

EFEK TERATOGENIK KADMIUM KLORIDA (CdCl_2) TERHADAP FREKUENSI DENYUT JANTUNG DAN STRUKTUR PERIKARDIUM PADA EMBRIO IKAN ZEBRA (*Danio rerio*)

Aldila Kumala Kusumawardani, Yoyon Arif Martino*, Noer Aini*

*Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Kadmium adalah logam toksik, teratogenik, dan banyak ditemukan di lingkungan yang dapat mengkontaminasi manusia. Paparan kadmium pada ibu hamil diduga menyebabkan terjadinya cacat jantung bawaan pada neonatus. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan tentang efek paparan kronis CdCl_2 pada induk ikan zebra (F0) terhadap frekuensi denyut jantung dan luas perikardium embrio ikan zebra (F1).

Metode: Eksperimental laboratorium *in vivo post test only*. Subjek penelitian menggunakan induk jantan dan betina ikan zebra (*Danio rerio*) (F0) yang dipapar selama 30 hari. Kelompok penelitian dibagi menjadi kelompok kontrol, perlakuan 1, perlakuan 2, perlakuan 3 dengan dosis masing-masing 0 ppm, 0,5 ppm, 1 ppm, dan 1,5 ppm. Pengamatan denyut jantung menggunakan *software Honestech vhs to dvd 2,5 se* dan *software tracker*. Pengamatan luas perikardium menggunakan *software image J* dengan mikroskop stereo pembesaran 4,5x. Data dianalisa menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* dengan tingkat signifikansi $p < 0,05$.

Hasil: Paparan kadmium kronis menurunkan frekuensi denyut jantung pada dosis 0,5 ppm; 1 ppm; dan 1,5 ppm sebesar 20% dibandingkan kelompok kontrol ($p < 0,05$). Terjadi peningkatan luas perikardium 24% pada embrio dengan paparan kadmium 1,5 ppm dibanding dengan kelompok kontrol, dosis 0,5 ppm, dan dosis 1 ppm ($p < 0,05$).

Kesimpulan: Paparan kadmium menurunkan denyut jantung dan meningkatkan luas perikardium embrio ikan zebra (*Danio rerio*)

Kata Kunci: Kadmium, Frekuensi Denyut Jantung, Luas Perikardium, *Danio rerio*

Korespondensi: Noer Aini

e-mail: noeraini@unisma.ac.id

TERATOGENIC EFFECT OF CADMIUM CHLORIDE (CdCl_2) ON HEART RATE AND PERICARDIUM STRUCTURE OF ZEBRAFISH (*Danio rerio*) EMBRYO

Aldila Kumala Kusumawardani, Yoyon Arif Martino*, Noer Aini*

*Faculty of Medicine University of Islam Malang

ABSTRACT

Introduction : *Cadmium* is a toxic, teratogenic metal, and is found in many environments that can contaminate humans. Long *cadmium* exposure in pregnant women causes heart defects in neonates. This research aims to know the effect of CdCl_2 exposure to zebra fish (F0) on heart rate and pericardium area of zebrafish embryo (F1) has never been done before.

Method : Experimental laboratory *in vivo post-test only*. Research subjects used male and female zebra fish (*Danio rerio*) (F0) which were exposed for 30 days. The study group was divided into a control group, treatment 1, treatment 2, treatment 3 with doses of 0 ppm, 0.5 ppm, 1 ppm and 1.5 ppm respectively. Heart rate of zebra fish observation using *Honestech vhs to dvd 2.5 se* software and *tracker* software. Pericardium area of zebra fish observations using *J image* software with a 4.5x magnification stereo microscope. Data analysis done by *Kruskal-Wallis* and continued by *Mann Whitney* with significance level $p < 0.05$

Results : Chronic cadmium exposure decreased heart rate at dose of 0.5 ppm; 1 ppm; and 1.5 ppm by 20% compared to the control group ($p < 0.05$). There was an increase in pericardium area 24% in embryos with exposure to cadmium 1.5 ppm compared to the control group, CdCl_2 0.5 ppm, and CdCl_2 1 ppm ($p < 0.05$).

Conclusion : *Cadmium* exposure decrease heart rate and increase pericardium area of zebra fish embryo (*Danio rerio*)

Keywords: *Cadmium*, Heart Rate, Pericardium area, *Danio rerio* embriyo

PENDAHULUAN

Kadmium (Cd) adalah logam yang bersifat karsinogenik non-esensial dan banyak ditemukan di lingkungan. Zat ini bersifat lunak, berwarna putih keperakan dengan sedikit kebiruan, berkilau dan bermuatan elektropositif. Kadmium tidak memiliki rasa atau bau.¹ Jenis kadmium yang banyak di temui di alam bebas merupakan kombinasi dari Kadmium dan *chloride* yang menghasilkan Kadmium *chloride* (CdCl_2) yang larut dalam air. Senyawa CdCl_2 merupakan produk yang terbentuk dari pemurnian dan peleburan seng, penambangan, bijih tembaga dan timbal, baterai nikel-kadmium, dan penstabil plastik. Hasil pembuangan sisa produksi bahan tersebut yang langsung dibuang ke lingkungan perairan dapat menyebabkan kematian pada ikan.¹

Senyawa CdCl_2 yang masuk kedalam tubuh makhluk hidup dapat terakumulasi dalam organ-organ tertentu. Senyawa CdCl_2 juga dapat mengkontaminasi biota air dan berlanjut ke rantai makanan hingga dikonsumsi manusia.² Selain itu, kadmium juga dapat memasuki tubuh melalui jalur pernapasan. Sebagian besar kandungan kadmium dalam tubuh justru berasal dari udara yang terkontaminasi dan masuk ke aliran darah melalui alveolar.² Kadmium juga diketahui dapat memasuki tubuh melalui jalur dermal, meskipun jumlahnya tidak lebih dari 1%.³

