

Penggunaan SEM EDX Untuk Gambaran Ultrastruktural Kerusakan Jaringan Pada Insang Ikan Nila Akibat Logam Berat Cadmium

**Hanisya Putri Kania Mardika^{1*}, Joni Johanda Putra¹, Lilik Setyaningsih¹, Kuni Safingah², Ratna Juita Sari³,
Amir Yarkhasy Yuliardi³, Fajar Adiyanto², dan Novia Nurul Afiah²**

¹Prodi Akuakultur, Universitas Jenderal Soedirman,
Purwokerto, Jawa Tengah, Indonesia

² Prodi Manajemen Sumberdaya Perairan, Universitas Jenderal Soedirman,
Purwokerto, Jawa Tengah, Indonesia

³ Prodi Ilmu Kelautan, Universitas Jenderal Soedirman,
Purwokerto, Jawa Tengah, Indonesia

*E-mail: hanisya.mardika@unsoed.ac.id (corresponding author)

Abstrak

Ikan merupakan salah satu hewan air yang dapat digunakan sebagai uji toksikologi perairan karena biota air ini hanya bisa hidup dalam ruang lingkup terbatas. Organ dalam ikan biasanya yang pertama kali mudah dideteksi yaitu organ insang karena sebagai sistem respirasi. Metode penelitian menggunakan Scanning Electron Microscope dengan akurasi data Energy Dispersive X-ray pada organ insang untuk menganalisis kondisi jaringan insang ikan nila maupun kerusakan berdasarkan komposisi kimia yang terdeteksi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa adanya ketidakteraturan struktur insang pada jaringan tulang rawan serta terdeteksi beberapa logam berat pada SEM EDX insang yaitu 0,71% logam Cd.

Kata kunci: *Scanning electron microscope*, EDX, Logam berat

1. Pendahuluan

Kontaminasi lingkungan merupakan pencemaran perairan yang biasa disebabkan oleh logam berat. Logam berat di alam sudah tersedia tetapi bisa menjadi toksik apabila manusia melakukan eksploitasi suatu daerah yaitu pertambangan, aktivitas industri dan kegiatan domestik lainnya. Logam berat seperti merkuri, kadmium, dan timbal diketahui bersifat toksik dan dapat terakumulasi dalam organisme akuatik, termasuk ikan nila (*Oreochromis niloticus*), yang sering menjadi sumber pangan bagi manusia. Populasi global ikan air tawar telah menurun sebesar 76% sejak tahun 1970. Hal ini dikarenakan adanya peningkatan kegiatan pembangunan industri dan pertanian yang menyebabkan meningkatnya polusi, khususnya logam berat yang mana berdampak signifikan terhadap invertebrata dan ikan salah satunya organ insang [1]. Selain itu indikasi resiko kesehatan manusia juga didapatkan Ketika mengkonsumsi ikan yang terkontaminasi logam berat. Konsumsi ikan yang mengandung logam menunjukkan tingkat risiko karsinogenik yang bisa diterima [2].

Insang sebagai organ respirasi utama pada ikan, sangat rentan terhadap paparan logam berat, yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan serius dan mengganggu fungsi fisiologis ikan. Insang dianggap sebagai organ multifungsi yang bertanggung jawab untuk pertukaran gas, pengaturan ion, keseimbangan hidromineral serta asam-basa. Selain itu, insang ikan mewakili organ pertama yang bertahan dengan zat toksik dan dianggap sebagai target utama untuk penyerapan nanopartikel yang terbawa air [3]. Telah diketahui dengan baik bahwa perubahan pada insang ikan adalah salah satu respons paling signifikan terhadap polusi lingkungan Menurut penelitian Fonseca et al. (2016) menemukan adanya kandungan logam berat timbal di atas ambang batas yang diperbolehkan. Pada ikan mujair yang terkena cemaran logam timbal mengalami perubahan histopatologi hiperplasia dan fusi pada insang, degenerasi, nekrosis pada organ insang dan hati [4]. Meskipun telah banyak penelitian yang mengeksplorasi dampak logam berat pada organisme akuatik, kajian yang mendetail tentang kerusakan ultrastruktural pada insang ikan nila masih terbatas.

Teknologi Scanning Electron Microscope (SEM) dan Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (EDX) menawarkan pendekatan yang canggih untuk mengamati kerusakan jaringan pada tingkat mikroskopis dan menentukan komposisi

elemen yang terlibat dalam kerusakan tersebut. Melalui pendekatan ini, peneliti dapat mengidentifikasi perubahan morfologi insang yang disebabkan oleh paparan logam berat, memberikan wawasan lebih dalam mengenai mekanisme kerusakan yang terjadi. Penelitian ini bertujuan untuk memanfaatkan SEM EDX dalam memetakan dan menganalisis kerusakan ultrastruktural pada insang ikan nila akibat kontaminasi logam berat [5], yang diharapkan dapat berkontribusi pada pemahaman lebih lanjut tentang dampak lingkungan dari pencemaran ini serta strategi mitigasi yang efektif.

