

Patologi Keracunan Logam Berat pada Hewan Coba sebagai Hewan Model untuk Keracunan pada Ternak

(Pathology of Heavy Metals Toxicity in Experimental Animal as Model Animals for Poisoning in Livestock)

Rida Tiffarent¹, DD Sugiartanti², S Wahyuwardani³ dan RZ Ahmad³

¹Pusat Riset Zoologi Terapan, Jl. Jakarta-Bogor KM 46, Bogor, Jawa Barat 16911. Indonesia

²Balai Besar Penelitian Veteriner, Jl R.E. Martadinata No.30, Bogor, Jawa Barat 16114. Indonesia

³Pusat Riset Veteriner, BRIN, Jl R.E. Martadinata No.30, Bogor Jawa Barat 16114. Indonesia
Kontributor utama: rida003@brin.go.id

(Diterima 4 Juni 2022 – Direvisi 19 Agustus 2022 – Disetujui 5 September 2022)

ABSTRACT

Pollution is a global problem that can cause health problems in organisms. Heavy metal pollutants from the environment can enter the body systems of animals and humans through the food chain. Several cases of severe poisoning in animals have been reported, especially in grazing animals around landfills and show pathological findings. This article aims to describe the gross pathological and histopathological abnormalities of heavy metal poisoning Arsenic (As), Cadmium (Cd), Copper (Cu), Mercury (Hg), Manganese (Mn) and Lead (Pb) which are focused in laboratory animals and chickens as animal models of poisoning in livestock as animal consumption. In general, the organs that are heavily affected by heavy metals are the liver, kidneys, testes, and ovaries. This article is expected to increase the knowledge of readers and practitioners in the examination differential diagnosis for the possibility of heavy metal poisoning which can be acute or chronic.

Key words: Pathological lesions, heavy metals, toxicity, prevention

ABSTRAK

Polusi merupakan masalah global yang dapat menimbulkan masalah kesehatan pada makhluk hidup. Polutan logam berat dari lingkungan dapat memasuki sistem tubuh hewan dan manusia melalui rantai makanan. Beberapa kasus keracunan logam berat pada hewan konsumsi telah dilaporkan terutama pada hewan-hewan yang digembalakan di sekitar Tempat Pembuangan Akhir (TPA) sampah dan menunjukkan beberapa temuan patologi. Artikel ini bertujuan untuk memaparkan patologi anatomi dan histopatologi akibat keracunan logam berat Arsenik (As), Cadmium (Cd), Tembaga (Cu), Merkuri (Hg), Mangan (Mn) dan Timbal (Pb) yang difokuskan pada hewan laboratorium dan ayam sebagai hewan model keracunan pada ternak konsumsi. Secara umum, organ yang banyak terdampak akibat logam berat adalah hati, ginjal, testis, dan ovarium. Artikel ini diharapkan dapat menambah referensi pembaca dan praktisi dalam diagnosis banding pemeriksaan patologi atas kemungkinan keracunan logam berat karena sifat keracunan yang dapat terjadi secara akut maupun kronis.

Kata kunci: Lesi patologi, logam berat, keracunan, pencegahan

PENDAHULUAN

Polusi pada lingkungan merupakan masalah global yang menimbulkan risiko serius baik pada manusia maupun pada hewan secara umum. Faktor utama penyebab polusi lingkungan ini adalah perkembangan teknologi modern, industrialisasi, pertumbuhan populasi yang cepat dan intensifikasi pertanian (Kaplan et al. 2011; He et al. 2015). Polutan yang berada di lingkungan dapat mengkontaminasi rantai makanan, hewan konsumsi, dan manusia (Kaplan et al. 2011). Pada kasus hewan konsumsi, penyebab utama toksisitas asal lingkungan dikarenakan oleh

paparan pestisida, zat-zat kimia asal agraris, dan kontaminasi logam berat (Rajaganapa et al. 2011).

Logam berat terbagi ke dalam kelompok logam yang dibutuhkan oleh tubuh dalam jumlah tertentu untuk proses metabolisme dan kelompok logam lainnya yang tidak dibutuhkan oleh tubuh (Ahmad 2018). Logam berat yang tidak dibutuhkan tubuh biasanya termasuk ke dalam polutan dan memiliki pengaruh yang signifikan terhadap ekologi (Ahmad et al. 2013). Logam berat polutan yang mencemari lingkungan dapat memasuki sistem rantai makanan melalui tanah, air dan udara. Proses ini diawali dengan terjadinya kontaminasi produk makanan nabati dan kemudian dikonsumsi baik oleh hewan ataupun manusia. Logam

berat polutan yang dikonsumsi dapat membahayakan kesehatan hewan dan manusia (Ahmad et al. 2013; He et al. 2015). Jumlah logam berat polutan yang terakumulasi secara berlebihan dalam tubuh hewan dan manusia akan mengakibatkan kelainan patologis organ yang berdampak pada terganggunya kesehatan dan bahkan dapat menyebabkan kematian (Ahmad 2018).

Artikel ini akan membahas mengenai perubahan-perubahan patologi yang terjadi akibat toksikasi beberapa jenis logam berat. Hasil penelitian yang dijadikan acuan akan difokuskan pada hewan laboratorium (tikus, mencit, marmut) dan ayam. Hewan laboratorium dan ayam dipilih karena hewan-hewan tersebut dapat menjadi hewan model yang representatif untuk menggambarkan kelainan yang mungkin terjadi pada sistem tubuh mamalia dan unggas. Kedua kelompok hewan tersebut biasanya menjadi hewan konsumsi yang jika terkontaminasi logam berat dapat berpotensi menjadi jalan masuk toksikasi logam berat ke dalam rantai dan membahayakan kesehatan manusia. Hasil dari keseluruhan studi yang telah dikumpulkan akan dicari persamaan dari masing-masing studi untuk menjawab kemungkinan adanya kelainan spesifik dari organ tertentu yang sangat terdampak oleh logam berat atau kemungkinan adanya patognomonis toksikasi logam berat.

Penggolongan patologi yang berkaitan dengan keracunan logam berat tertentu menjadi hal yang menarik untuk dikaji lebih lanjut karena dapat memperluas wawasan diagnosis pembandingan penyebab terjadinya kelainan organ yang teridentifikasi saat nekropsis pada hewan. Jika ditemukan kelainan khas pada kasus toksikasi pada hewan yang berkelompok, toksikasi tersebut dapat segera teridentifikasi dan penanganan keracunan pada hewan yang lain masih dapat dilakukan secara cepat. Tujuan penulisan review ini adalah untuk menyajikan data patologi pada hewan model yang mengalami keracunan logam berat. Artikel ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai temuan patologi pada kasus keracunan logam berat yang terjadi pada hewan model sehingga menambah referensi komparasi keracunan logam berat pada ternak seperti sapi, kambing, domba, kerbau, kuda, babi dan ayam.

KERACUNAN ARSEN (As)

Keracunan As secara akut maupun kronis disebut sebagai arsenikosis. Arsen merupakan logam berat kedua yang sering dilaporkan dalam kasus keracunan pada ternak. Di lingkungan As ditemukan dalam dua bentuk yaitu anorganik dan organik. Anorganik dalam bentuk pestisida yang sering menjadi sumber keracunan As pada sapi, selain itu juga dalam bentuk herbisida yang termakan oleh sapi. Keracunan arsen pada sapi berakibat fatal karena menyebabkan iritasi

pada gastrointestinal, *hemorrhagic diarrhea* dan *depressed*. Biasanya gejala muncul setelah 24 – 36 jam setelah arsen anorganik termakan (Rumbeiha & Snider 2014).