Kadmium yang mengkontaminasi dan terakumulasi dalam tubuh manusia dapat menyebabkan beberapa efek negatif. Kadmium dapat menginduksi toksisitas dan menyebabkan preeklamsi, infertilitas, gagal ginjal akut, dan mengganggu homeostasis mineral.⁴ Penyakit jantung bawaan merupakan penyakit kongenital yang memiliki angka mortalitas tertinggi. Selain itu, neonatus dengan penyakit jantung bawaan akan mengalami peningkatan morbiditas dan kecacatan seumur hidup.⁵ Penelitian tahun 2013 menunjukkan bahwa penduduk Amerika meningkat mortalitasnya akibat penyakit kardiovaskuler yang disebabkan tingginya kadar kadmium.⁶ Kadmium juga diketahui dapat melewati plasenta sehingga memiliki efek teratogenik.⁶ Interaksi antara senyawa Kadmium-thiol dalam tubuh mengganggu aktivitas *methyltransferase* DNA. Gangguan proses ini dapat mengganggu tahap perkembangan embrio.⁷ Penelitian oleh Kippler menunjukkan bahwa pada ibu hamil dengan kadar kadmium di urin 0,63 $\mu\text{g/L}$ berhubungan dengan penurunan lingkaran kepala dan berat badan bayi baru lahir (BBLR).⁸

Ikan zebra (*Danio rerio*) adalah mamalia yang memiliki kemiripan gen 70% dengan manusia sehingga digunakan dalam memprediksi efek teratogenik pada manusia akibat paparan senyawa

toksik. Embrio ikan zebra terfertilisasi eksternal dan memiliki waktu berkembang dengan cepat sehingga merupakan model yang baik untuk penelitian tentang teratogenik. Selain itu, embrio ikan zebra memiliki warna transparan sehingga mudah untuk mengamati gangguan embriogenesisnya.⁹

Struktur organ utama yang terbentuk dalam proses embriogenesis adalah sistem kardiovaskuler yang dapat terganggu akibat paparan CdCl_2 . Gangguan struktur dan fungsi sistem kardiovaskuler dapat diamati dengan pengukuran luas perikardium dan frekuensi denyut jantung. Kadmium diketahui dapat menurunkan ekspresi *glucose transporter* sehingga menurunkan *uptake* glukosa. Penurunan *uptake* glukosa ini dapat menurunkan metabolisme sel sehingga mengganggu perkembangan.⁷ Gangguan dari perkembangan jantung akan menyebabkan penurunan distribusi oksigen sehingga jantung memberikan kompensasi berupa peningkatan frekuensi denyut jantung.⁷

Penelitian tentang efek paparan kronis CdCl_2 pernah dilakukan terhadap ikan zebra sebelumnya. Penelitian oleh Indriana *et al*, tahun 2020 menunjukkan bahwa paparan kronis CdCl_2 pada ikan zebra meningkatkan jumlah hiperplasia lamela sekunder insang dan nekrosis inti sel ginjal ikan zebra.¹⁰ Penelitian lain, paparan kronis CdCl_2 pada induk ikan zebra menunjukkan adanya penurunan luas area mata dan penurunan daya tetas embrio ikan zebra.¹¹ Namun, penelitian tentang paparan kronis CdCl_2 pada induk ikan zebra dengan mengamati luas perikardium dan denyut jantung embrio ikan zebra belum pernah dilakukan. Berdasarkan hal tersebut penulis ingin meneliti efek paparan CdCl_2 terhadap frekuensi denyut jantung dan struktur perikardium pada embrio pada ikan zebra (*Danio rerio*).

METODE PENELITIAN

Desain, Waktu dan Tempat Penelitian

Metode yang digunakan pada penelitian ini yaitu metode eksperimental dan observasi laboratorium secara *in vivo* dengan desain *post test only*. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui efek toksik dan teratogenik dari CdCl_2 terhadap frekuensi denyut jantung dan luas perikardium ikan zebra (*Danio Rerio*) dengan menggunakan mikroskop stereo, *Software Tracker* dan *Software Image J*.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Zebra Fish Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang mulai Januari-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 pada penelitian ini yaitu embrio (telur) ikan zebra (*Danio Rerio*) yang di dapatkan dari hasil pemijahan di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang. Ikan zebra juvenile yang digunakan untuk pemijahan berusia 3-4 bulan yang didapatkan dari peternakan Sentra Pembiakan Ikan Zebra Tulungagung, Jawa Timur yang sudah disertifikasi dan diidentifikasi di Fakultas Kelautan dan Perikanan Universitas Airlangga, Surabaya dengan nomer sertifikat No.006/ULMKILP/UA.FPK/ 03/2019

Penentuan Dosis dan Pembuatan Larutan Kadmium Chloride (CdCl₂)

Media yang digunakan untuk pembuatan media uji ini yaitu Kadmium Chlorida (CdCl₂) serbuk sebanyak 250 mg yang di larutkan dalam air aquadest 500 mL dengan dosis pada masing-masing aquarium yaitu 0 mg/L (P0), 0,5 ppm (P1), 1 ppm (P2), 1,5 ppm (P3).¹²

Proses pembuatan media uji dilakukan dengan cara pengenceran larutan induk 500 ppm dari kadmium stok merk *Loba Chemie*. Kadmium dengan nomor CAS 35658-65-2 dan kode produk 02417 dalam bentuk *white crystal* yang ditimbang menggunakan *Digital Ohaus Pioneer PA214210* sebanyak 250 mg CdCl₂ yang dilarutkan menggunakan aquadest pada labu ukur yang berukuran 500 mL. Setelah larutan induk didapatkan 500 ppm, kemudian dihitung kebutuhan masing-masing aquarium induk.

