

TOKSISITAS AKUT CADMIUM CHLORIDE (CdCl_2) PADA DOSIS MATC DAN LC_{50} TERHADAP PENURUNAN KECEPATAN BERENANG IKAN ZEBRA (*Danio rerio*) DEWASA

Ariq Muzakki, Ike Widyaningrum, Noer Aini
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

Abstrak

Pendahuluan: Cadmium banyak diemisikan ke lingkungan bersumber dari pestisida, pembuangan limbah industri, dan rokok tembakau. Namun beberapa penelitian menunjukkan paparan CdCl_2 memberikan efek toksik pada organ tubuh sehingga dilakukan uji toksisitas mencari *lethal concentration* 50% (LC_{50}).

Metode: Eksperimental laboratorium secara *in vivo post test only* untuk menentukan nilai LC_{50} akut pada lima dosis CdCl_2 (20;22,5;25;27,5;30 ppm). Penghitungan kecepatan berenang dilakukan pada empat kelompok yaitu kontrol, 0,05 ppm, MATC, dan LC_{50} yang dipaparkan pada *Danio rerio* dewasa. Pengamatan kecepatan berenang diamati pada *Danio rerio* selama satu menit. Pengamatan dilakukan menggunakan kamera dan dianalisis dengan *software Tracker*. Analisis data dilakukan dengan *One Way ANOVA* dan dilanjutkan dengan *Post Hoc LSD* menggunakan *software Statistical Product and Service Solution (SPSS)* versi 16.0.

Hasil: Didapatkan penurunan kecepatan berenang pada kelompok perlakuan CdCl_2 dosis LC_{50} , MATC, dan 0,05 ppm berturut-turut kurang lebih sebesar 83%; 61%; dan 27% dibandingkan kelompok kontrol. Antara kelompok perlakuan CdCl_2 didapatkan perbedaan yang signifikan untuk penurunan kecepatan berenang.

Kesimpulan: Paparan CdCl_2 dosis MATC, dan LC_{50} pada *Danio rerio* dewasa dapat menurunkan kecepatan berenang ($p < 0,05$).

Kata Kunci: Kadmium (CdCl_2), *Lethal Concentration* 50% (LC_{50}), Kecepatan Berenang, Ikan Zebra (*Danio rerio*)

Korespondensi: dr. Noer Aini
noeraini.unisma.ac.id

ACUTE TOXICITY CADMIUM CHLORIDE (CdCl_2) DOSE MATC AND LC_{50} TO DECREASE OF SWIMMING SPEED IN ZEBRA FISH (*Danio rerio*) ADULT

Ariq Muzakki, Ike Widyaningrum, Noer Aini
Medicine Faculty of Universitas Islam Malang

Abstract

Introduction: Acute high-level exposure of cadmium in *Danio rerio* adult can lead to varying toxic effects. However, several types of researches show exposure CdCl_2 caused acute effect toxic to the organ body, so this research aimed to identify *lethal concentration* 50% (LC_{50}) using a toxicity test.

Method: Experimental *in vivo post test only* method to determine acute LC_{50} with five dose CdCl_2 (20;22,5;25;27,5;30 ppm). Calculating for swimming speed *Danio rerio* adult was carried out for four groups (control, 0.05 ppm, MATC, and LC_{50}) after exposure. The observation swimming speed in *Danio rerio* adult during one minute. Observation was carried out using a camera and analysis using *Software Tracker*. Data analysis used *One Way ANOVA* and continued *Post Hoc LSD* with *software Statistical Product and Service Solution (SPSS)* 16.0 version.

Result: Decrease swimming speed with exposure of cadmium dose LC_{50} , MATC, and 0,05 ppm respectively 83%; 61%; and 27% compared with the control group.

Conclusion: CdCl_2 exposure dose MATC and LC_{50} to *Danio rerio* can decrease swimming speed in zebrafish (*Danio rerio*) adult ($p < 0,05$).

Key word: Cadmium (CdCl_2), *Lethal Concentration* 50% (LC_{50}), Swimming Speed, Zebrafish (*Danio rerio*)

Correspondent: dr. Noer Aini
noeraini.unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Pada beberapa dekade ini, kerusakan pada organisme perairan banyak diakibatkan oleh polusi logam berat¹. Polusi logam berat menyebabkan akumulasi pada organisme perairan, sehingga dibutuhkan pengawasan ketat untuk mengetahui potensial toksitas logam pada rantai makanan manusia¹. *Cadmium* merupakan logam berat yang dapat menyebabkan berbagai penyakit jika terpapar dalam tubuh manusia². Sumber *cadmium* banyak ditemukan dari aktivitas antropogenik sebanyak 90%³ seperti rokok, agen antikorosif, stabilizer, pestisida, Polivinil Klorida (PVC), pigment warna, baterai *nickel-cadmium*, dan pupuk fosfat⁴. Efek yang ditimbulkan *cadmium* dalam tubuh bergantung pada dosis dan waktu paparan. Paparan *cadmium* secara akut maupun kronis dapat menyebabkan peningkatan akumulasi pada tubuh, *liver damage*, *cardiovascular damage*, neurotoksisitas, nefrotoksitas, neurodegeneratif, neuromuskuler, dan gejala gastrointestinal seperti mual, muntah, bahkan kematian⁵.

Cadmium masuk ke dalam tubuh mamalia maupun ikan melalui tiga jalur utama yaitu ingesti dalam bentuk *Metal Transporting Complex (MTC)*, inhalasi dalam bentuk *Cadmium Cysteine Complex (Cd-Cysteine)*, dan dermal dalam bentuk *Cadmium Metallothionein (Cd-MT)*. Paparan *Cadmium* (Cd^{2+}) dalam dosis yang tinggi dapat menimbulkan kegagalan kompensasi tubuh, sehingga akan memicu ROS dan stres oksidatif⁵. Hal tersebut memicu berbagai kerusakan anatomi maupun fisiologi pada organ dan menyebabkan *organ damage*⁵.

