Sungai Martapura. Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Lampung Mangkurat. 2016:84-92 ISBN 978-602-72071-1-0.
30. Haqqawiy, E.J., Winaruddin., Aliza, D., dan Budiman, H. Pengaruh Kepadatan Populasi Terhadap Gambaran Patologi Anatomi dan Histologi Patologi Insang Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Medika Veterinaria*. 2013;1(7).

31. Mandia, S., Marusin, N., dan Santoso, P. Analisis Histologi Ginjal Ikan Asang (*Osteochilus hasselti*) di Danau Maninjau dan Singkarak, Sumatera Barat. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. 2013;2(3).
32. Lubis, F.A., Riauaty, M., dan Syawal, H. Histology of Liver and Kidney *Mystus nemurus* That Immersed With Curcuma xanthiriza, ROXB extract. Faculty Fisheries and Marine Science Riau University Pekanbaru. 2014.
33. Kahfi, K.E., Riauaty, M., dan Lukistyowati. Histopatologi Hati dan Ginjal Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) yang Diberi Pakan Simplisia Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L). Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau, Pekanbaru. 2016.
34. Wikiandy, N., Rosidah., dan Herawati, T. Dampak Pencemaran Limbah Produksi Tekstil Terhadap Kerusakan Struktur Organ Ikan Yang Hidup Di Daerah Aliran Sungai (DAS) Citarum Bagian Hulu. *Jurnal Perikanan dan Kelautan Universitas Padjajaran*. 2013;3(4):215-225.
35. Ratnaningsih, A., Pengaruh Kadmium Terhadap Gangguan Patologik Pada Ginjal Tikus Percobaan. *Jurnal Matematika, Sains dan Teknologi*. 2004;5(1).
36. Endrinaldi. Logam- logam Berat Pencemar Lingkungan dan Efek Terhadap Manusia. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 2009;4(1).
37. Fahrimal, Y., Rahmiwati., dan Aliza, D. Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Jantan yang Diinfeksi *Trypanosoma evansi* dan Diberi Ekstrak Daun Sernai (*Wedelia biflora*). *Jurnal Medika Veterinaria*. 2016;10(2).
38. Mayaserly, D.P., dan Rahayu, J.S. Perbandingan kadar logam kadmium (Cd) Dalam Urin Perokok Aktif dan Pasif Di Terminal Kota Padang. *Jurnal Kesehatan Perintis (Perintis's Health Journal)*. 2018;5(1).
39. Sharma, H., Rawal, N., and Mathew, B.B. The Characteristics, toxicity and Effects on Cadmium. *Internasional Journal Of Nanotechnology and Nanoscience*. 2015;3(1-9).
40. Bernard, A. Cadmium and Its Adverse Effects On Human Health. *Indian J Med Res*. 2018: 557-564.
41. Santos, D.A., Figue, D.A.L., Kirsten, T.B., Silva, J.R.M.C., Borges, J.C.S., Sandini, T.M., Bernardi, M.M. Behavior As An Early Sign Of Toxicity and Respiratory System Injury Induced by Cadmium in Zebrafish. *Atas de Saude Ambiental* (Sao Paulo, online), 2018 Jan-Des;6:16-33. ISSN: 2357-7614.
42. Lacave, J.M., Bilbao, E., Gilliland, D., Mura, F., Dini, L., Cajaraville, M.P., and Orbea, A. Bioaccumulation, Cellular and Molecular Effects in Adult Zebrafish After Exposure To Cadmium Sulphide Nanoparticles and To ionic Cadmium. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124588>
43. Rehwoldt, R., Karimian-Teherani, D. Uptake and effect of cadmium on zebrafish. *Bull. Environ. Contam. Toxicol*. 1976;15: 442-446.
44. Annabi, A., Said, K., and Messaoudi. Cadmium: Bioaccumulation, Histopathology and Detoxifying Mechanisms in Fish. *America Journal of Research Communication*. 2013;1(4):60-79.
45. Mathew, E and Joykutty, L. Evaluating Biomarkers and Treatment For Acute Kidney Injury In A Zebrafish Model. *Journal Of Emerging Investigators*. 2019;2:1-6.
46. Monaco, A., Capriello, T., Grimaldi, M.C., Schiano, V., and Ferrandino, I. Neurodegeneration in Zebrafish Embryo and Adult After Cadmium Exposure. *European Journal of Histochemistry*. 2017;61:2833.