Aklimatisasi dan Pemeliharaan Ikan Zebra Dewasa

Pada proses aklimatisasi dan pemeliharaan ikan zebra dewasa dilakukan di Laboratorium Zebra Fish Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang dalam waktu 7 hari yang dilakukan sebelum pemijahan. Selama aklimatisasi berlangsung, ikan zebra ditempatkan di aquarium berukuran 60cm x 30cm x 35cm yang sudah dipasang filter air dan berisi 45 liter *purified water*. Untuk memberikan pencahayaan lampu juga harus terpasang, dalam waktu 14 jam mulai pukul 09.00 cahaya terang dan 10 jam mulai pukul 23.00 *dark cycle* yang diatur menggunakan *automatic timer*.¹³

Dalam pemberian makan pada ikan zebra ini minimal 2 kali sehari menggunakan *PSC*®.¹⁴ Kebersihan aquarium dan filter air sangat mempengaruhi kondisi kesehatan ikan zebra sehingga 1 kali dalam seminggu dilakukan pengantian setengah air aquarium.¹⁵ Paparan kadmium ini dilakukan selama 1 bulan pada induk ikan zebra yang berusia 3 bulan.

Pemijahan Ikan Zebra Dewasa

Didalam aquarium dengan kondisi dan ukuran yang sama, pemijahan dilakukan pada saat perlakuan aklimatisasi dan pemeliharaan ikan zebra yang sebelumnya, untuk meletakkan telur ikan *spawning trap* perlu ditambahkan pada bagian dasar aquarium. Pada tiap aquarium diisi ikan zebra dengan perbandingan betina : jantan yaitu 1:2, dengan jumlah 5 betina dan 10 jantan. Pada proses pemijahan ini pengaturan pencahayaan perlu dilakukan dengan memberi cahaya terang pada aquarium dan telur siap dipanen 30-60 menit setelahnya. Selama proses pemijahan ini ikan zebra diberimakan *PSC*® sebanyak 3-5 kali sehari.¹⁶

Pemeliharaan Embrio Ikan Zebra

Telur dipanen dengan mengangkat *spawning trap* dari dasar aquarium dan dipindahkan kedalam *petri disk* yang berisi *embryonic medium* dengan menggunakan *disposable pipette*. Kemudian telur diamati dibawah mikroskop stereo untuk memilih embrio yang hidup sehat dan telah mengalami fertilisasi, kemudian dipindahkan ke *96-well plate* untuk dikembangkan.¹⁶

Pengamatan Frekuensi Denyut Jantung Ikan Zebra

Mengambil 10 embrio yang masih hidup dari masing-masing *well plate* yang berumur 48 hpf kemudian diletakkan dalam cawan petri lalu diamati menggunakan mikroskop stereo untuk mengamati frekuensi denyut jantung embrio ikan zebra tersebut. Pengamatan dilakukan dengan melakukan perekaman melalui mikroskop stereo dengan perbesaran 4,5x yang terhubung dengan komputer dengan software *Honestech vhs to dvd 2,5 se* dan *software traker* dengan play rate sebesar 20%, kemudian denyut jantung dihitung menggunakan *hand counter* selama 15 detik untuk mengetahui frekuensi denyut jantung ikan zebra. Satuan frekuensi denyut jantung adalah kali per menit.

Perhitungan denyut jantung dalam satuan menit dapat diketahui dengan rumus sebagai berikut:

$$HR = a \times 60 / b$$

Keterangan :

HR = Heart Rate (Denyut Jantung dalam satuan menit)

a = Jumlah denyut saat pengamatan

b = Lama waktu pengamatan

Luas Perikardium Embrio Ikan Zebra (*Danio rerio*)

Mengambil 10 embrio yang masih hidup dari masing-masing *well plate* yang berumur 72hpf kemudian diletakkan dalam cawan petri lalu diamati menggunakan mikroskop stereo untuk mengamati luas perikardium embrio ikan zebra tersebut. Pengamatan dilakukan dengan mikroskop stereo dengan perbesaran 4,5x yang terhubung dengan komputer dengan software *Honestech vhs to dvd 2,5 se* dan *software image J* untuk mengukur luas perikardium ikan zebra. Hasil *pixels* diubah kedalam bentuk mm^2 .

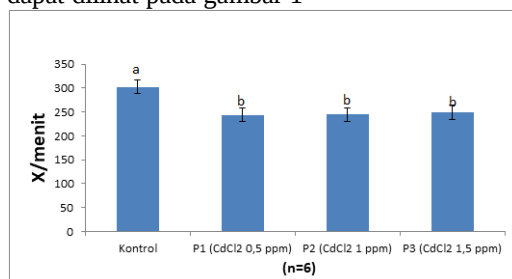
Analisa Data Statistik

Hasil data frekuensi denyut jantung dan struktur perikardium diuji normalitas dan homogenitas menggunakan *Statistical Product and Service Solution (SPSS)* versi 23.0. Apabila hasil uji menunjukkan data yang normal dan homogen maka dilanjutkan analisa data *One Way Analysis of Varian (One Way ANOVA)*. Namun apabila data tidak normal atau tidak homogen maka analisa data menggunakan *Kruskal-Wallis*. Jika terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan ($p < 0.05$) maka dilanjutkan dengan *Post Hoc Test* untuk *One Way ANOVA* dan *Mann-Whitney* untuk *Kruskal Wallis*.