2. Metodologi

penelitian yang digunakan dijelaskan secara singkat. Metode baru atau metode yang dimodifikasi tersebut harap dijelaskan secara rinci. Setiap persamaan ditulis rata tengah kolom dan diberi nomor urutan persamaan yang ditulis dalam kurung dan ditempatkan pada akhir margin kanan. Persamaan harus ditulis menggunakan Equation Editor dalam Ms. Word. Berikut contoh format penulisan persamaan [1].

Materi dalam penelitian menggunakan biota ikan nila yang diambil dari instalasi Budidaya Air Tawar Pandaan, Jawa timur. Ikan nila tersebut dimasukkan dalam keramba dan dipaparkan air sungai di Perairan Sungai Wangi selama 1 bulan penuh kemudian diambil organ insang nya untuk diteliti.

2.1 Pembedahan Ikan dan Pengawetan Organ (Fiksasi organ)

Tahap pembedahan menggunakan sectio set dan organ insang diletakkan dalam botol film plastik. Setelah pembedahan dilakukan pengawetan organ insang dan hati dengan menggunakan formalin 10%. Organ insang dan hati dalam kondisi tenggelam di larutan formalin 10% supaya awet menyeluruh. Sampel yang sudah diberi formalin tersebut tahan 2x24 jam dan harus segera dibuat preparat.

2.2. Uji Logam berat

Sampel organ insang diuji kadar logam berat Cadmium dengan menggunakan metode AAS (Atomic Absorption Spectrophotometer).

2.3 Preparasi jaringan

Preparat untuk uji sem (Scanning electron microscope) adalah organ ikan yang telah dipreparasi. Menurut penelitian Jasim et al. (2016), organ dicuci dengan NaCl 0,9% serta difiksasi dengan 8% glutaradehyde dalam 0,1 M phosphate buffer pH 7,4. Kemudian difiksasi dengan larutan buffered 1-2% osmium tetroxide untuk meningkatkan densitas elektron. Setelah didehidrasi dalam etanol, spesimen dilapisi dengan emas dan dimasukkan dalam vacuum evaporator. Setelah preparasi tersebut, organ insang dapat dianalisis dengan Scanning Electron Microscope. Mikroskop SEM menggunakan SEM EDX merk FEI tipe Inspect-S50 di Lab mineral dan material FMIPA sentral Universitas Negeri Malang.

2.4 Analisis SEM EDX

Metode ini memungkinkan penggambaran struktur permukaan jaringan diperjelas secara 3 dimensi serta memudahkan analisis apakah kerusakan jaringan ditimbulkan dari logam berat dan berapa persen logam berat yang terkandung pada sampel jaringan hati dan insang. Metode EDX ini memungkinkan analisis logam yang terkandung dalam sampel. Hasil dari EDX berupa grafik dan tabel berisi unsur yang terkandung dalam sampel. Menurut Aldoghachi menyebutkan bahwa persentase berat logam merkuri (Hg), timbal (Pb) dan kadmium (Cd) yang terkandung dalam sampel sayatan insang dan hati dideteksi dengan EDX (Energy Dispersive X-ray) [6]. Tabel dan grafik SEM EDX dijelaskan secara deskriptif dengan literatur pembandingan terdahulu.

2.5 Analisis Parameter Lingkungan

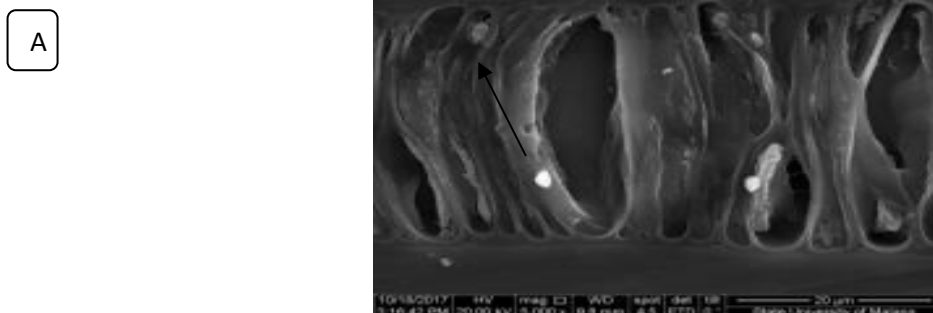
Parameter lingkungan yang diukur adalah suhu dan DO. Pengukuran suhu menggunakan thermometer berdasarkan SNI 06-6989.23-2005 yaitu dengan cara thermometer dicelupkan pada air dan dibiarkan 2-5menit sampai thermometer

menunjukkan nilai stabil. kemudian dicatat skala suhu thermometer tanpa diangkat dahulu. Pada pengukuran DO menggunakan DO meter.