Danio rerio dewasa memiliki keunggulan untuk dijadikan hewan coba⁶ karena memiliki genetik yang homolog dengan manusia (85%)⁷. *Danio rerio* dewasa memiliki daya tahan yang cukup tinggi sehingga mudah diberikan intervensi dan perlakuan. Perawatan ikan zebra tidak terlalu membutuhkan tempat yang besar untuk jumlah ikan yang banyak⁸.

Pada penelitian sebelumnya telah ditentukan *lethal concentration 50 % (LC₅₀)* $CdCl_2$ pada *Danio rerio* fase embrio (168 μM)⁹, larva (18,8 μM)¹⁰ dan juvenile (2,5 ppm)¹⁰ tetapi belum ditentukan pada fase dewasa. Penelitian ini dilakukan untuk mencari dosis LC_{50} dan *MATC* $CdCl_2$ akut (96 jam) dan mengetahui perubahan kecepatan berenang setelah dipaparkan $CdCl_2$ dosis LC_{50} dan *MATC* akut (96 jam).

METODE PENELITIAN

Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratorium secara *in vivo post test only* untuk menentukan dosis *Lethal Concentration 50 % (LC₅₀)* $CdCl_2$ pada *Danio rerio* dewasa dan mengetahui efek toksik akut LC_{50} , *MATC*, dan dosis

maksimal rekomendasi KEMENKES 0,05 mg/L $CdCl_2$ terhadap kecepatan berenang *Danio rerio* dewasa.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium *Zebra Fish* Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang. Pelaksanaan penelitian dimulai pada bulan Mei-Agustus 2019. Mendapatkan laik etik dari Komisi Etik Penelitian Biosains, Universitas Brawijaya No.1070-KEP-UB tahun 2019.

Perhitungan dan Pembuatan Larutan *Cadmium (CdCl₂)*

Dosis paparan $CdCl_2$ yang digunakan untuk menentukan dosis LC_{50} adalah 20; 22,5; 25; 27,5; 30 ppm. Dosis paparan tersebut didapatkan dari hasil eksplorasi selama satu minggu dengan tiga kali pengulangan. Dosis paparan $CdCl_2$ yang digunakan untuk menentukan perubahan kecepatan berenang adalah dosis $CdCl_2$ LC_{50} , *MATC*, dan rekomendasi batas *cadmium* dalam air menurut KEMENKES 0,05 ppm¹¹.

Cadmium (CdCl₂) yang digunakan berasal dari *cadmium stock Loba Chemie* dengan nomor CAS 35658-65-2 dan kode produk 02417. $CdCl_2$ yang dipaparkan pada *Danio rerio* dewasa didapatkan dengan cara membuat larutan induk 500 ppm dengan pengenceran dari *cadmium stock*.

Perlakuan Hewan Coba

Danio rerio dewasa telah mendapatkan sertifikasi dari Laboratorium Perikanan Fakultas Perikanan Universitas Airlangga, Surabaya dengan No.006/ULMKILP/UA.FPK/03/2019.

Pemeliharaan dilakukan dalam *Aquarium* dengan ukuran 60 cm x 30 cm x 35 cm dilengkapi dengan *aerator set*, *filter set*, termometer alkohol dan lampu *fluorescent* 20 watt dengan waktu pencahayaan 14 jam terang dan 10 jam gelap¹². Suhu dipertahankan pada $26,0 \pm 1,0^{\circ}C$ ¹². Pemberian makan dilakukan dua kali sehari menggunakan pakan *Pre-Starter-Crumble (PSC)*[®]. Pembersihan *aquarium* dilakukan satu kali sehari dengan cara mengambil satu per tiga air *aquarium* lalu diganti dengan *purified water* yang baru¹³.

Pada penentuan dosis LC_{50} *Danio rerio* dewasa dipaparkan $CdCl_2$ selama 96 jam dengan sistem *static-flow through*¹². P0 kelompok kontrol, P1 $CdCl_2$ dosis 20 ppm, P2 $CdCl_2$ dosis 22,5 ppm, (P3) merupakan kelompok paparan $CdCl_2$ dosis 25 ppm, P4 $CdCl_2$ dosis 27,5 ppm, P5 $CdCl_2$ dosis 30 ppm. Pada penentuan kecepatan berenang, *Danio rerio* dewasa dipaparkan $CdCl_2$ selama 1 jam dengan sistem *static-flow through*¹². P0 kelompok kontrol. P1 $CdCl_2$ dosis 0,05 ppm, P2 $CdCl_2$ dosis *MATC*, dan P3 $CdCl_2$ dosis LC_{50} .

Pengamatan Dosis *Lethal Concentration 50% (LC₅₀) Akut (96 jam) CdCl₂ pada Danio rerio Dewasa*

Observasi dilakukan setiap 24 jam selama 96 jam untuk mengamati kematian ikan dengan tiga kali ulangan. Kematian ditentukan apabila diberikan rangsangan berupa sentuhan tidak terjadi pergerakan ekor dan operkulum insang¹². Selama perlakuan, ikan tidak diberi makanan dan paparan CdCl_2 hanya diberikan pada hari pertama karena menggunakan *static sytem*¹². Penentuan dosis diperoleh dari hasil eksplorasi penelitian. Klasifikasi LC_{50} dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Klasifikasi Lethal Concentration 50% (LC_{50})¹⁴