Organic phenylarsonic arsenicals tidak terlalu toksik pada mamalia dibandingkan arsen anorganik. *Phenylarsonic* biasanya digunakan untuk bahan campuran pakan babi dan ayam untuk meningkatkan berat badan dan kontrol penyakit. Bahan campuran pakan tersebut biasanya mengandung *arsenilic acid*, *3-nitroarsenilic acid*, dan *4-nitroarsenilic acid*. Arsen organik dalam bentuk trivalen lebih toksik dari pada pentavalen. *Phenylarsonic* menyerang sistem saraf yang dapat menyebabkan demielinasi *peripheral nerve fibers*, *ataxia* dan *paralysis hindquarter*. Keracunan pada babi terjadi jika pakan mengandung 1000 ppm organik arsen dan diberikan selama 3-10 hari atau 250 ppm selama 20-40 hari (Rumbeiha and Snider 2014).

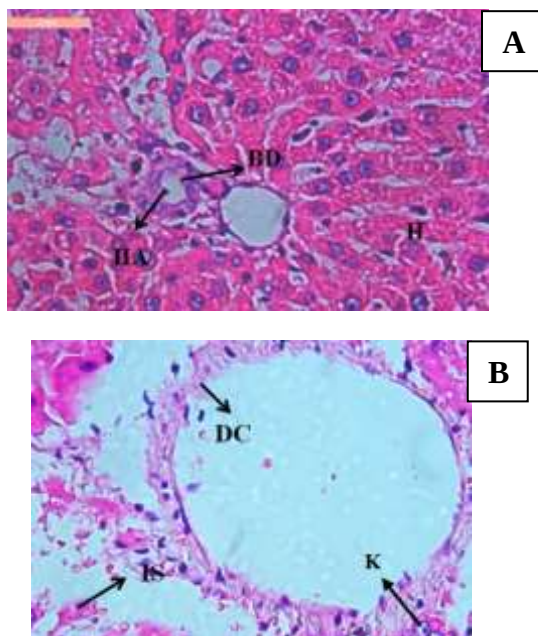
Logam As bersifat sangat karsinogenik dan bisa menyebabkan kanker paru-paru, hati, kandung kemih dan kulit. Tingkat paparan arsen yang lebih rendah dapat menyebabkan mual dan muntah, produksi eritrosit dan leukosit menurun, denyut jantung abnormal, sensasi menusuk-nusuk pada tangan dan kaki, dan kerusakan pembuluh darah. Paparan As jangka panjang dalam konsentrasi rendah dapat mengakibatkan terbentuknya lesi kulit, melanosis, hiperkeratosis, kanker organ internal, masalah neurologis, penyakit paru, penyakit vaskular bagian perifer, hipertensi dan penyakit kardiovaskular, diabetes mellitus, *hepatocellular carcinoma*, sirosis, fibrosis hati, dan kerusakan sel parenkim (Ahmed et al. 2013; He et al. 2014).

Logam As dapat menghambat enzim-enzim selular (seperti *pyruvate dehydrogenase*) dengan mengikat *sulfhydryl*. Penghambatan ini dapat menurunkan: penyerapan glukosa ke dalam sel, oksidasi asam lemak, *gluconeogenesis*, produksi asetil koenzim A, dan penurunan pembentukan antioksidan *glutathione*. Rendahnya bioavailabilitas *glutathione* dapat menyebabkan toksisitas (Hughes et al. 2011). Selain itu, toksisitas As juga terjadi akibat pembentukan senyawa reaktif seperti ROS, nitrogen reaktif, H_2O_2 , OH radikal, dan peroksil radikal (Shi et al. 2004; Hughes et al. 2011). Pembentukan senyawa-senyawa reaktif ini dapat menghambat perbaikan DNA, genotoksitas, proliferasi sel, dan transduksi sinyal (Hughes et al. 2011).

Logam As dapat menyebabkan kanker melalui mekanisme perubahan epigenetik dan induksi perubahan genetik (Hubaux et al. 2013). Epigenetik adalah regulasi *reversible* ekspresi gen (Bustaffa et al. 2014) dan perubahan epigenetik dapat berupa modifikasi histon, DNA metilasi, dan regulasi mikro RNA (Wang et al. 2011; He et al. 2013). Perubahan

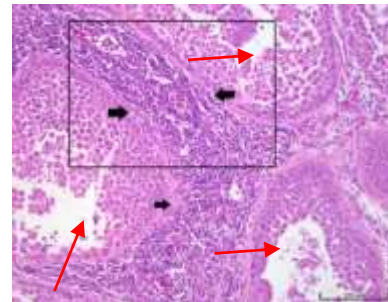
epigenetik berdampak pada perubahan gen sehingga ekspresi gen berubah dan menginduksi terjadinya kanker (Reichard & Puga 2010).

Kasus toksikasi logam As pada mencit albino swiss jantan yang diberi natrium arsenit pada 10 mg/kg bobot badan secara oral selama 8 minggu menunjukkan perubahan pada ginjal berupa degenerasi lemak pada tubulus dan kongesti. Kerusakan juga ditemukan pada arteri toraks, namun tidak ditemukan infiltrasi sel radang. Kerusakan lain ditemukan pada organ hati berupa nekrosis sel hepatik serta pada organ otak berupa edema (Noman et al. 2015). Studi lain dari Gora et al. (2014) yang melakukan pemberian arsen (sodium arsenit 10 mg/kg, selama 28 hari secara oral) pada tikus Wistar menyebabkan perubahan struktur organ hati berupa degenerasi vakuola, inflamasi, nekrosis sel hepatik yang ditandai dengan inti piknosis dan vakuolisasi sitoplasma. Perubahan organ hati pada tikus Wistar jantan akibat toksisitas arsen dilaporkan juga pada studi Garla et al. (2021). Perubahan yang terlihat berupa infiltrasi sel-sel radang di sekitar *hepatoportal triad*, kerusakan sel-sel hepatosit, perluasan sinusoid karena sel hepatosit yang nekrosis, kerusakan pada vena sentral, vakuolisasi sitoplasma dan karyorrhexis (Gambar 1B).



Gambar 1. Perbandingan histologi hati tikus Wistar: (A) Normal, tidak ada kelainan pada duktus empedu (BD), arteri hepatik (HA) dan sel hepatosit (H); (B) Hati yang mengalami dilatasi vena sentral (DC), perluasan sinusoid (IS), dan sel hepatosit yang mengalami karyorrhexis (K). Pewarnaan H&E, perbesaran 400X (Garla et al. 2021).

Gambaran histopatologi testis ayam diberi arsenik pada minggu ke 12 menunjukkan infiltrasi limfosit secara masif, sel-sel spermatogenik (spermatogonium, spermatosit primer, spermatosit sekunder, spermatid) pada tubulus seminiferus mengalami vakuolisasi dan degenerasi Gambar 2 (Shao et al. 2018).



Gambar 2. Histopatologi testis ayam yang diberi Arsen (arsenik trioksida) 30 mg/kgBB per oral selama 12 minggu, menunjukkan infiltrasi limfosit secara masif (panah hitam tebal) dan degenerasi sel-sel spermatogenik (panah merah). Pewarnaan H&E, perbesaran 200x (Shao et al. 2018).