HASIL DAN ANALISA DATA

Efek Kadmium Terhadap Frekuensi Denyut Jantung Embrio Ikan Zebra 48 hpf

Perhitungan frekuensi denyut jantung embrio ikan zebra (F1) setelah induk ikan zebra (F0) dipapar kadmium (CdCl_2) selama 30 hari dapat dilihat pada gambar 1



Gambar 1. Histogram Rerata Frekuensi Denyut Jantung Embrio Ikan Zebra (F1) 48 hpf

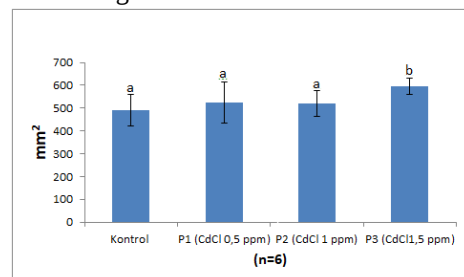
Keterangan .: Frekuensi denyut jantung (rata-rata $\pm$ SD), kelompok kontrol (302,67 $\pm$ 10,63), P1 (243,33 $\pm$ 7,33), P2 (244,67 $\pm$ 6,40), dan P3 (249,33 $\pm$ 8,26). Data di uji menggunakan One-Way ANOVA. Notasi (a,b) yang menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$).

Berdasarkan gambar 1 didapatkan hasil bahwa terdapat perbedaan signifikan frekuensi denyut jantung embrio ikan zebra (F1) 48 hpf antara kelompok kontrol dan perlakuan ($p < 0,05$). Diantara kelompok perlakuan tidak didapatkan perbedaan

signifikan ($p > 0,05$). Didapatkan penurunan frekuensi denyut jantung pada kelompok perlakuan sebesar 20% dibandingkan kelompok kontrol ($p < 0,05$).

Efek Kadmium Terhadap Luas Perikardium Embrio Ikan Zebra (F2) 72 hpf

Perhitungan luas perikardium embrio ikan zebra (F1) setelah induk ikan zebra (F0) dipapar kadmium (CdCl_2) selama 30 hari dapat dilihat pada gambar 2 dan gambar 3.



Gambar 2. Histogram Rerata Luas Perikardium Embrio Ikan Zebra 72 hpf

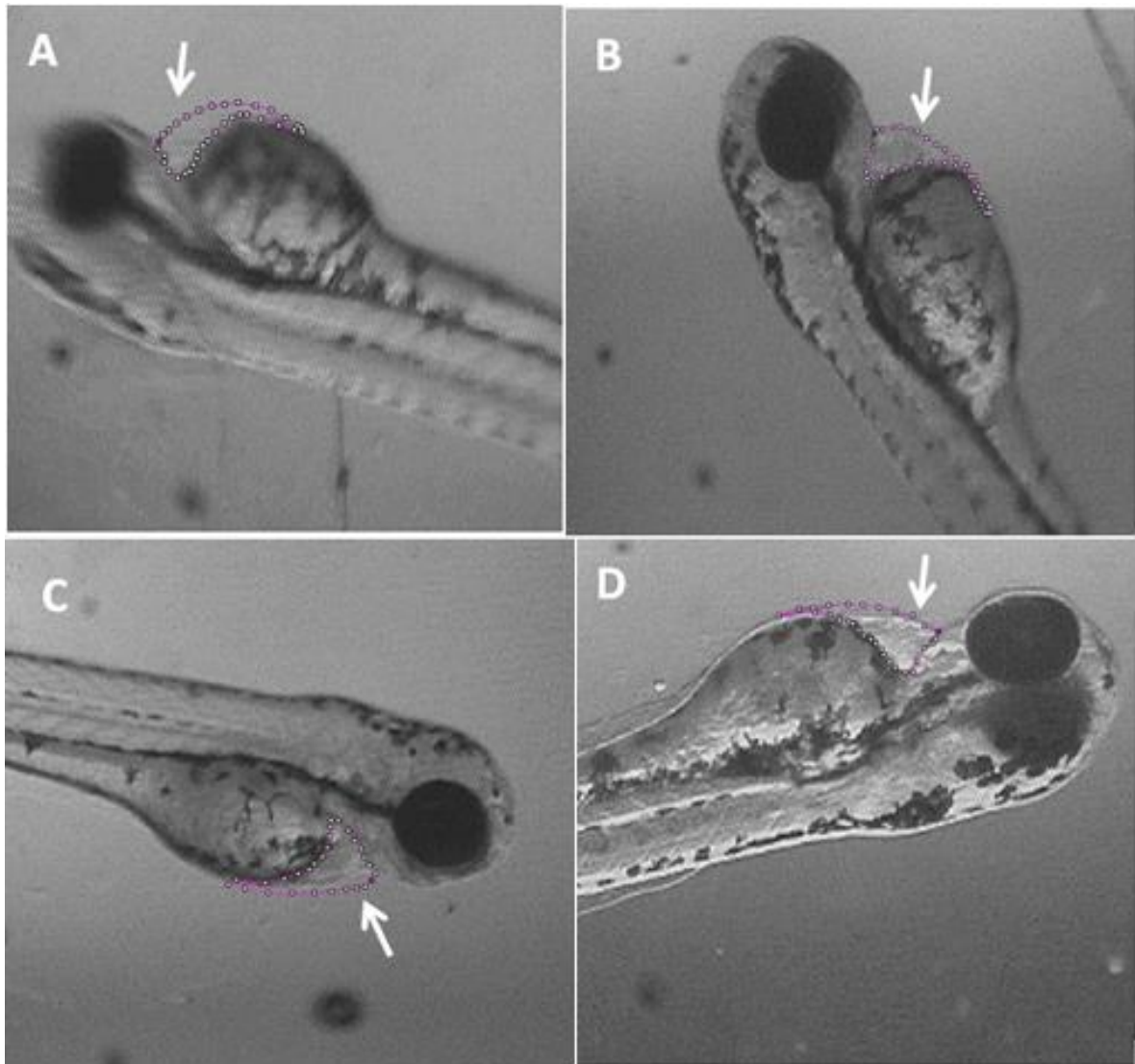
Keterangan : Luas perikardium (rata-rata $\pm$ SD), kelompok kontrol (479,23 $\pm$ 67,31), P1 (518,16 $\pm$ 80,42), P2 (520,49 $\pm$ 56,20), dan P3 (596,54 $\pm$ 35,26). Data di uji menggunakan One-Way ANOVA. Notasi (a,b) yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$).