Klasifikasi Deskripsi	Nilai LC_{50} (ppm)
Tidak toksik	> 1000
Hampir toksik	> 100 - ≤ 1000
Sedikit toksik	> 10 - ≤ 100
Sedang	> 1 - ≤ 10
Tinggi	> 0,1 - ≤ 1
Sangat Tinggi	> 0,01 - ≤ 0,1
Ekstrem	≤ 0,01

Penentuan dosis *MATC* diamati dengan menentukan *LOEC* yaitu efek kematian pada dosis terendah dan *NOEC* yaitu efek kematian (10%) pada dosis tertinggi dibawah dosis LC_{50} . Apabila efek kematian pada ikan >10% atau <20% maka *NOEC* ditentukan dengan rumus $\text{LOEC}/2$ ¹⁵.

$$\text{MATC} = \sqrt{\text{LOEC} \times \text{NOEC}}$$

Pengamatan Kecepatan Berenang *Danio rerio* Dewasa

Penelitian ini terdiri dari 4 kelompok perlakuan. Paparan dilakukan pada *Danio rerio* dewasa usia 4 bulan selama satu jam. Perhitungan kecepatan berenang *Danio rerio* diamati setelah satu jam paparan. Selama satu menit kecepatan berenang *Danio rerio* direkam menggunakan kamera. Perhitungan kecepatan berenang *Danio rerio* menggunakan *software Tracker* dengan satuan m/s¹².

Software Tracker merupakan software yang dapat digunakan untuk menganalisis video dalam format .mov. atau mp4. Setelah membuka video yang akan dianalisis, gunakan fitur *point mass* pada menu *Track* → *New* → *Point mass*. Kemudian pilih *autostep* untuk mempermudah menganalisis. Pada tabel pilih tabel → *v (velocity)* sekaligus hapus centang yang tidak dikehendaki. *Copy* hasil kecepatan berenang dengan memblok semua kolom dengan klik kanan pada mouse → *copy selected* → *as formatted*.

Analisa Data

Analisa data LC_{50} menggunakan uji regresi linier dan analisis probit. Hasil pengamatan kecepatan berenang *Danio rerio* dewasa diuji

dengan *One Way Analysis of Varian (One Way ANOVA)* dan *Post Hoc Test* yaitu *LSD* ($p < 0,05$).

HASIL PENELITIAN

Nilai Lethal Concentration 50% (LC_{50}) Akut Cadmium Chloride (CdCl_2) pada *Danio rerio* Dewasa

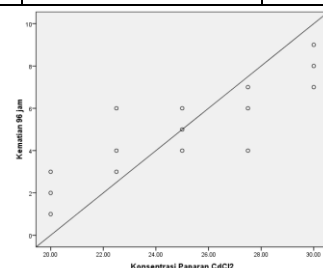
Nilai LC_{50} akut CdCl_2 pada *Danio rerio* dewasa dapat dilihat pada tabel dibawah ini (Tabel 2, Tabel 3, dan Gambar 1).

Tabel 2. Rerata Presentase Kematian *Danio rerio* Dewasa yang Dipapar CdCl_2 secara Akut pada Beberapa Trial Dose

Dosis (ppm)	Rerata Kematian ± SD
20	20% ± 1,00
22,5	43% ± 1,53
25	50% ± 1,00
27,5	57% ± 1,53
30	80% ± 1,00

Tabel 3. Hasil Analisa Nilai LC_{50} Akut CdCl_2 Pada *Danio rerio* dengan Uji Probit

Waktu	Probability (% Kematian)	95% Confidence Limits for Concentration (ppm)
96 Jam	0,1	17,280
	0,2	19,553
	0,3	21,375
	0,4	23,066
	0,5	24,767
	0,6	26,593
	0,7	28,967
	0,8	31,371
	0,9	35,497



Gambar 1. Grafik Linier Dosis LC_{50} (96 jam) Cadmium Terhadap *Danio rerio* Dewasa

Keterangan : Gambaran grafik linier tersebut menggambarkan bahwa titik-titik plot data membentuk pola garis lurus dari kiri bawah naik ke kanan atas. Hal tersebut menunjukkan bahwa ada hubungan yang linier dan positif antara paparan dosis cadmium (X) dengan kematian *Danio rerio* (Y). Hubungan positif ini berarti jika paparan dosis cadmium meningkat maka kematian *Danio rerio* akan meningkat.

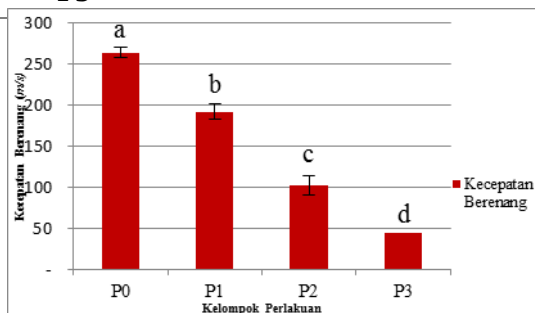
Berdasarkan analisa probit pada Tabel 3, didapatkan nilai LC_{50} Akut $CdCl_2$ yang dipaparkan pada *Danio rerio* Dewasa adalah 24,767 ppm. Dosis LC_{50} yang didapatkan termasuk dalam diskripsi sedikit toksik ($> 10 - \leq 100$) mg/L¹⁴. Dosis MATC yang diperoleh dari hitungan presentase kematian *Danio rerio* dewasa yaitu 14,142 ppm.

Efek Cadmium Chloride ($CdCl_2$) terhadap Kecepatan Berenang *Danio rerio* Dewasa

Hasil perhitungan kecepatan berenang *Danio rerio* dewasa yang dipapar dengan cadmium chloride ($CdCl_2$) dengan menggunakan software tracker dapat dilihat pada Tabel 4 dan Gambar 2.