KERACUNAN CADMIUM (Cd)

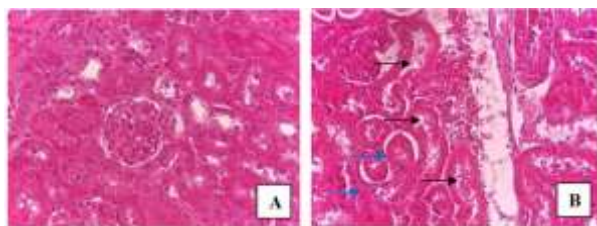
Logam Cd merupakan logam yang terkenal sebagai polutan paling toksik dan sangat berbahaya pada makhluk hidup karena dapat bersifat toksik meskipun dalam konsentrasi yang rendah akibat tingkat eksresinya yang rendah di dalam tubuh (Nawrot et al. 2010; Pretto et al. 2014). Akumulasi Cd pada tubuh manusia dan tikus Wistar dapat mengakibatkan kerusakan dan malfungsi pada organ pencernaan, hati ginjal, jaringan saraf, tulang maupun paru-paru (Bernard 2008; Tsutsumi et al. 2014). Kerusakan organ tersebut disebabkan beberapa mekanisme yang saling berkaitan satu sama lainnya seperti terjadinya perubahan ekspresi gen, penghambatan mekanisme DNA *repair* yang rusak, interferensi proses apoptosis dan autofagi, stress oksidatif dan perubahan interaksi bioelemen (Đukić-Ćosić et al. 2020).

Hati menjadi organ pertama tempat berakumulasinya Cd. Hal ini menyebabkan sel-sel hati rentan terhadap toksisitas selular yang berujung pada perubahan morfologi dan biokimiawi hati. Paparan Cd terhadap sel-sel hepatosit akan meningkatkan ekspresi sejumlah *stress protein* yang mengaktivasi ROS (*reactive oxygen species*), peroksidasi lipid, kerusakan DNA, dan *protein carbonylation* sehingga menyebabkan terjadinya proses apoptosis. Terjadinya proses apoptosis berakibat pada kerusakan-kerusakan selular yang akan menurunkan fungsi hati (Rashid et al. 2013; Shao et al. 2014).

Organ pencernaan dapat teriritasi dan mengakibatkan muntah dan diare jika tertelan Cd

dengan dosis cukup tinggi. Logam Cd dapat menyebabkan mineralisasi tulang baik melalui kerusakan tulang atau disfungsi ginjal. Studi pada manusia dan hewan menunjukkan bahwa osteoporosis pada otot kerangka yang merupakan efek kritis dari paparan Cd serta gangguan metabolisme kalsium, pembentukan batu ginjal dan hiperkalsiuria. Terhirup Cd dengan kadar yang cukup tinggi dapat menyebabkan kerusakan parah pada paru-paru. Waktu paparan yang sangat lama dengan konsentrasi rendah, menyebabkan pengendapan di ginjal dan akhirnya menyebabkan penyakit ginjal, serta kerusakan tulang dan paru-paru yang rapuh (Bernard 2008).

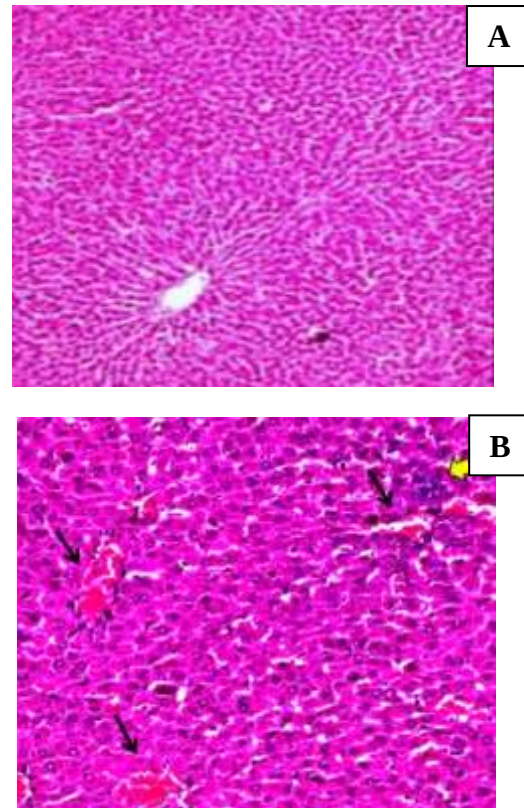
Kerusakan organ yang ditimbulkan oleh Cd teramati pada tikus yang diinduksi Cd dengan dosis toksik yaitu 200 mg/l pada air minum. Kerusakan secara histopatologis pada jaringan organ dengan pewarnaan HE dan Masson Trichrome pada ginjal dan jantung menunjukkan : atrofi glomerulus, fokal nekrosis pada ginjal, dan fibrosis jantung yang mulai teramati pada umur 4 minggu pasca induksi hingga 8 minggu masa pengamatan (Saleh and Awadin 2017). Dardouri et al. (2016) juga melaporkan pada tikus yang diberi kadmium chlorida 100 mg/l. ditemukan kerusakan organ hati berupa degenerasi lemak dan apoptosis sel hati dan kerusakan ginjal berupa atrofi glomerulus, dilatasi kapsula Bowman serta degenerasi sel tubulus dengan inti piknotik (Gambar 3B). Kerusakan hati juga dilaporkan pada studi Seif et al. (2019) yang menunjukkan kelainan pada histologi tikus Sparague-Dawley betina yang diberikan CdCl_2 (3.5 mg/kgBB) selama 30 hari. Kelainan hati yang terlihat adalah kongesti parah pada vena sentralis, hemoragi, dan infiltrasi sel-sel radang (Gambar 4B)



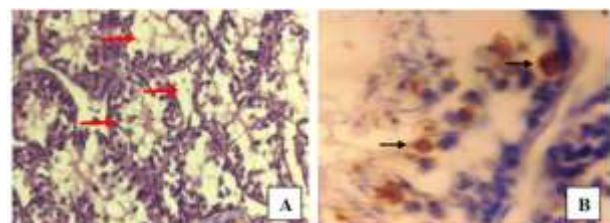
Gambar 3. Ginjal tikus: (A) Tanpa perlakuan. Histologi tampak normal. (B) Ginjal tikus dengan perlakuan pemberian 100 mg/L cadmium khlorida dalam air minum menunjukkan nekrosis tubulus dan dilatasi tubulus (panah hitam) dan melebarnya glomerulus (panah biru). Pewarnaan H&E, perbesaran 400x (Dardouri et al. 2016).

Toksistas Cd pada unggas berpengaruh terhadap keberhasilan proses reproduksi, tingkah laku, respon imun, dan proses biokimiawi. Perubahan histologi hati unggas yang mengalami toksisitas Cd adalah peradangan, infiltrasi sel-sel leukosit, perubahan retrogresif dan gangguan sirkulasi (Shao et al. 2014). Studi menunjukkan bahwa ayam yang diberikan pakan

mengandung Cd ditemukan kelainan endokrin dan lesi histopatologi berupa apoptosis sel-sel testis (Gambar 5), penghambatan viabilitas limfosit limpa, induksi stres oksidatif, kerusakan DNA, dan apoptosis (Jin-Long Li et al. 2010; Li et al. 2010).