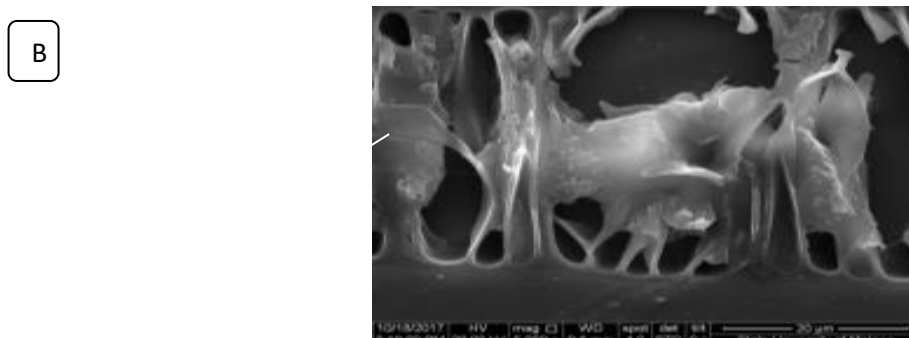
3. Hasil dan pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan parameter lingkungan suhu 27,8 - 29,57 °C dan DO oksigen terlarut berkisar 7,46 – 7,55 mg/L. Hal ini disebabkan oleh lokasi penelitian merupakan perairan sungai yang mengalir sehingga oksigen terlarut masih dalam ambang batas aman. Suhu perairan Sungai Wangi sekitar 29,6-30,4°C sedangkan kadar DO tertinggi 5,95 mg/L [7]. Hal ini menunjukkan bahwa perairan sungai wangi menunjukkan fluktuasi yang signifikan sehingga perairan ini rentan banyaknya terpapar aktivitas manusia [7].

Pada analisis mikrostruktural ditemukan adanya ketidakaturan struktur kartilago insang ikan nila yang dipaparkan di Perairan Sungai Wangi. Hal ini juga menunjukkan adanya masukan bahan buangan logam berat yang terdeteksi pada hasil EDX pada insang yaitu sebesar 0,71% pada elemen Cd walaupun hanya sedikit. Hasil ini menunjukkan bahwa insang ikan yang dianalisis mengalami kerusakan yang signifikan akibat paparan logam berat, khususnya kadmium. Tidak adanya merkuri mengurangi risiko dari logam berat tersebut, tetapi kadmium masih menjadi ancaman utama bagi kesehatan ikan. Penelitian Aldoghachi, menemukan bahwa ikan nila yang diuji SEM EDX terdeteksi nilai Cd 16,38% dan Mg 9.32% sedangkan kontrol menunjukkan tidak terdeteksinya Hg, Pb dan Cd [6].



Gambar 1.(A) Struktur kartilago insang ikan nila . Arah panah menunjukkan adanya struktur kartilago yang teratur atau normal dengan bentuk bulat oval. Perbesaran 5000x



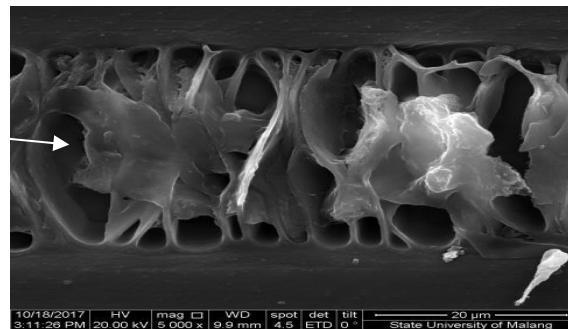
Gambar 2. (B) Bentuk kartilago insang yang tidak sempurna. Arah panah menunjukkan adanya perubahan bentuk inti kartilago. Perbesaran 5000x.

Gambar tersebut menunjukkan kerusakan ultrastruktural pada filamen insang ikan. Jaringan insang tampak mengalami kerusakan, dengan beberapa area menunjukkan kerusakan integritas seluler. Hal ini bisa mengindikasikan bahwa insang telah mengalami stres atau cedera, kemungkinan besar akibat paparan logam berat [8].