Tabel 4. Rerata Kecepatan Berenang *Danio rerio* Dewasa yang Dipapar cadmium chloride ($CdCl_2$)

Kelompok Perlakuan	N	Rerata Kecepatan Berenang $\pm$ SD (m/s)
P0	4	264,821 $\pm$ 6,79 ^a
P1	4	192,760 $\pm$ 9,70 ^b
P2	4	102,067 $\pm$ 12,43 ^c
P3	4	44,682 $\pm$ 3,91 ^d



Gambar 4. Histogram Rerata Kecepatan Berenang *Danio rerio* Dewasa

Keterangan : P0 : Kelompok Perlakuan Kontrol, P1 : Kelompok $CdCl_2$ 0,05 ppm, P2 : Kelompok $CdCl_2$ MATC, P3 : Kelompok $CdCl_2$ LC_{50} . Hasil pengamatan pada histogram menunjukkan rerata kecepatan berenang *Danio rerio* Dewasa. Data diuji menggunakan One Way ANOVA dengan $p < 0,05$. Notasi yang berbeda menunjukkan signifikansi. a : signifikan terhadap P1,P2,P3 ; b : signifikan terhadap P0, P2, P3 ; c : signifikan terhadap P0, P1, P3 ; d : signifikan terhadap P0, P1, P2.

Pada penelitian ini, hasil kecepatan berenang pada kelompok kontrol berbeda signifikan dengan kelompok perlakuan dosis $CdCl_2$ 0,05 ppm, MATC, dan LC_{50} . Didapatkan penurunan kecepatan berenang pada kelompok perlakuan dosis $CdCl_2$ LC_{50} , MATC, dan 0,05 ppm berturut-turut kurang lebih 83%, 61%, dan 27% dibandingkan kelompok kontrol ($p < 0,05$). Tampak penurunan kecepatan

berenang pada kelompok perlakuan dosis $CdCl_2$ LC_{50} dan MATC berturut-turut kurang lebih 77% dan 47% dibandingkan kelompok perlakuan dosis $CdCl_2$ 0,05 ppm ($p < 0,05$). Kelompok perlakuan dosis $CdCl_2$ LC_{50} mengalami penurunan kecepatan berenang kurang lebih 56% dibandingkan perlakuan dosis $CdCl_2$ MATC ($p < 0,05$).

PEMBAHASAN

Dosis Lethal Concentration 50% (LC_{50}) Akut Cadmium Chloride ($CdCl_2$) dan Maximum Allowable Toxicant Concentration (MATC) Pada *Danio rerio* Dewasa

Pada penelitian ini nilai LC_{50} akut Cadmium chloride ($CdCl_2$) pada *Danio rerio* dewasa adalah 24,767 ppm yang termasuk dalam tingkat sedikit toksik ($>10 - \leq 100$ ppm)¹⁴. Efek toksik $CdCl_2$ dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya zat toksik itu sendiri, tingkat dosis, waktu paparan, cara paparan baik secara *in vitro* dan *in vivo*¹⁶, serta medium paparan dari $CdCl_2$ ¹⁷. Ikan menduduki rantai makanan tertinggi di perairan dan mengkonsumsi logam berat yang mencemari air dalam jumlah banyak dalam jangka waktu yang lama¹⁷.

Cadmium merupakan logam berat yang memiliki efek toksik sehingga dapat menginduksi kematian melalui kerusakan struktur dan fungsi pada hewan coba¹. Paparan cadmium pada perairan akan mengendap di sedimen yang terletak di dasar perairan dan akan mengalami emisi ke lingkungan. Efek pada organisme perairan, dapat menimbulkan kematian secara langsung maupun tidak langsung¹⁷. Paparan secara langsung (*direct*) yaitu ikan terpapar cadmium dari media paparan dalam bentuk (Cd^{2+}) yang berakibat terjadinya peningkatan stress oksidatif hingga *multiple organ damage* yang dapat berujung pada kematian¹⁷. Paparan secara tidak langsung berarti ikan mengkonsumsi organisme lain yang sudah terpapar cadmium¹⁷.

Cadmium akan masuk ke dalam tubuh *Danio rerio* sebagian besar melalui insang (40-60%)¹⁸. Cadmium melewati sel chloride di insang melalui kanal kalsium. Paparan akut (96 jam) cadmium pada *Danio rerio* menyebabkan hiperplasia sel klorida dan pelebaran kapiler pembuluh darah di insang¹⁹. Adanya hiperplasia, hipertrofi, dan edema pada sel epitel skuamosa maupun glandular²⁰ serta fusi lamela insang dapat mengganggu efisiensi kerja insang, sehingga mengakibatkan penurunan pertukaran gas¹⁹. Hal tersebut menyebabkan hipoksia pada sel, jaringan, dan organ pada tubuh ikan sehingga memicu apoptosis dan kematian organ⁵.

Cadmium dilaporkan menyebabkan iritasi pada traktus respiratori, liver, dan ginjal pada manusia¹⁹. Cadmium chloride dan cadmium sulfate merupakan partikel yang memiliki diameter 0,1 μm ²¹ sehingga cadmium yang terhirup pada mamalia akan langsung masuk dan terdeposit di alveolus. Cadmium tersebut akan memicu

timbulnya ROS dan stress oksidatif sehingga menyebabkan peningkatan ketebalan alveolus dan penurunan elastisitas paru⁵. Hal tersebut menyebabkan kapasitas paru menurun dan berdampak terjadi hipoksia jaringan bahkan kematian organ⁵.