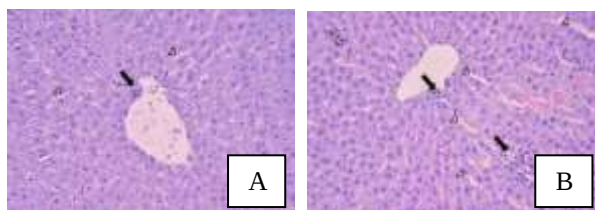
Gambar 4. Perbandingan histologi hati tikus Sparague-Dawley betina : (A) tanpa perlakuan dengan sinusoid, hepatosit, vena sentralis terlihat normal. (B) Hati tikus dengan perlakuan pemberian CdCl_2 menunjukkan hemoragi di antara sel-sel hepatosit (panah hitam), infiltrasi sel-sel radang multifokal di sekitar area perdarahan (panah kuning). Pewarnaan H&E, perbesaran 200x (Seif et al. 2019).



Gambar 5. Tubulus seminiferous ayam mengalami edema, degenerasi, kerusakan spermatogenesis (panah merah) (A) panah hitam menunjukkan sel-sel apoptosis di tubulus seminiferous (B). Pewarnaan H&E, perbesaran 400x (Li et al. 2010).

KERACUNAN TEMBAGA (Cu)

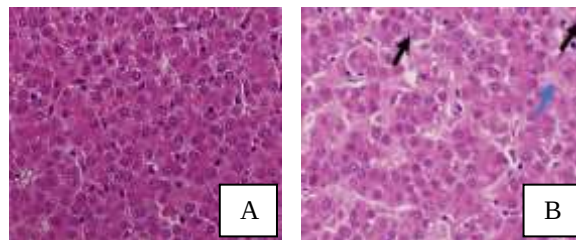
Tembaga (Cu) dibutuhkan oleh manusia, hewan dan unggas untuk metabolisme lipid, karbohidrat, protein, dan menjaga homeostasis (Badis 2014). Logam Cu menjadi elemen yang esensial karena dibutuhkan untuk keberlangsungan fungsi fisiologis tubuh normal seperti pembentukan hemoglobin, metabolisme obat, metabolisme karbohidrat, biosintesis katekolamin, dan mekanisme pertahanan antioksidan (Kim et al. 2016). Logam Cu dijadikan suplemen pada pakan ayam dalam berbagai bentuk seperti Cu-klorida, Cu-oksida, Cu-sitrat, Cu-sulfat. Penambahan Cu pada pakan ayam ditujukan untuk pemacu pertumbuhan, stimulan imun, dan agen antibakterial. Walaupun Cu memiliki peranan esensial dalam proses metabolisme makhluk hidup, pemberian Cu yang berlebihan dapat menimbulkan efek yang berbahaya karena dapat menyebabkan kerusakan sel dan DNA (Badis 2014). Ion-ion Cu seperti Cu^{2+} dan Cu^+ dapat membentuk *reactive oxygen species* (ROS). Ion Cu^{2+} dapat direduksi menjadi Cu^+ yang dapat mengkatalisis dekomposisi H_2O_2 sehingga terbentuk $\text{OH}^\cdot$. Ion $\text{OH}^\cdot$ merupakan radikal oksigen yang dapat bereaksi dengan biomolekul lainnya seperti DNA sehingga menyebabkan pemecahan untai DNA. Selain itu, Cu juga dapat menginduksi oksidasi *low density lipoprotein* (LDL) pada studi *in vitro* (Engwa et al. 2019). Logam Cu yang melebihi batas toleran secara biologis dapat menyebabkan hemolisis, gangguan gastrointestinal, kerusakan ginjal, dan kerusakan hati (Galhardi et al. 2004).



Gambar 6. Tikus jantan (A) dan betina (B) yang diberi Cu ions, *copper (II) chloride* 625 mg/kg perlakuan mengalami: Hati infiltrasi sel-sel radang (tanda panah hitam), vakuolisasi (tanda panah tidak berwarna), dilatasi sinusoid (kepala tanda panah tidak berwarna). Pewarnaan H&E, perbesaran 100x (Kim et al. 2016).

Studi *in vivo* pada tikus Sprague-Dawley usia 8 minggu yang diberi ion Cu yang berasal dari Copper (II) chloride 625 mg/kgBB selama 4 minggu menunjukkan lesi histopatologi pada hati. Histopatologi hati dengan pewarnaan H&E menunjukkan infiltrasi sel radang derajat ringan sampai sedang, dan dilatasi sinusoid yang dapat dilihat pada Gambar 6 (Kim et al. 2016). Zhou et al. (2020) melakukan studi pemberian suplemen Cu-Lys-Glu (*Cuprum-Lysine-Glutamic Acid*) sebanyak 300 mg

Cu/kg selama 10 minggu pada ayam petelur usia 18 minggu. Hasil studi menunjukkan bahwa terdapat lesi histopatologi hati berupa nekrosis, degenerasi, dan kongesti ringan (Gambar 7).



Gambar 7. Histologi hati ayam petelur: A. Kelompok kontrol, histologi hati normal; B. Kelompok yang diberi 300 mg Cu/kg. sel-sel hepatosit mengalami degenerasi vakuolar, nekrosis (panah hitam), kongesti ringan, lobus hepatik yang tidak jelas batasnya (panah biru). Pewarnaan H&E, perbesaran 400x (Zhou et al. 2020).

KERACUNAN MERKURI (Hg)

Logam Hg merupakan jenis logam berat yang berbahaya, karena paparan merkuri dengan dosis tinggi pada tubuh hewan maupun manusia dapat menyebabkan kerusakan berbagai organ tubuh dan organ otak atau syaraf. Merkuri dapat masuk ke dalam sistem biologis tubuh melalui ingesti dan inhalasi makanan, air, dan udara yang terkontaminasi Hg (Carocci et al. 2014). Uap Hg bisa menyebabkan bronkitis, asma dan masalah pernafasan yang tidak permanen. Organ saraf sangat sensitif terhadap segala bentuk Hg dan dapat menyebabkan sejumlah abnormalitas neurologis dan neuropati periferik pada manusia dan hewan coba (HK Hussein et al. 2011). Paparan merkuri dengan dosis yang tinggi dapat menyebabkan kerusakan yang permanen pada otak, ginjal, dan fetus yang sedang tumbuh di dalam uterus. Oleh karena itu, paparan Hg dapat menyebabkan retardasi mental, *cerebral palsy*, kebutaan, ketulian, penurunan daya ingat, dan *dysarthria* (Martin and Griswold 2009; Golding et al. 2013; Boucher et al. 2014). Paparan Hg dalam waktu singkat dengan dosis tinggi, dalam bentuk gas dapat menyebabkan kerusakan paru-paru, mual dan muntah, diareha, peningkatan tekanan darah dan denyut jantung, kulit kemerahan dan iritasi mata (Martin and Griswold 2009).

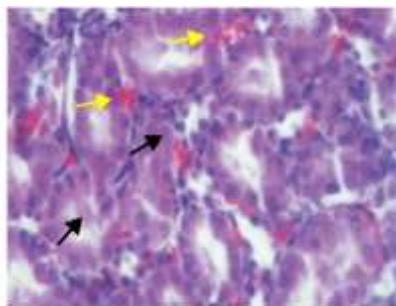
Logam Hg memiliki sifat elektrofilik yang dapat berinteraksi dengan biomolekul nukleofil yang mirip protein seperti sulfhydryl ($-\text{SH}$) atau selenohydryl ($-\text{SeH}$). Reaksi ini akan membentuk kompleks Hg yang stabil dan menimbulkan toksisitas (Farina et al. 2009). Berkurangnya sulfhydryl karena terikat pada Hg menyebabkan generasi ROS (Wu et al. 2016). ROS akan menyebabkan kerusakan enzim, asam nukleat,

dan lipid sehingga terjadi kematian sel. Toksisitas Hg juga menyebabkan kerusakan mitokondria yang berdampak pada meningkatnya jumlah radikal bebas di dalam tubuh (Farina et al. 2009).