Berdasarkan gambar 2 menunjukkan terdapat perbedaan signifikan luas perikardium ikan zebra (F1) sebesar 24% antara dosis CdCl_2 1,5 ppm dibanding dengan kelompok kontrol ($p < 0,05$). Terjadi peningkatan luas perikardium sebesar 8,5% pada kelompok CdCl_2 0,5 ppm, dan CdCl_2 1 ppm dibandingkan kelompok kontrol meskipun tidak signifikan ($p > 0,05$).

PEMBAHASAN

Efek Kadmium terhadap Frekuensi Denyut Jantung Embrio Ikan Zebra (*Danio rerio*) 48 hpf

Hasil penelitian yang dilakukan membuktikan bahwa induk ikan zebra (F0) yang dipapar kadmium secara kronis dapat menurunkan frekuensi denyut jantung embrio (F1). Frekuensi denyut jantung embrio ikan zebra mengalami peningkatan seiring dengan peningkatan dosis paparan meskipun tidak signifikan. Hal ini diduga disebabkan embrio ikan zebra lebih cepat mengompensasi pada dosis yang tinggi dibandingkan dengan dosis yang rendah. Frekuensi denyut jantung ikan zebra dipengaruhi oleh kadar oksigen, suhu¹⁷, usia¹⁸, *genetic defect*¹⁹, dan kadar senyawa toksik.²⁰ Normal denyut jantung ikan zebra yaitu 120-180 kali/menit. Kadar oksigen normal yang dibutuhkan oleh ikan zebra untuk tumbuh optimal adalah 80-140 mmHg.¹⁷



Gambar.3. Pengamatan Luas Perikardium Embrio Ikan Zebra 72 hpf

Keterangan : Gambar yang ditunjukkan dengan panah putih, menunjukkan hasil pengamatan luas perikardium ikan zebra usia 72 hpf menggunakan mikroskop stereo perbesaran 4,5x. Gambar (A) luas perikardium kelompok kontrol, (B) luas perikardium kelompok paparan CdCl₂ dosis 0,5 ppm, (C) luas perikardium kelompok paparan CdCl₂ dosis 1 ppm, dan (D) luas perikardium kelompok paparan CdCl₂ dosis 1,5 ppm.

Penurunan kadar oksigen hingga $<20 \text{ PO}_2 \text{ mmHg}$ menurunkan frekuensi denyut jantung hingga $<50 \text{ x/menit}$. Peningkatan kadar oksigen $\geq 60 \text{ PO}_2 \text{ mmHg}$ dapat mempertahankan frekuensi denyut jantung $120\text{-}150 \text{ x/menit}$ pada ikan zebra.²¹ Selain kadar oksigen, temperatur air juga dapat mempengaruhi denyut jantung. Peningkatan temperatur air di atas 28°C pada ikan zebra meningkatkan frekuensi denyut jantung ikan zebra $>150 \text{ x/menit}$.²¹

Kadmium mampu menyebar secara difusi melalui pori-pori chorion disebabkan karena ukuran kadmium lebih kecil (158 pikometer) dibandingkan dengan pori-pori chorion ($06\text{-}0,7 \mu\text{m}$). Selain itu, terjadi ikatan antara kadmium dan chorion telur ikan zebra. Ikatan antara kadmium dan chorion ikan zebra disebabkan chorion memiliki banyak senyawa asam glutamat yang bermuatan negatif sedangkan kadmium bermuatan positif sehingga berikatan dengan sisi anion dari asam glutamat. Namun, chorion hanya bisa menghambat 61% senyawa kadmium yang penetrasi ke embrio sehingga sisanya dapat masuk ke *vitelline membrane* (38%).²² Setelah melewati chorion, kadmium berada pada *vitelline membrane* dan ikut bersirkulasi pada embrio ikan zebra secara difusi.²³ Kadmium kemudian masuk ke intraseluler melalui kanal kalsium embrio ikan zebra.²⁴ Dalam sel embrio ikan zebra kadmium menginduksi penurunan ekspresi gen *superoxide dismutase* (SOD) dan katalase sehingga terjadi penurunan produksi antioksidan endogen.²⁵ Kadmium juga dapat berikatan dengan mitokondria sehingga menurunkan sintesis ATP dan meningkatkan produksi ROS dalam sel saraf.²⁵ Selain itu, kadmium dapat merusak kanal kalsium yang telah dilewatinya sehingga terjadi peningkatan kalsium intraseluler. Adanya peningkatan kalsium intraseluler ini dapat menginduksi gen pro apoptosis Bax dan Bak sehingga terjadi proses apoptosis pada sel saraf.²⁶

Paparan kadmium dapat menurunkan denyut jantung embrio ikan zebra dengan cara kadmium menghambat neurogenesis sehingga terjadi abnormalitas pada otak dan saraf perifer embrio ikan zebra.²⁷ Adanya penurunan antioksidan endogen dan peningkatan produksi ROS dapat mengganggu differensiasi saraf perifer nervus vagus ikan zebra. Gangguan differensiasi pada nervus vagus embrio ikan zebra ini dapat mengganggu persinyalan SA node ke AV node jantung ikan zebra sehingga menurunkan frekuensi denyut jantung ikan zebra.^{12,27} Penelitian oleh Daniati *et al.*, 2019 menunjukkan bahwa terjadi penurunan luas mata ikan zebra yang membuktikan bahwa terjadi gangguan proses neurogenesis.¹¹ Penelitian lain juga membuktikan bahwa paparan

kadmium meningkatkan luas *yolk sac*²⁸ dan menyebabkan *stunting*²⁹ pada embrio ikan zebra akibat gangguan neurogenesis.