Cadmium yang sudah masuk kedalam tubuh *Danio rerio* selanjutnya akan diabsorpsi secara endositosis di intestinal. Paparan *cadmium* dengan dosis ≥ 6 mg/L menyebabkan penghambatan asetilkolinesterase (AChE)¹⁶. *Cadmium* menghambat secara non kompetitif, dengan cara berikatan pada reseptor yang menstimulasi aktivasi AChE sehingga terjadilah penurunan AChE¹⁶. Penurunan AChE menyebabkan penurunan enzim di otot gastrointestinal¹⁶. Hal tersebut menyebabkan *Danio rerio* mengalami penurunan nafsu makan dan disfungsi traktus gastrointestinal¹⁶.

Tahapan selanjutnya *cadmium* akan didistribusikan melalui sirkulasi mengikat beberapa protein didalam tubuh serta akan terdistribusi di jaringan tubuh. *Cadmium* akan berinteraksi dengan komponen sitoplasmik seperti *metallothionein* (MTs)¹⁷ yang merupakan protein *low-molecular-weight metal binding* dan memiliki peran penting dalam metabolisme (absorpsi dan penyimpanan) dan mencegah toksisitas logam¹⁷. *Metallothionein* berfungsi untuk menjaga homeostasis unsur-unsur didalam tubuh seperti zinc dan tembaga¹⁷. *Metallothionein* akan mengikat *cadmium* yang ada di sel dan jaringan. Kadar *cadmium* yang terlalu tinggi, menyebabkan tubuh tidak dapat mengkompensasi sehingga timbul efek toksik. *Cadmium* akan berikatan dengan mitokondria dan menghambat respirasi seluler dan fosforilasi oksidatif pada konsentrasi rendah⁵. Selain itu, *cadmium* akan menurunkan *glutathione* (GSH) dan meningkatkan produksi *reactive oxygen species* (ROS) seperti ion *superoxide*, *hydrogen peroxide*, dan *hydroxyl radicals*⁵. *Cadmium* juga memiliki efek toksik dengan memblok uptake kalsium (Ca^{2+})¹⁹. Kalsium merupakan unsur esensial yang diambil dari dalam air oleh suatu organisme melalui kanal Ca^{2+} . Adanya hambatan uptake Ca^{2+} akan menyebabkan kondisi hipokalsemia¹⁹.

Cadmium di sirkulasi akan masuk ke jantung. *Cadmium* memicu pembentukan ROS dan mengganggu fungsi mitokondria sehingga mengganggu fungsi dan perkembangan jantung²². *Cadmium* terbukti menyebabkan disfungsi endotel dengan menstimulasi sitokin dan peningkatan penebalan carotis intima-media (*Intima-media thickness/IMT*)⁵. *Cadmium* juga menghambat sintesis *nitric oxide* di endotel sehingga menyebabkan vasokonstriksi dan hipertensi⁵. Jika terjadi dalam waktu yang lama akan memicu terjadinya peningkatan aliran darah sehingga muncul sitokin dan menginduksi *endothelial damage*⁵. Hal ini menyebabkan iskemia diberbagai organ dan jaringan seperti miokardium, otak, ginjal, pembuluh darah mesenterika, dan kaki⁵. Hal tersebut menandakan bahwa paparan *cadmium*

meningkatkan kematian akibat penyakit kardiovaskuler. Pada dosis 10 μM *cadmium* menyebabkan pembesaran perikardium dan ventrikel serta kardiomiopati²². Kematian sel yang disebabkan oleh paparan *cadmium* menyebabkan terjadinya penurunan efisiensi pompa jantung dan jangka waktu yang kronis terjadi penurunan tekanan darah sehingga meningkatkan kompensasi baroreflek denyut jantung²².

Sebanyak 30%, *cadmium* masuk ke ginjal dalam bentuk *cadmium-metallothionein* yang di filtrasi pada glomerulus ginjal dan direabsorpsi pada tubulus kontortus proksimal⁴. Pada sel tubulus kontortus proksimal, *cadmium-metallothionein complex* akan di transport sampai ke lisosom dan terjadi katabolisme. *Cadmium* bebas hasil dari katabolisme, dalam jumlah banyak akan menyebabkan stres oksidatif pada tubulus proksimal sehingga mengakibatkan disfungsi ginjal²³ dan apoptosis sel ginjal²³.

Cadmium juga dapat menembus *blood brain barrier*, memasuki otak dan neuron¹⁹ sehingga terjadi gangguan neurologi baik di manusia⁴ dan mencit¹⁹. *Cadmium* akan memicu penghambatan *ache gene expression* pada paparan satu jam pertama¹⁶. Hal tersebut memicu terhambatnya asetilkolinesterase (AChE). Penghambatan AChE menyebabkan stimulasi asetilkolin yang berlebihan sehingga menyebabkan neurotoksisitas dan memicu terjadinya kematian¹⁶. *Cadmium* memiliki waktu paruh 10-30 tahun. Paparan *cadmium* pada ikan selain dapat menyebabkan neurotoksisitas¹⁶, juga dapat menyebabkan stres oksidatif, disfungsi olfaktorius, gangguan imunitas, genotoksisitas, gangguan perilaku, gangguan reproduksi, kematian, dan beberapa efek lain¹⁶. Adanya berbagai efek toksik *cadmium* menyebabkan kegagalan anatomi maupun fungsi organ *Danio rerio*. Hal tersebut mengalami kegagalan kompensasi yang sempurna sehingga menyebabkan kematian.

Efek *Cadmium Chloride* (CdCl_2) terhadap Kecepatan Berenang *Danio rerio* Dewasa

Hasil yang didapatkan pada penelitian ini yaitu semakin tinggi dosis paparan CdCl_2 pada *Danio rerio* dewasa, semakin besar penurunan kecepatan berenang *Danio rerio* dewasa. Didapatkan perbedaan penurunan kecepatan berenang yang signifikan antar kelompok perlakuan.