Paparan Hg pada hewan dapat menyebabkan kerusakan pada organ hati maupun otak. Tikus jantan yang diberi Merkuri 20 ppm per oral selama 8 minggu, mengalami kerusakan pada organ hati di daerah vena sentralis, berupa degenerasi dan nekrosis sel hepatosit (Wadaan 2009). Pemberian Hg sebanyak 25 mg/l secara oral selama 10 minggu pada tikus dapat menyebabkan hipertrofi sel-sel hepatosit, vakuolisasi plasma sel, kongesti, dilatasi sinusoid dan peningkatan inti piknotik (Dardouri et al. 2016). Kelainan hati akibat pemberian 1 mg HgCl_2 secara subkutan 3 kali per minggu pada tikus albino jantan berupa degenerasi hidropis parah pada sel hepatosit yang ditandai dengan sitoplasma yang digantikan dengan cairan bening dan inti piknotik sel hepatosit (Gambar 8A). Selain itu, hati mengalami nekrosis multifokal dan infiltrasi sel-sel inflamasi ringan di area portal (Gambar 8B) (Elghani et al. 2020).



Gambar 8. Hati tikus albino yang diberikan HgCl_2 : (A) Panah hitam menunjukkan degenerasi hidropis parah sel-sel hepatosit yang ditandai dengan hilangnya sitoplasma dan digantikan dengan cairan bening, inti sel hepatosit mengalami piknotik. (B) nekrosis multifokal (panah hitam) dan infiltrasi ringan sel-sel inflamasi di sekitar area portal pada area A. Pewarnaan H&E, perbesaran 200x (Elghani et al. 2020).

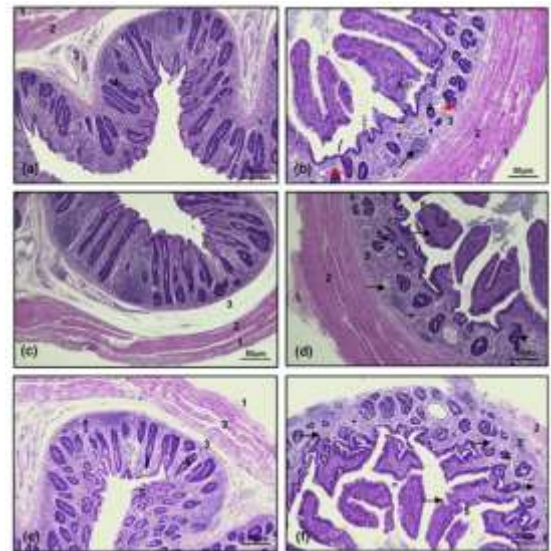


Gambar 9. Ginjal tikus yang mengalami haemoragi (panah kuning) dan akumulasi *protein cast* (panah hitam). Pewarnaan H&E, perbesaran 400x (Sheikh et al. 2013).

Sheikh et al. (2013) menyatakan bahwa histopatologi yang ditemukan pada parenkim ginjal

berupa fokus-fokus inflamasi dengan perdarahan, nekrosis, infiltrasi sel mononuklear, degenerasi inti, penyempitan lumen yang berisi protein *cast* terjadi di lumen tubulus convoltus setelah pemberian HgCl_2 dosis 2, 4, and 8 mg/kgBB pada tikus Wistar secara oral selama 28 hari (Gambar 9). Kerusakan berupa demielinisasi serabut saraf perifer otak, jumlah limfosit pada limpa menurun secara drastis, menurunnya konsentrasi sperma yang matang pada testis, dan terlepasnya vili-vili usus.

Paparan Hg pada ayam dapat menurunkan produksi telur, menyebabkan kerusakan histopatologi pada hati dan ginjal ayam petelur (Ma et al. 2018a), meningkatkan kejadian *follicular atresia* (Ma et al. 2018b). Pengaruh pemberian HgCl_2 (250 ppm) melalui air minum pada sekum ayam diperiksa pada hari ke 30, 60 dan 90 setelah pemberian HgCl_2 . Berat badan pada ayam yang diberikan HgCl_2 lebih rendah dibandingkan dengan grup kontrol yang tidak diberi HgCl_2 dan menunjukkan perbedaan yang nyata pada hari ke 60 dan ke 90. Mukosa sekum memiliki villi yang lebih sedikit dibandingkan dengan usus halus.



Gambar 10. Pengaruh pemberian HgCl_2 pada histologi sekum ayam. pada waktu pemeriksaan (a) Grup Kontrol hari ke 30, (b) Grup pemberian Hg hari ke 30, (c) Grup Kontrol hari ke 60, (d) Grup pemberian Hg hari ke 60, (e) Grup Kontrol hari ke 90 and (f) Grup pemberian Hg hari ke 90. Setiap angka pada gambar menunjukkan lapisan pada sekum 1: *inner muscularis*, 2: *outer muscularis*, 3: *submucosa*, 4: *stratum propria*, dan 5: villi usus dan *central lacteal*. Pewarnaan H&E, perbesaran 200x (Zhou et al. 2020).

Sekum grup yang diberi HgCl_2 pada hari ke 30 menunjukkan inflamasi (panah hitam Gambar 10b) dan infiltrasi pada *stratum propria* sehingga tampak berupa

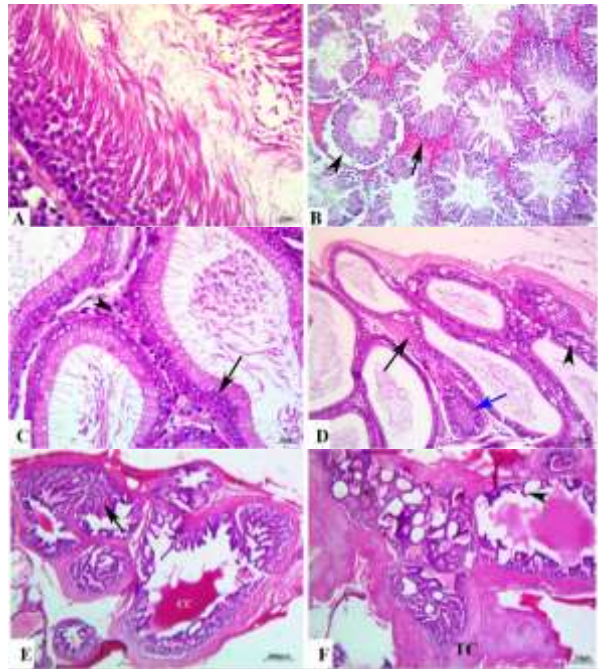
vakuolisasi pada bagian bawah *stratum propria* sekum (panah merah Gambar 10b). Pada kelompok yang diberi HgCl_2 hari ke 60 ditemukan degenerasi dan nekrosis sel enterosit dan vakuolisasi sel sekum (Gambar 10d, panah hitam). Pada grup pemberian HgCl_2 hari ke 90 menunjukkan peradangan sekum, infiltrasi *stratum propria* dan ruptur membrane sel dari sel-sel sekum (Gambar 10f, panah hitam) (Zhou et al. 2020).