Pada penelitian ini kadmium dipapar pada induk ikan zebra (F0) untuk mengetahui efeknya terhadap frekuensi denyut jantung embrio ikan zebra (F1). Peningkatan dosis paparan tidak meningkatkan frekuensi denyut jantung embrio secara signifikan diduga disebabkan karena interval dosis yang diberikan pendek. Kadmium masuk ke tubuh ikan zebra dan mempengaruhi sel sperma dan sel telurnya. Efek kadmium pada sel sperma dapat menyebabkan penurunan integritas plasma membran sehingga dapat menyebabkan DNA sperma dapat terekspose dengan kadmium. DNA yang terekspose ini akan mengalami fragmentasi dan dapat di transmisikan pada keturunannya. Selain itu, penurunan integritas juga menyebabkan paparan kadmium dapat masuk dan merusak mitokondria sehingga terjadi penurunan energi sel.³⁰

Efek kadmium pada sel telur diawali oleh masuknya kadmium melalui kanal kalsium. Kadmium dalam sel mencegah ikatan kalsium dan kalmodulin serta ikatan kalsium dan protein kinase C yang dapat menyebabkan lesi pada membran oosit. Selain itu, embrio yang terpapar oleh kadmium dapat mengalami disregulasi gen antioksidan dan ROS yang dapat diturunkan pada embrionya.³¹

Hasil penelitian oleh Watson, *et al* tahun 2014 menunjukkan bahwa pemberian organofosfat menurunkan frekuensi denyut jantung ikan zebra.³² Penelitian lain oleh Simoneschi, *et al* 2014 menunjukkan bahwa paparan melathion dapat menurunkan frekuensi denyut jantung pada embrio ikan zebra pada 52, 76, dan 96 hpf.³³ Penelitian oleh Nazimabashir, *et al* 2015 menunjukkan bahwa pemberian kadmium pada tikus merusak fungsi jantung yang ditandai dengan peningkatan tropinin jantung.³⁴

Efek Kadmium terhadap Luas Perikardium Embrio Ikan Zebra (*Danio rerio*) 72hpf

Pada penelitian ini, paparan kadmium dosis $1,5 \text{ ppm}$ meningkatkan luas perikardium embrio ikan zebra. Paparan kadmium $0,5 \text{ ppm}$ dan 1 ppm tidak menyebabkan perubahan luas perikardium. Perubahan luas perikardium disebabkan oleh kadar kadmium yang dipapar dan lama waktu paparan. Efek dari paparan ini diawali oleh akumulasi kadmium pada sel oosit dan sel sperma ikan zebra. Akumulasi kadmium pada oosit dan sperma akan ditransfer ke tubuh embrio saat masa fertilisasi. Akumulasi kadmium akan menggantikan peran unsur penting seperti kadmium pada saat fertilisasi. kadmium dapat

menghambat kalsium untuk dapat berikatan dengan kalmodulin dan *protein kinase C* (PKC) yang dapat menyebabkan terhambatnya regulasi sel.³³

Senyawa akan terabsorpsi melalui korion, partikel kadmium akan masuk menembus cangkang telur dan berikatan dengan reseptor sehingga menimbulkan interaksi dengan sistem kardiovaskular yang dapat bereaksi pada struktur dan fungsi sistem organ tersebut. Hal ini menyebabkan jejas sel, kemudian terjadi proses inflamasi dan pelepasan mediator yang akan meningkatkan produksi ROS (*Reactive Oxygen Spesies*) di dalam tubuh yang merupakan suatu radikal bebas yang reaktif. Adanya ekspresi gen *GATA4* dan *Nkx 2.5* yang merupakan gen penanda awal sel pra-jantung.³⁴ Kedua gen tersebut memiliki peran penting dalam pembentukan dan perkembangan organ jantung. *GATA4* merupakan gen pengatur utama perkembangan endoderm dan mesoderm pada embrio progastrula dan berperan dalam perkembangan otot jantung.³⁶

Adanya defek otot jantung disertai dengan penurunan frekuensi denyut jantung menyebabkan gangguan pompa darah dari jantung ke seluruh tubuh, sehingga terjadi akumulasi cairan dan peningkatan tekanan hidrostatik pada jantung. Peningkatan hidrostatik ini meningkatkan permeabilitas kapiler sehingga cairan akan berpindah ke ruang intersitital yang menyebabkan terjadinya perubahan luas area perikardium.³⁷ Semakin tinggi dosis kadmium yang diberikan maka semakin toksik karena semakin menjauhi *therapeutic window*.³¹

Penelitian Wu, tahun 2013 membuktikan bahwa paparan kadmium induk ikan zebra menyebabkan peningkatan luas perikardium dibandingkan kontrol. Pada penelitian tersebut dosis kadmium yang digunakan adalah 35,6 μM atau setara dengan 5,6 ppm. Pengamatan dilakukan pada embrio ikan zebra 120 *hpf* yang induknya sudah dipapar selama 72 jam. Pada penelitian tersebut juga menganalisa tentang ekspresi gennya. Berdasarkan penelitian tersebut terdapat 33 gen yang mengalami *downregulated* dan 37 gen yang mengalami *upregulated*. Gen tersebut berperan dalam diferensiasi, migrasi, dan biosintesis protein.³¹ Penelitian oleh Nazimabashir, dkk tahun 2015 menunjukkan bahwa pemberian kadmium dengan dosis 2,5 mg/KgBB selama 4minggu pada tikus merusak fungsi jantung yang ditandai dengan peningkatan troponin jantung.³⁴

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa

1. Paparan kronis kadmium dosis 0,5 ppm, 1 ppm, dan 1,5 ppm pada induk ikan zebra (F0)

menurunkan frekuensi denyut jantung embrio ikan zebra (F1).