Cadmium merupakan partikel dengan ukuran kecil dengan diameter 0,1 μm ²¹ atau $< 5 \mu\text{m}$ ¹⁶. *Cadmium* dapat meningkatkan permeabilitas *blood brain barrier* sehingga beberapa protein dan unsur-unsur lain termasuk *cadmium* dapat masuk dan terakumulasi di sistem saraf pusat sehingga menyebabkan akumulasi intraseluler dan *cerebral damage*²⁴. Hal tersebut akan memicu neurotoksisitas yang berat dan kerusakan fungsi jaringan saraf²⁴. Selain itu juga akan terjadi gangguan neurotransmitter kolinergik baik di dalam

otak maupun di otot¹⁶. AChE adalah suatu enzim yang berperan dalam menghidrolisis neurotransmitter asetilkolin menjadi *acetyl co a* dan *choline*. AChE banyak ditemukan pada neuromuscular junction dan sinap otak kolinergik, dimana berperan dalam memberikan transmisi sinaptik terminal. AChE disintesis di reticulum endoplasmic dan dikeluarkan ke permukaan seluler berupa bentuk molekul yang berbeda (bentuk globular) yang mungkin akan menuju membran plasma dan melekat pada lamina basal atau di sekresikan dalam bentuk soluble molekul (bentuk non-globular)²⁵. AChE adalah suatu enzim dengan aktivitas spesifik yang tinggi di otak dan jaringan saraf, selain itu juga dapat dideteksi di membrane otot dan eritrosit²⁵. Enzim tersebut merupakan kunci untuk memberikan transmisi impuls saraf dan dapat dihambat oleh *cadmium*²⁵. Sehingga adanya *cadmium* akan menghambat AChE dan menimbulkan kegagalan transmisi impuls saraf.

Di neuron otak, *cadmium* akan menghambat AChE (hingga 54%) secara non-kompetitif yaitu dengan cara berikatan dengan reseptor *end plate* yang memicu stimulasi asetilkolinesterase (AChE)¹⁶. Paparan *cadmium* pada 30 menit pertama dapat menghambat 60% AChE di otak²⁶. Aktivitas AChE yang dihambat akan menyebabkan perubahan perilaku berenang termasuk kecepatan berenang²⁶. *Cadmium* akan mempengaruhi aktivitas AChE dan sintesis asetilkolin (ACh), sehingga menyebabkan system saraf kolaps²⁶. Selain itu *Ache gene expression* pada satu jam pertama akan dihambat karena paparan *cadmium* sehingga terjadilah penurunan AChE¹⁶. *Ache gene expression* berperan dalam meregulasikan target jaringan dan sel selama proses diferensiasi dimana akan memicu produksi AChE pada rantai C-terminal²⁷. Penurunan tersebut menyebabkan kesulitan melihat, gangguan kognitif, penurunan koordinasi dalam beraktivitas, berenang, dan gangguan aktivitas lain¹⁶.

Kontraksi dan relaksasi otot berperan dalam pergerakan termasuk gerakan berenang *Danio rerio*. Kontraksi otot diinisiasi oleh stimulasi neural dari reseptor *dihydropyridine* yang berinteraksi dengan reseptor *ryanodine* untuk melepaskan kalsium dari retikulum sarkoplasma²⁸. Kalsium akan mengikat troponin yang didukung oleh interaksi antara myosin dan aktin dengan demikian timbul kontraksi otot. Kalsium dikembalikan lagi ke retikulum sarkoplasma oleh aktivitas retikulum *sarco-endoplasmic calcium ATPase* ketika relaksasi otot. Kecepatan kontraksi otot bergantung pada kalsium dan relaksasi otot ditentukan oleh usaha dan resistensi terhadap lelah²⁸. Paparan *cadmium* yang berada dalam sirkulasi akan memasuki otot yang merupakan 60% dari total masa tubuh. *Cadmium* menyebabkan aktivasi *calpain* dan produksi ROS²⁹. *Calpain* berperan dalam menginduksi depolarisasi pada mitokondria sehingga menyebabkan sel nekrosis²⁹. ROS yang meningkat akan menurunkan aktivitas basal

menyebabkan sel nekrosis³⁰. Selain itu juga akan mengaktivasi caspase 3 yang menyebabkan degradasi miofibril yang berperan dalam kontraksi otot²⁹.

Cadmium yang tidak terkompensasi oleh tubuh akan menyebabkan peningkatan ROS seperti radikal hidroksil, radikal superoksida, dan radikal hidroperoksil²⁹. Hal tersebut menyebabkan kerusakan pada struktur protein, lemak, DNA, dan mengaktifkan *signaling pathway* yang menginduksi apoptosis³². *Cadmium* juga akan berikatan mitokondria sehingga menghambat respirasi seluler dan fosforilasi oksidatif⁵. Terjadinya penghambatan tersebut menyebabkan penghambatan transport hasil metabolisme dalam mitokondria dan terjadi penurunan produksi ATP. Otot yang berfungsi dalam aktivitas berenang tidak memiliki ATP yang cukup sehingga memicu penurunan kecepatan berenang⁵.

Terjadinya penurunan kecepatan berenang pada *Danio rerio* dewasa menandakan terjadinya penurunan transport ATP dan peningkatan pemecahan miofibril. Paparan *cadmium* dosis 0,3 mg/l dan 3 mg/l menyebabkan penurunan kecepatan berenang pada *Danio rerio* dewasa yang dipapar selama 15-30 hari³². *Cadmium* juga memiliki efek toksik dengan memblok uptake kalsium (Ca^{2+}). Kalsium merupakan unsur esensial yang diambil dari dalam air oleh suatu organisme melalui kanal Ca^{2+} . Adanya hambatan uptake Ca^{2+} akan menyebabkan kondisi hipokalsemia¹⁹. Jika terjadi hipokalsemia, vesikel didalam sitoplasma tidak akan stabil sehingga tidak terjadi difusi vesikel dan tidak terjadi ekspulsi eksositosis sejumlah asetilkolin ke celah sinaps sehingga menyebabkan penurunan transduksi sinyal dalam mengkoordinasikan pergerakan³³. Selain itu adanya dominasi *cadmium* yang menurunkan kadar Ca^{2+} akan menyebabkan terganggunya proses kontraksi pada otot²⁸.