Paparan merkuri dapat menyebabkan berbagai jenis kerusakan histologis pada insang ikan sapu-sapu, seperti edema, pelepasan epitel dari jaringan di bawahnya, hiperplasia, penyatuan lamela sekunder, dan atrofi lamela sekunder [9]. Jaringan insang tampaknya kehilangan kohesi struktural normalnya, dan terdapat celah atau ruang yang terlihat dalam jaringan tersebut. Kerusakan semacam ini dapat mengganggu kemampuan insang untuk berfungsi dengan baik, sehingga

efisiensi pertukaran oksigen menurun. Perubahan kartilago terlihat pada bentuk kartilago yang tidak beraturan karena menunjukkan bahwa kartilago merupakan suatu struktur yang kompak yang memanjang dari basal sampai dengan ujung lamella [10]. Pada lamella primer terdapat tulang rawan yang dibungkus oleh perikondrium, central venous sinus dan sel klorida (chloride cell). Terlihat juga tidak ada batas tegas yang terlihat karena kerusakan cartilaginous plates [11].

C



Gambar 3. (C) Bentuk kartilago yang tidak teratur. Arah panah menunjukkan cartilaginous plates rusak ditandai dengan tidak ada batas yang tegas diantara reticular fiber yang lain serta adanya sekresi mucus atau lendir. Perbesaran SEM(Scanning Electrone Microscope) 5000x.

Adanya degradasi bentuk pada insang ikan nila juga menandakan adanya gangguan fungsi insang akibat logam berat. Gambar SEM juga mengungkapkan adanya bahan atau partikel asing yang tertanam dalam jaringan insang, yang kemungkinan adalah deposit logam berat. Partikel-partikel ini kemungkinan menjadi penyebab kerusakan jaringan yang diamati. Kehadiran logam berat dapat menyebabkan stres oksidatif [12], yang mengakibatkan kerusakan pada struktur seluler insang. Hal ini tercermin dalam disintegrasi dan ketidakaturan yang terlihat pada gambar SEM. Kerusakan yang diamati mungkin termasuk nekrosis (kematian sel), yang dapat terjadi akibat paparan berkepanjangan terhadap zat-zat beracun seperti logam berat. Masuknya logam berat ke dalam rantai makanan melalui intake pada perairan [13], bukan hanya pada ikan saja tetapi mampu menyebabkan permasalahan kesehatan seperti diare dan keluhan kulit pada manusia yang mengkonsumsi [14]. Pada ikan *Heteropneustes fossilis* yang dipaparkan Nanopartikel NiO NPs ditemukan adanya perubahan insang seperti fusi dan curling of lamellae. Struktur microridge mengalami kerusakan pada insang ikan tersebut ditandai dengan hilangnya garis garis pada microridge [3]. Pada gambar C juga menunjukkan adanya sekresi mucus yang berlebih dari insang. Ikan yang terpapar Aluminium sulfat 100 mg/L muncul sekresi lendir pada insang [15]. Hal ini menunjukkan bahwa insang menanggapi stressor tersebut untuk menghalangi stressor masuk ke dalam insang dengan menghasilkan lendir berlebih.

4. Kesimpulan

Pada SEM EDX insang terdeteksi 0,71% logam Cd dengan ditemukannya kerusakan pada kartilago insang serta sekresi mucus yang abnormal. Hal ini menjadi notifikasi bagi pemerintah setempat untuk memperhatikan kebijakan dalam menanggulangi bahaya polutan limbah industri bagi lingkungan perairan serta biota yang ada di dalam Perairan Sungai Wangi Pasuruan.

Edukasi masyarakat tentang bahaya logam berat, pengurangan penggunaan produk berbahaya, serta penguatan regulasi dan pengawasan pemerintah juga menjadi langkah penting. Untuk mendukung upaya ini, penelitian lanjutan perlu difokuskan pada pemulihan jaringan yang terpapar logam berat, termasuk penggunaan antioksidan dan senyawa terapeutik, serta studi efek jangka panjang seperti perubahan epigenetik. Selain itu, diperlukan pengembangan teknologi deteksi dan mitigasi, termasuk material inovatif untuk menyerap logam berat dan alternatif material yang lebih aman. Pendekatan ini diharapkan mampu menekan dampak polusi logam berat dan mempercepat pemulihan lingkungan dan kesehatan masyarakat.