2. Paparan kronis kadmium dosis 1,5 ppm pada induk ikan (F0) zebra mampu meningkatkan luas perikardium embrio ikan zebra (F1)

SARAN

Untuk menunjang hasil penelitian ini maka perlu penelitian lebih lanjut tentang

1. Pemeriksaan histologi perbedaan gonad pada induk jantan dan betina *D. rerio* yang dipapar kadmium 30 hari
2. Penelitian kadar MDA pada induk ikan zebra yang dipapar kadmium secara kronik

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada ikatan orangtua mahasiswa (IOM) yang telah mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Rafati RM, Rafati RM, Kazemi S, Moghadamnia AA. Cadmium toxicity and treatment: An update. *Caspian J Intern Med*. 2017 Summer;8(3):135-145.
2. ATDSR. Case Studies in Environmental Medicine. Atsdr. 2011:1–63. Tersedia pada: www.atsdr.cdc.gov/csem/cadmium/docs/cadmium.pdf.
3. Sharma H, Rawal N. dan Mathew BB. The Characteristics , Toxicity and Effects of Cadmium. *International Journal of Nanotechnology and Nanoscience*. 2015, 3:1–9.
4. Jacobo-Estrada T, Cardenas-Gonzalez M, Santoyo-Sánchez MP, Thevenod F, Barbier O. Intrauterine Exposure to Cadmium Reduces HIF-1 DNA-Binding Ability in Rat Fetal Kidneys. *Toxics*. 2018 Sep 3;6(3):53. doi: 10.3390/toxics6030053. PMID: 30177602; PMCID: PMC6161213.
5. Ou Y, Bloom MS, Nie Z, Han F, Mai J, Chen J, Lin S, Liu X, Zhuang J. Associations between toxic and essential trace elements in maternal blood and fetal congenital heart defects. *Environ Int*. 2017 Sep;106:127-134. doi: 10.1016/j.envint.2017.05.017. Epub 2017 Jun 20. PMID: 28645012.
6. Tellez-Plaza M, Guallar E, Howard BV, Umans JG, Francesconi KA, Goessler W, Silbergeld EK, Devereux RB, Navas-Acien A. Cadmium exposure and incident cardiovascular disease. *Epidemiology*. 2013 May;24(3):421-9.
7. Geng HX, Wang L. Cadmium: Toxic effects on placental and embryonic development.

- Environ Toxicol Pharmacol. 2019 Apr;67:102-107.
8. Kippler M, Tofail F, Gardner R, Rahman A, Hamadani JD, Bottai M, Vahter M. Maternal cadmium exposure during pregnancy and size at birth: a prospective cohort study. *Environ Health Perspect.* 2012 Feb;120(2):284-9.
 9. Postlethwait JH. The zebrafish genome in context: ohnologs gone missing. *J Exp Zool B Mol Dev Evol.* 2007 Sep 15;308(5):563-77.
 10. Indriana EF, Risandiansyah R, dan Aini N. Efek Paparan Kronik Cadmium Chloride (CdCl₂) Dosis Rendah Terhadap Hiperplasia Lamela Sekunder Insang Dan Nekrosis Sel Tubulus Proksimal Ginjal Ikan Zebra Dewasa (*Danio rerio*). *Jurnal Kedokteran Komunitas.* 2020. 8(1):1-9.
 11. Daniati E, Anis F, dan Aini N. Efek Teratogenik Berbagai Dosis CdCl₂ Terhadap Penurunan Luas Area Mata Dan Non-Detachment Tail Pada Embrio Ikan Zebra (*Danio rerio*). *Jurnal Kedokteran Komunitas.* 2020. 8(2):1-9.
 12. Wold M, Beckmann M, Poitra S, Espinoza A, Longie R, Mersereau E, Darland DC, Darland T. The longitudinal effects of early developmental cadmium exposure on conditioned place preference and cardiovascular physiology in zebrafish. *Aquat Toxicol.* 2017 Oct;191:73-84.
 13. Simonetti RB, Marques LS, Streit D P. Zebrafish (*Danio rerio*): The Future Of Animal Model In Biomedical Research. 2015. 9(3): 039-045
 14. Armadani A, Anisa R, Aini N. Efek Teratogenik Dekokta Daun Nimba (*Azadirachta indica* A. Juss.) Terhadap Daya Tetapan Dan Luas Area Yolk Sac Pada Embrio Ikan Zebra (*Danio rerio*). *Jurnal Kedokteran Komunitas.* 2018. 6(3):425-432
 15. Reed B. dan Jennings M. Guidance on the housing and care of Zebrafish *Danio rerio*. Research Animals Department, Science Group, RSPCA. 2011 :1-27.
 16. OECD. OECD Guidelines For The Testing Of Chemi Chemicals. 2013.
 17. Barrionuevo WR, Fernandes MN, Rocha O. Aerobic and anaerobic metabolism for the zebrafish, *Danio rerio*, reared under normoxic and hypoxic conditions and exposed to acute hypoxia during development. *Braz J Biol.* 2010 May;70(2):425-34.
 18. Hoage T, dan Xu YDX. Cardiovascular development: structure and molecular mechanism. *Anatomical science international.* 2012. 84(3):65-66.
 19. Knecht AL, Truong L, Marvel SW, Reif DM, Garcia A, Lu C, Simonich MT, Teeguarden JG, Tanguay RL. Transgenerational inheritance of neurobehavioral and physiological deficits from developmental exposure to benzo[a]pyrene in zebrafish. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2017 Aug 15;329:148-157. doi: 10.1016/j.taap.2017.05.033. Epub 2017 Jun 3. PMID: 28583304; PMCID: PMC5539966.
 20. Sun G, Liu K. Developmental toxicity and cardiac effects of butyl benzyl phthalate in zebrafish embryos. *Aquat Toxicol.* 2017 Nov;192:165-170. doi: 10.1016/j.aquatox.2017.09.020. Epub 2017 Sep 22. PMID: 28961509.
 21. Barrionuevo WR, Burggren WW. O₂ consumption and heart rate in developing zebrafish (*Danio rerio*): influence of temperature and ambient O₂. *Am J Physiol.* 1999 Feb;276(2):R505-13. doi: 10.1152/ajpregu.1999.276.2.R505. PMID: 9950931.
 22. Burnison BK, Meinelt T, Playle R, Pietrock M, Wienke A, Steinberg CE. Cadmium accumulation in zebrafish (*Danio rerio*) eggs is modulated by dissolved organic matter (DOM). *Aquat Toxicol.* 2006 Aug 23;79(2):185-91. doi: 10.1016/j.aquatox.2006.06.010. Epub 2006 Jul 18. PMID: 16854477.
 23. Jezierska B, Ługowska K, Witeska M. The effects of heavy metals on embryonic development of fish (a review). *Fish Physiol Biochem.* 2009 Nov;35(4):625-40. doi: 10.1007/s10695-008-9284-4. Epub 2008 Nov 20. PMID: 19020985.
 24. Liu CT, Chou MY, Lin CH, Wu SM. Effects of ambient cadmium with calcium on mRNA expressions of calcium uptake related transporters in zebrafish (*Danio rerio*) larvae. *Fish Physiol Biochem.* 2012 Aug;38(4):977-988. doi: 10.1007/s10695-011-9583-z. Epub 2011 Dec 17. PMID: 22179751.
 25. Liu P, Wang S, Chang Z, Li L, Xing H, Dong WF. Combined toxicity of silica nanoparticles and cadmium chloride on the cardiovascular system of zebrafish (*Danio rerio*) larvae. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.* 2021 Jan;239:108895. doi: 10.1016/j.cbpc.2020.108895. Epub 2020 Sep 15. PMID: 32942051.
 26. Genchi G, Sinicropi MS, Lauria G, Carocci A, Catalano A. The Effects of Cadmium Toxicity. *Int J Environ Res Public Health.* 2020 May 26;17(11):3782. doi: 10.3390/ijerph17113782. PMID: 32466586;