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa dosis 0,08 μM (0,016 ppm) *cadmium* dapat mengganggu pompa Ca^{2+} -ATP sehingga terjadi dominasi Cd^{2+} ³⁴. Penurunan Ca^{2+} akibat dominasi Cd^{2+} mengakibatkan kegagalan berbagai metabolisme dan aktivitas enzim yang berperan dalam degradasi miofibril seperti *calpains* atau *caspase 3*²⁹. Paparan akut *cadmium* 4,38 $\mu\text{g dry weight}$ terbukti menyebabkan akumulasi didalam otot *Pomatochistus microps juvenile*¹⁶ penurunan pergerakan (kemampuan mencari makan) pada ikan.

Pada penelitian ini paparan dosis LC_{50} (24,767 ppm), dosis MATC (14,142 ppm), dan dosis rekomendasi KEMENKES (0,05 ppm) menurunkan kecepatan berenang berturut-turut kurang lebih 83%, 61%, dan 27% dibandingkan kontrol. Hasil tersebut menunjukkan semakin tinggi dosis yang dipapar, CdCl_2 yang masuk ke dalam tubuh ikan akan mempengaruhi berbagai organ di tubuh termasuk otot sehingga menyebabkan penurunan kecepatan berenang.

Ikan yang telah terkontaminasi oleh *cadmium* apabila dikonsumsi oleh manusia yang kemungkinan akan menyebabkan gangguan motorik. Dalam hal ini kecepatan berenang pada *Danio rerio* diasumsikan seperti aktivitas motorik dan neurologik pada manusia³⁵. Sesuai dengan *dose-dependent relationship* yaitu semakin tinggi dosis paparan akan semakin meningkatkan perubahan kecepatan berenang pada ikan dan diduga meningkatkan perubahan aktivitas motorik pada manusia.

KESIMPULAN

Paparan CdCl₂ dosis LC₅₀ akut (96 jam) yang dipapar kepada *Danio rerio* dewasa ditemukan sebesar 24,767 ppm. Paparan akut CdCl₂ dosis LC₅₀ (24,767 ppm) dan MATC (14,142 ppm) pada *Danio rerio* dewasa mampu menurunkan kecepatan berenang.

SARAN

1. Penelitian untuk mengamati perubahan kadar asetilkolinesterase (AChE) pada *Danio rerio*.
2. Penelitian untuk mengamati perubahan struktur histologi lamella insang *Danio rerio* yang dipapar dosis LC₅₀, MATC, dan 0,05 ppm.
3. Penelitian untuk mengamati perubahan fungsi renal pada *Danio rerio* yang dipapar *cadmium chloride* (CdCl₂).
4. Penelitian untuk mengamati konsentrasi *cadmium chloride* (CdCl₂) didalam tubuh *Danio rerio*.

UCAPAN TERIMAKASIH

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

DAFTAR PUSTAKA

1. Heydamjad, M.S., Hermamal, M.K., Nematoolah, A. *Effects of cadmium at sublethal concentration growth and biochemical parameters in rainbow trout (Oncomorhynchus mykiss)*, Irish Vitenar Journal. 2013;66(11):p1-7.
2. NCM. Nordic Council of Ministers: *Lead Review*. 2003;p.1-26.
3. Kumar, P. and Singh, Anu. *Cadmium toxicity in fish:an overview*, GERF Bulletin of Bioscience.2010;1:p.41-47.
4. Godt, J., Scheidig, F., Grosse-Siestrup, C., Esche, V., Brandenburg, P., Andrea, R., et al. *Review: The toxicity cadmium and resulting hazard for human health*, Journal of

- Occupational Medicine and Toxicology.2006;1:p.1-6.
5. Rafati, R.M., Kazemi, S., dan Moghadamnia, A. *Cadmium Toxicity and Treatment: An update*. Caspian Journal Internal Medicine. 2017;8(3):135-145.
6. Simonetti, RB., Marques, LS., Jr Danilo, PS., Oberst, ER. *Zebrafish (Danio rerio) : the future of animal model in biomedical research*. Journal of Fisheries Science.2015;9(3): 039-045.
7. Howe, K., Clark, M.D., Torroja, C.F., et al. *The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome*. Nature Reviews .2013.
8. Lieschke, G.J. dan Currie, P.D. *Animal models of human disease: zebrafish swim into view*, Nature Reviews. 2007;8:p.353-367.
9. Adharyu, J. *The concentration dependent relationship between cadmium and teratogenic effects in zebrafish (danio rerio) embryos the concentration dependent relationship between cadmium and teratogenic effects in zebrafish (danio rerio) embryos*. Thesis.2017;Page 0-39. Doi: 10.13140/RG.2.2.23122.56005
10. Matz, C.J. *The effects of cadmium on the olfactory system of larval zebrafish*, Nhk技研. 2015; 151:p.10-17.
11. Sutrisno dan Kuntastyuti, H. *Pengelolaan Cemarann Kadmium Pada Lahan Pertanian Di Indonesia*, Buletin Palawija. 2015;13: p.83-91.
12. OECD. *OECD Guidelines for The Testing of Chemicals*, Organisation for Economic Co-operation and Development. 2013;p.1-22.
13. Reed, B., dan Jennings, M. *Guidance on the housing and care of Zebrafish Danio rerio. First Edition. Research Animal Department, Science Group*. 2015;p.1-65.
14. GESAMP. *Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Environmental Protection: The Revised GESAMP Hazard Evaluation Procedure for Chemical Substances Carried by Ships*. No.64. International Maritime Organization Product, London, United Kingdom. 2002;p.1-137.
15. ECHA. *Guidance on information requirements and chemical safety assessment. Chapter R.10: characterisation of dose (concentration)-response for environment*, European Chemical Agency. 2008.
16. Miranda, T., Vieira, L.R., dan Guilhermino, L. *Neurotoxicity, Behavior, and Lethal Effects of Cadmium, Microplastics, and Their Mixtures on Pomatoschistus microps Juveniles from Two Wild Populations Exposed under Laboratory Conditions-Implication to Environmental and Human Risk Assessment*, International Journal of Environmental Research and Public Health. 2019;16:p1-24.