KERACUNAN MANGAN (Mn)

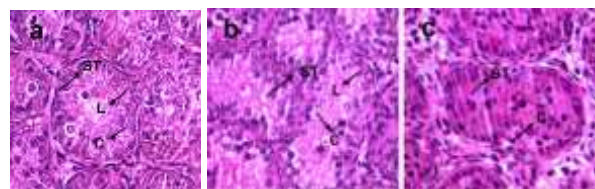
Paparan Mn dapat menyebabkan kerusakan jaringan serta kerusakan fungsi dan struktur organ. Dalam jumlah yang mikro Mn dibutuhkan dalam metabolisme manusia dan hewan. Akan tetapi penggunaan Mn yang luas dalam industri dan pertanian meningkatkan potensi pencemaran Mn di lingkungan seperti pada studi yang menunjukkan bahwa konsentrasi Mn pada daun pohon di daerah urban lebih tinggi secara signifikan dibandingkan dengan daun yang berada di area perkotaan di Vienna, Austria (Simon et al. 2011). Paparan Mn dalam jangka waktu yang lama dapat menyebabkan kerusakan pada sistem saraf, hati, dan sistem reproduksi. Tingginya kadar Mn dalam tubuh dapat berpotensi untuk meningkatnya *reactive oxygen species* (ROS) dan dapat mengganggu metabolisme besi sehingga menimbulkan efek sitotoksik di dalam tubuh. Efek toksik yang disebabkan oleh Mn dapat berupa neurotoksisitas, gangguan perkembangan reproduksi, gangguan hepatic, dan gangguan sistem imunitas tubuh (Mohammed et al. 2018).

Pemberian MnCl_2 sebanyak 50 mg/kgBB secara oral selama 30 hari pada tikus jantan menyebabkan peningkatan abnormalitas sperma, penurunan *gonadosomatic index* (GSI), penurunan motilitas sperma dan jumlah sperma. Selain itu, MnCl_2 menyebabkan penurunan tingkat testosteron dan *luteinizing hormone* (LH) pada serum dan penurunan aktivitas enzim antioksidan testikular. Secara histologi MnCl_2 menurunkan diameter tubulus seminiferus, penurunan ketinggian germinal epitelium, penurunan jumlah spermatogonia, spermatosit, spermatid, dan sel Leydig (Mohammed et al. 2018) (Gambar 11).

Logam Mn menyebabkan kerusakan oksidatif pada testis ayam. Gambar 12a menunjukkan histopatologi testis grup kontrol dan tidak ditemukan kelainan. Pemberian 1800 mg/kg Mn selama 30 hari menyebabkan penipisan dinding tubulus seminiferus dan pembesaran lumen (Gambar 12b). Pemberian 1800 mg/kg Mn selama 60 hari menyebabkan tubulus seminiferus deformasi, dinding tidak jelas, dan sel-sel germinal tersebar di lumen (Gambar 12c) (Du et al. 2015).



Gambar 11. Histologi testis tikus. (A) Grup kontrol. spermatogonia (Sg), *primary spermatocytes* (PS), spermatids (Sd), dan *basal lamina*. (B) Grup MnCl_2 *Interstitial cell edema* (panah hitam), *desquamosa* (kepala panah) dan *focally detached germinal epithelium*. (C) Grup kontrol. *Lining epithelium* (panah hitam) dan jaringan *interstitial* (kepala panah). (D) Grup MnCl_2 . Proliferasi jaringan *interstitial* (panah hitam), vakuolisasi (kepala panah) dan degenerasi (panah biru). (E) Grup kontrol. Lipatan mukosa (panah hitam) dan central cavity (CC). (F) Grup MnCl_2 . *Thickened capsule* (TC) dan degenerasi (kepala panah). Pewarnaan H&E, skala 200 μm (Mohammed et al. 2018).



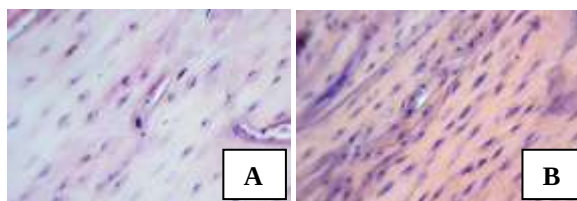
Gambar 12. Testis ayam. (A) kelompok kontrol, histologi normal. (B) perlakuan pemberian Mn 1800 mg/kg hari ke 30 terjadi penipisan dinding tubulus seminiferus dan pembesaran lumen. (C) perlakuan pemberian Mn 1800 mg/kg hari ke 60 tubulus seminiferus deformasi, dinding tidak jelas, dan sel-sel germinal tersebar di lumen. Pewarnaan H&E, perbesaran 400x (Du et al. 2015).

KERACUNAN TIMBAL (Pb)

Paparan Pb yang berlebihan dapat menyebabkan kerusakan serius pada otak, ginjal, sistem saraf dan sel-sel darah merah. Individu muda dan fetus lebih rentan terhadap paparan Pb dibandingkan individu dewasa (Hussein et al. 2011). Logam Pb dapat diserap melalui beberapa rute seperti pernapasan, kulit, dan mulut. Setelah teringesti Pb dapat masuk ke peredaran darah dan terakumulasi pada jaringan lunak dan tulang. Logam Pb juga dapat melewati plasenta sehingga menyebabkan efek teratogenik dan retardasi mental pada embrio (Rafiei et al. 2018). Logam Pb dapat mengganggu aktivasi enzim, menghambat absorpsi mikro mineral, menghentikan sintesis struktur protein dengan mengikat protein sulfhidril, dan menurunkan kadar antioksidan sulfhidril (Patrick 2006).

Pada Sapi bali keracunan Pb dapat menyebabkan deplesi sel-sel limfoid, proliferasi sel limfoid (Putra et al. 2018a). Kerusakan akibat Pb dalam sistem biologi disebabkan oleh 2 mekanisme yaitu 1) generasi langsung *reactive oxygen species* (ROS) seperti O_2 , H_2O_2 , dan hidropersida; serta 2) deplesi antioksidan di dalam sel. Logam Pb dapat meningkatkan enzim *delta-aminolevulinic acid dehydratase* yang berakibat pada peningkatan pembentukan ROS. ROS akan mengoksidasi nitrit oksida di sel-sel endotel vaskular menjadi peroksinitrit yang sangat reaktif. Proses oksidasi ini akan berdampak pada kerusakan DNA dan lipid (Wu et al. 2016). Kerusakan DNA ini dapat berimbas pada timbulnya kanker / karsinogenik. Logam Pb juga memiliki kemampuan untuk berikatan dengan protein yang berada pada eritrosit, sehingga Pb dapat terdistribusi ke dalam tulang dan ke dalam berbagai jaringan di dalam tubuh. Pb di dalam tubuh hewan disimpan paling banyak di dalam tulang (Hambach et al. 2013).

Tikus yang diberi perlakuan dengan Pb dalam jangka waktu lama berpotensi menyebabkan efek toksik pada sel hati dan susunan selnya sebagai manifestasi berkurangnya kadar glikogen dalam sitoplasma yang menyebabkan vakuolisasi dan inti yang piknotik sebagai tanda nekrosis seluler serta terbentuknya peripotal fibrosis yang menandakan terjadinya sirosis hati (Hegazy & Fouad 2014). Selain itu, studi Rafiei et al. (2018) menyatakan bahwa pemberian 100 ppm Pb asetat II secara oral selama 2 bulan pada tikus Wistar jantan menyebabkan penurunan mineralisasi dan densitas tulang, serta penurunan densitas relatif osteoblast pada tulang femur (Gambar 13).