Daftar Pustaka

- [1] B. Collen *et al.*, 'Global patterns of freshwater species diversity, threat and endemism', *Global Ecology and Biogeography*, vol. 23, no. 1, pp. 40–51, 2014, doi: 10.1111/geb.12096.
- [2] A. M. Younis, S. Hanafy, E. M. Elkady, A. H. Alluhayb, and F. M. Alminderej, 'Assessment of health risks associated with heavy metal contamination in selected fish and crustacean species from Tamsah Lake, Suez Canal', *Scientific Reports*, vol. 14, no. 1, pp. 1–16, 2024, doi: 10.1038/s41598-024-69561-7.
- [3] A. R. Samim, V. K. Singh, and H. Vaseem, 'Assessment of hazardous impact of nickel oxide nanoparticles on biochemical and histological parameters of gills and liver tissues of *Heteropneustes fossilis*', *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, vol. 74, no. May, 2022, doi: 10.1016/j.jtemb.2022.127059.
- [4] A. R. Fonseca, L. F. Sanches Fernandes, A. Fontainhas-Fernandes, S. M. Monteiro, and F. A. L. Pacheco, 'From catchment to fish: Impact of anthropogenic pressures on gill histopathology', *Science of the Total Environment*, vol. 550, pp. 972–986, 2016, doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.01.199.
- [5] O. S. Brraich and M. Kaur, 'Ultrastructural changes in the gills of a cyprinid fish, *Labeo rohita* (Hamilton, 1822) through scanning electron microscopy after exposure to Lead Nitrate (Teleostei: Cyprinidae)', *Iranian Journal of Ichthyology*, vol. 2, no. 4, pp. 270–279, 2015.
- [6] M. A. Aldoghachi, M. S. Azirun, I. Yusoff, and M. A. Ashraf, 'Ultrastructural effects on gill tissues induced in red tilapia *Oreochromis sp.* by a waterborne lead exposure', *Saudi Journal of Biological Sciences*, vol. 23, no. 5, pp. 634–641, 2016, doi: 10.1016/j.sjbs.2015.08.004.
- [7] M. M. Ulumudin and T. Purnomo, 'Analisis Kandungan Logam Berat Timbal (Pb) pada Tumbuhan Papyrus (*Cyperus papyrus* L.) di Sungai Wangi Pasuruan', *LenteraBio : Berkala Ilmiah Biologi*, vol. 11, no. 2, pp. 273–283, 2022, doi: 10.26740/lenterabio.v11n2.p273-283.
- [8] F. J. A. Elya Putri Pane, Diana Arfiati, 'Review: Respon Fisiologis Ikan terhadap Lingkungan Hidupnya Review', *Jurnal Aquatik*, vol. 6, no. 2, pp. 71–83, 2023, doi: 10.15797/concom.2019..23.009.
- [9] S. Anikha Idzni, D. Wulandari Rousdy, J. Biologi, and F. Mipa, 'Kerusakan Histologi Insang Ikan Sapu-sapu (*Pterygoplichthys pardalis*) setelah Paparan Merkuri ($HgCl_2$)', *A Scientific Journal*, vol. 37, no. 3, pp. 156–162, 2020, doi: 10.20884/1.mib.2020.37.3.1137.
- [10] M. R. Natalia, 'Pengaruh Plumbum (Pb) Terhadap Struktur Insang Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.)', 2007.
- [11] E. R. Sedrisa Lidya Pertiwi, Zainuddin, 'GAMBARAN HISTOLOGI SISTEM RESPIRASI IKAN GABUS (*Channa striata*) Histological', vol. 1, no. 3, pp. 291–298, 2017.
- [12] S. Chowdhury and S. K. Saikia, 'Oxidative Stress in Fish: A Review', *Journal of Scientific Research*, vol. 12, no. 1, pp. 145–160, 2020, doi: 10.3329/jsr.v12i1.41716.
- [13] L. Septya and R. Y. Pauzi, 'Potensi dan Ancaman Kesehatan Masyarakat Kalimantan dari Bioakumulasi Logam Berat pada Ikan Sungai. Review', *Journal of Biotropical Research and Nature Technology*, vol. 2, no. 2, pp. 93–102, 2024.
- [14] S. Indirawati, 'Pencemaran Logam Berat Pb dan Cd dan keluhan kesehatan pada masyarakat di kawasan Pesisir Belawan', *Jurnal Jumentik*, vol. 2, no. 2, pp. 54–60, 2017.
- [15] N. I. Fadzil, M. Y. Shukor, M. K. Sabullah, H. M. Daud, A. Zulkharnain, and S. A. Ahmad, 'Effects of aluminium on *Clarias gariepinus* physiology, gills histology and cholinesterase in vivo and in vitro', *International Journal of Agriculture and Biology*, vol. 22, no. 1, pp. 91–101, 2019, doi: 10.17957/IJAB/15.1037.