17. Perera, P.A.C.T., Kodithuwakku, S.P., Sundarbarathy, T.V., Edirisinghe, U. *Bioaccumulation of Cadmium in Freshwater fish: An Environmental Perspective*, Insight Ecology. 2015;1:12.p.1-12.
18. Kazantzis, G. *Cadmium, osteoporosis and calcium metabolism*, Biometals. 2004;17:p.493-498.
19. Santos, D.A., Figueiredo, D.A.L., 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*, Artigo. 2018;6:p.16-33.
20. Yancheva, V., Mollov, I., Velcheva, I., Stoyanova, S., Georgieva, E. *Cadmium (Cd) Affect The Gill Structure And Respiration Rate of Common Carp (Cyprinus carpio L.)*, Zoonotes.2016;97:p1-4.
21. ATSDR. Agency for Toxic Substance and Disease Registry: Draft Toxicological Profile for Cadmium, *Department of Health and Human Services*, US.2008;n.p.
22. Wold, M., Beckmann, M., Poitra, S., Espinoza, A., Longie, R., Mersereau, E., Darland, D. C. dan Darland, T. *The longitudinal effects of early developmental cadmium exposure on conditioned place preference and cardiovascular physiology in zebrafish*. *Aquatic Toxicology*. Elsevier.2017;191,hal.73–84.doi:10.1016/j.aquatox.2017.07.017.
23. Brzóska, MM., Moniuszko-Jakoniuk, J. *Disorders in bone metabolism of female rats chronically exposed to cadmium*. *Toxicol Appl Pharmacol* 202.2005;(1):68-83.
24. Branca, J.J.V., Maresca, M., Moroucci, G., Mello, T., Becatti, M., Pazzagli, L., Colzi, I., Gonnelli, C., Carrino, D., Paternostro, F., Nicoletti, C., Ghelardini, C., Gulisano, L., Pacini, A. *Effect of cadmium on ZO-1 tight junction integrity of the Blood Brain Barrier*, *International Journal of Molecular Science*. 2019;20(6010):p.1-19.
25. Gupta, V.K., Kumar, A., Siddiqi, N.J., dan Sharma, B. *Rat brain acetyl cholinesterase as a biomarker of cadmium induced neurotoxicity*, *Journal of Toxicology*. 2016;1(1):p.1-7.
26. Yang, M., Ji, L., Zhang, X., Fan, Y., dan Ren, Z. *The Relationship between Behavior Responses and Brain Acetylcholinesterase (AChE) activity of zebrafish (Danio rerio) in cadmium stress*, *International Journal of Fisheries Science and Research*. 2017;1(1):p.1-6.
27. Camp, S., Jaco, A.D., Zhang, L., Marquez, M., Torre, B.D.L., dan Taylor, P. *Acetylcholinesterase Expression in Muscle is Specifically Controlled by a Promoter-Selective Enhancer in The First Intron*, *The Journal of Neuroscience*. 2008;28:p.2459-2470.
28. Seebacher, F., Little, A.G., dan James, S. *Skeletal muscle contractile function predicts activity and behaviour in zebrafish*, *Company of Biologist*. 2015;218:p.3878-3884.
29. Avallone, B., Cerciello, R., Agnisola, C., Panzuto, R., Simoniello, P., Creti, P., et al. *Structural and functional changes in zebrafish (danio rerio) skeletal muscle after cadmium exposure*, *Cell Biology and Toxicology Journal*. 2015;31:p.273-283.
30. Yang, Pei., Chen, J., Tsai, J., dan Lin, L. *Cadmium induces Ca²⁺ dependent necrotic cell death through calpain-triggered mitochondrial depolarization and reactive oxygen species-mediated inhibition of nuclear factor-Kb activity*. *Abstracts Chemical Research Toxicology*. 2007;20(1):p.406-415.
31. Song, N. dan Koh, J. *Effect of Cadmium Chloride on The Cultured Human Lens Epithelial Cells*, *Molecular Vision*. 2012;18:p.938-988.
32. Agnisola, C., Uliano, E., Simoniello, P., Motta, C.M. *Effects of Cadmium on Skeletal Muscles and Swimming Performance of Danio rerio*. *Journal of Biological Research*. 2011;p.1-4.
33. Sukohar, A. *Buku Ajar Farmakologi: Neurofarmakologi - Asetilkolin dan Norepinefin*. Lampung. Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.2014;p.11-16.
34. Su, W.M., Pei, J.T., Ming, Y.C., dan Wang, W. *Effect of Maternal Cadmium Exposure on Female Reproductive Function, Gamete Quality, and Offspring Development in Zebrafish (Danio rerio)*, *Archives Environmental Contamination Toxicology*. 2013;65:P.521–536.
35. Mwaffo, V., Zhang, P., Cruz, A.R., dan Porfiri, M. *Zebrafish Swimming in The Flow: a Particle Image Velocimetry Study*, *Peer Journal*.2017;p.1-23.