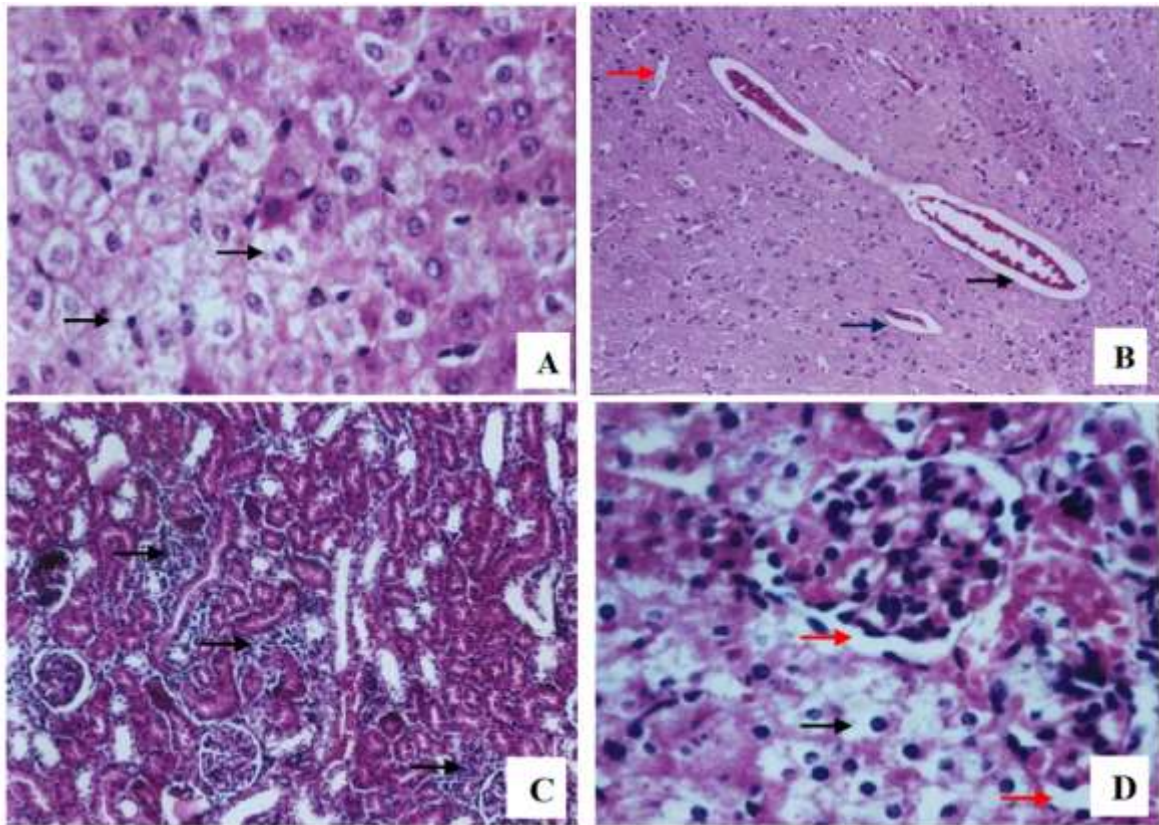


Gambar 13. Perbandingan densitas *osteoblast* tulang femur tikus Wistar : (A) kelompok yang diberi 100 ppm Pb asetat II secara oral selama 2 bulan (B) kelompok kontrol. Pewarnaan H&E, perbesaran 400x (Rafiei et al. 2018).

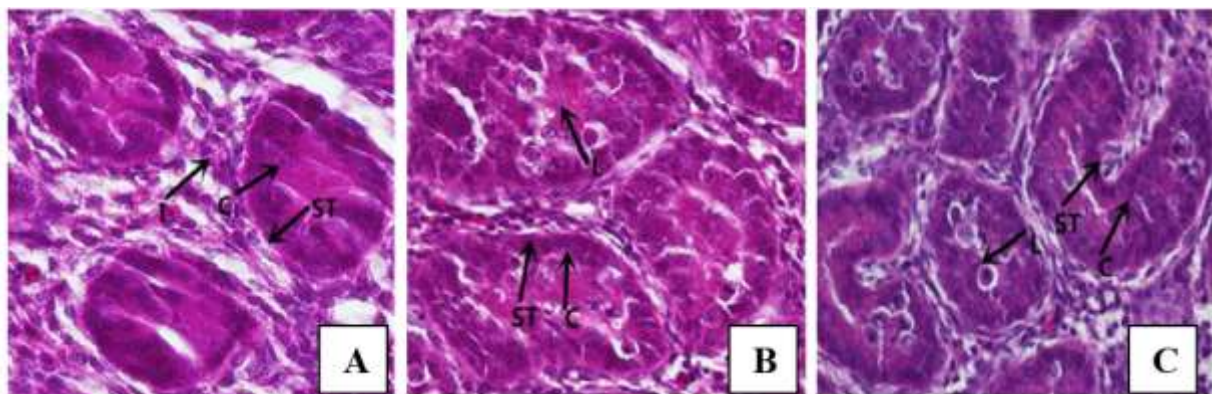
Marmut yang diberi Pb-asetat per oral dengan dosis 5,5 mg/kgBB, tiga kali per minggu selama 9 minggu, mengalami dilatasi vena sentralis dan sinusoid serta proliferasi sel *kupffer*. Perubahan parah ditemukan pada organ hati berupa fokal nekrosis sel hepatosit (Gambar 14A). Infiltrasi sel mononuklear leukosit dan sel-sel inflamasi dan *hyperplasia ductus empedu* ditemukan di daerah portal. Perubahan juga ditemukan pada jaringan otak marmut pada minggu ketiga pemberian Pb-asetat yaitu: degenerasi pada sel neuron, hiperemi jaringan ventrikel, hiperemia parah pada pembuluh darah kapiler, serta odema perivaskular dan periselular pada cerebrum (Gambar 14B) (Randa et al. 2012).

Pemeriksaan histopatologis terhadap organ ginjal marmut yang diberikan Pb-asetat per oral, tiga kali per minggu selama 9 minggu, menunjukkan infiltrasi sel-sel inflamasi seperti sel mononuklear, sel leukosit yang ditemukan di antara tubulus dan glomerulus pada minggu ke 9 (Gambar 14C), yang menyebabkan pembengkakan lapisan sel endotel glomerulus. Selain itu juga ditemukan hiperemi dan degenerasi hingga nekrosis pada lapisan sel epitel tubulus ginjal (14D) (Randa et al. 2012).

Pada ayam yang diberikan perlakuan diberikan air minum yang mengandung Pb-asetat (350 mg/L Pb) menunjukkan kelainan histopatologi pada hari ke 30 perlakuan berupa kenaikan jarak intersisial *tubulus seminiferous* (I), *tubulus seminiferous* (ST) menjadi menyusut (Gambar 15A). Pada hari ke 60 perlakuan *tubulus seminiferous* (ST) terdistorsi, sel-sel *germinal* (C) menyebar di lumen dan bentuknya tidak teratur (Gambar 15B). pada hari ke 90 perlakuan *tubulus seminiferous* terdistorsi parah, sel-sel *germinal* berbentuk tidak beraturan, dan ada infiltrasi sel-sel radang yang jumlahnya semakin meningkat seiring dengan semakin lamanya pemberian Pb (Gambar 15C) (Wang et al. 2017).