- PMCID: PMC7312803. 3782.
<https://doi.org/10.3390/ijerph17113782>
27. Chow ES, Hui MN, Lin CC, Cheng SH. Cadmium inhibits neurogenesis in zebrafish embryonic brain development. *Aquat Toxicol*. 2008 May 1;87(3):157-69. doi: 10.1016/j.aquatox.2008.01.019. Epub 2008 Feb 12. PMID: 18342959.
 28. Ayuningtyas S, Novita D, Aini N. Percepatan Penetasan Embrio Dan Perluasan Area Yolk Sac Larva *Danio rerio* Akibat Paparan Cadmium Chloride (CdCl₂). *Jurnal Kedokteran Komunitas*. 2020. 9(1):1–9.
 29. Malinda US, Widyaningrum I, Aini N. Efek Teratogenik Cadmium Chloride (CdCl₂) Terhadap Stunting dan Kelengkungan Vertebrae Larva Ikan *Danio rerio*. *Jurnal Kedokteran Komunitas*. 2020. 9(1):1–9.
 30. Acosta IB, Junior ASV, E Silva EF, Cardoso TF, Caldas JS, Jardim RD, Corcini CD. Effects of exposure to cadmium in sperm cells of zebrafish, *Danio rerio*. *Toxicol Rep*. 2016 Aug 10;3:696-700. doi: 10.1016/j.toxrep.2016.08.002. PMID: 28959594; PMCID: PMC5616012.
 31. Wu SM, Tsai PJ, Chou MY, Wang WD. Effects of maternal cadmium exposure on female reproductive functions, gamete quality, and offspring development in zebrafish (*Danio rerio*). *Arch Environ Contam Toxicol*. 2013 Oct;65(3):521-36. doi: 10.1007/s00244-013-9909-1. Epub 2013 May 4. PMID: 23644582.
 32. Watson FL, Schmidt H, Turman ZK, Hole N, Garcia H, Gregg J, Tilghman J, Fradinger EA. Organophosphate pesticides induce morphological abnormalities and decrease locomotor activity and heart rate in *Danio rerio* and *Xenopus laevis*. *Environ Toxicol Chem*. 2014 Jun;33(6):1337-45. doi: 10.1002/etc.2559. Epub 2014 Apr 22. PMID: 24677261.
 33. Simoneschi D, Simoneschi F, Todd NE. Assessment of cardiotoxicity and effects of malathion on the early development of zebrafish (*Danio rerio*) using computer vision for heart rate quantification. *Zebrafish*. 2014 Jun;11(3):275-80. doi: 10.1089/zeb.2014.0973. PMID: 24918327.
 34. Nazimabashir, Manoharan V, Miltonprabu S. Cadmium induced cardiac oxidative stress in rats and its attenuation by GSP through the activation of Nrf2 signaling pathway. *Chem Biol Interact*. 2015 Dec 5;242:179-93. doi: 10.1016/j.cbi.2015.10.005. Epub 2015 Oct 14. PMID: 26462792.
 35. Chedrese PJ, Piasek M, dan Henson MC. 2006. Cadmium as an endocrine disruptor in the reproductive system. *Immunology, Endocrine and Metabolic Agents in Medicinal Chemistry*. 6(1): 27–35.
 36. Yilbas AE, Hamilton A, Wang Y, Mach H, Lacroix N, Davis DR, Chen J, Li Q. Activation of GATA4 gene expression at the early stage of cardiac specification. *Front Chem*. 2014 Mar 14;2:12. doi: 10.3389/fchem.2014.00012. PMID: 24790981; PMCID: PMC3982529.
 37. Olsson IM, Bensryd I, Lundh T, Ottosson H, Skerfving S, Oskarsson A. Cadmium in blood and urine--impact of sex, age, dietary intake, iron status, and former smoking--association of renal effects. *Environ Health Perspect*. 2002 Dec;110(12):1185-90. doi: 10.1289/ehp.021101185. PMID: 12460796; PMCID: PMC1241104.