Gambar 14. Hispatologi pada organ marmut : (A) nekrosis sel-sel hepatosit (panah hitam). Pewarnaan H&E, perbesaran 1600x (B) *Perivascular edema* (panah biru), *pericellular edema* (panah merah), edema pembuluh darah vena di *cerebrum* marmut (panah hitam). Pewarnaan H&E, perbesaran 400x. (C) Infiltrasi sel-sel inflamasi mononuklear fokal di antara tubulus dan gromerulus (panah hitam). Pewarnaan H&E, perbesaran 400x (D) Degenerasi dan nekrosis sel-sel epitel tubulus (panah hitam), serta perluasan ruang Bowman's (panah merah). Pewarnaan H&E, perbesaran 1600x (Randa et al. 2012)



Gambar 15. Lesi histopatologi testis pada ayam yang diberikan Pb pada (A) hari ke 30. (B) hari ke 60 (C) hari ke 90. Jarak intersisial *tubulus seminiferous* (I), *tubulus seminiferous* (ST), sel-sel *germinal* (C). Pewarnaan H&E, perbesaran 400x. (Wang et al. 2017).

Tabel 1. Rekapitulasi temuan patologi anatomi dan histopatologi pada keracunan logam berat

Hewan	Patologi anatomi	Histopatologi	Sumber literatur
Arsenik (As)			
Sapi	Iritasi gastrointestinal, <i>Hemorrhagic diarrhea</i> , depresi		Rumbeiha & Snider 2014
Mencit Swiss albino		Ginjal: Degenerasi lemak tubulus dan kongesti Hati: nekrosis sel <i>hepatic</i> Otak: edema	Noman et al. 2015
Tikus Wistar		Hati: degenerasi vakuola, inflamasi, nekrosis sel <i>hepatic</i> Hati: infiltrasi sel-sel radang di sekitar <i>hepatoportal triad</i> , kerusakan sel-sel hepatosit, perluasan sinusoid karena sel hepatosit yang nekrosis, kerusakan pada <i>vena central, vacuolated cytoplasm</i> dan <i>karyorrhexis</i>	Gora et al. 2014 Garla et al. 2021
Ayam		Testis: infiltrasi limfosit, vakuolisasi dan degenerasi sel-sel spermatogenik	Shao et al. 2018
Babi	Demielinisasi <i>peripheral nerve fiber</i> , <i>ataxia</i> dan <i>paralysis hindquarter</i>		Rumbeiha & Snider 2014
Cadmium (Cd)			
Tikus		Ginjal: atropi glomerulus, fokal nekrosis Jantung: fibrosis	Saleh & Awadin 2017
Tikus		Hati: degenerasi lemak, apoptosis Ginjal: atropi glomerulus, dilatasi kapsula Bowman, degenerasi sel tubulus	Dardouri et al. 2016
Ayam		Testis: apoptosis sel Limpa: apoptosis, penghambatan viabilitas limfosit	Jin-Long Li et al. 2010; Li et al. 2010
Sapi Bali		Limpa: deplesi dan proliferasi Paru-paru: kongesti dan infiltrasi sel radang bersifat fokal-multifokal	Apsari et al. 2020
Tembaga (Cu)			
Tikus Sprague-Dawley		Hati: Infiltrasi sel radang, dilatasi sinusoid	Kim et al. 2016
Ayam Petelur		Hati: nekrosis, degenerasi, kongesti	Zhou et al. 2020
Merkuri (Hg)			
Tikus		Hati: degenerasi, nekrosis sel hepatosit	Wadaan 2009
Tikus		Hati: hipertrofi sel-sel hepatosit, vakuolisasi plasma sel, kongesti, dilatasi sinusoid, peningkatan inti piknotik	Dardouri et al. 2016
Tikus Wistar		Ginjal: haemoragi, nekrosis, infiltrasi sel mononuklear, degenerasi inti, protein <i>vast</i> di lumen <i>tubulus convoltus</i>	Sheikh et al. 2013
Ayam		Ovary: <i>follicular atresia</i>	Ma, Zhu, et al. 2018
Ayam	Berat badan rendah	Sekum: vili lebih sedikit, inflamasi, nekrosis enterosit, vakuolisasi sel, sel membran pecah	Zhou et al. 2020

Lanjutan Tabel 1. Rekapitulasi temuan patologi anatomi dan histopatologi pada keracunan logam berat

Hewan	Patologi anatomi	Histopatologi	Sumber literatur
Mangan (Mn)			
Tikus		Testis: abnormalitas sperma, penurunan motilitas dan jumlah sperma, turunnya diameter tubulus seminiferus, penurunan ketinggian germinal epitelium, penurunan jumlah spermatogonia, spermatosit, spermatid, sel Leydig	Mohammed et al. 2018
Ayam		Testis: penipisan dinding tubulus <i>seminiferous</i> , pembesaran lumen, deformasi <i>tubulus seminiferous</i> , sel-sel <i>germinal</i> tersebar di lumen	Du et al. 2015
Timbal (Pb)			
Tikus		Hati: nekrosis selular, <i>periportal fibrosis</i>	Hegazy & Fouad 2014
Tikus Wistar		Tulang femur: penurunan mineralisasi, densitas tulang, densitas relatif <i>osteoblast</i>	Rafiei et al. 2018
Marmut		Hati: dilatasi vena sentralis dan sinusoid, proliferasi sel kuppfer, fokal nekrosis, infiltrasi sel mononuclear leukosit, <i>hyperplasia ductus</i> empedu Otak: degenerasi sel neuron, hiperemi jaringan ventrikel, hiperemia pembuluh darah kapiler, edema perivascular dan periselular cerebrum Ginjal: infiltrasi sel mononuclear leukosit, infiltrasi sel radang pada tubulus dan glomerulus, pembengkakan lapisan sel endotel glomerulus, hiperemi dan nekrosis sel epitel tubulus ginjal	Randa et al. 2012
Ayam		Testis: kenaikan jarak intersisial <i>tubulus seminiferous</i> (I), <i>tubulus seminiferous</i> (ST) menjadi menyusut, distorsi tubulus seminiferus, sel-sel germinal menyebar di lumen dan bentuk tidak teratur, distorsi tubulus seminiferus, infiltrasi sel radang	Wang et al. 2017
Sapi Bali		Ginjal: infiltrasi sel radang, degenerasi melemak dan nekrosis, pembengkakan pada glomerulus disertai infiltrasi sel radang pada kapsula Bowman, infiltrasi sel radang glomerulus, nekrosis tubulus sehingga terjadi penipisan epitel tubulus	Janardani et al. 2018

KASUS DAN PENCEGAHAN KERACUNAN LOGAM BERAT DI INDONESIA

Metode yang dapat digunakan untuk mendeteksi logam berat pada organ hewan yang mati karena keracunan logam berat adalah *Atomic Absorption Spectrophotometric* (AAS) dan *Neutron Activation Analysis* (NAA). Pencegahan terjadinya logam berat pada hewan terutama ternak dapat dilakukan dengan cara (Russel 1979; Bahri 2014):

- Karantina hewan yang berasal dari daerah yang diketahui tercemar logam berat
- Tidak membuka peternakan, kawasan pemeliharaan hewan, dan penggembalaan di sekitar daerah pertambangan, industri, dan tempat pembuangan akhir sampah (TPA)

- Pembuatan TPA khusus sampah organik agar dapat dimanfaatkan sebagai tempat penggembalaan ternak
- Pencegahan pencemaran air sungai dan danau oleh logam berat asal pabrik atau sampah industri
- Pengembangan pabrik pembuat pakan hewan untuk mencegah terjadinya keracunan yang berasal dari rumput untuk ruminansia
- Pengendalian dan pengawasan kualitas produk hewani untuk mencegah masuknya kontaminasi logam berat ke dalam rantai makanan.

Studi Suyanto et al. (2010) mencantumkan temuan kandungan logam berat dari daging sapi yang berasal dari sapi yang dipelihara di sekitar TPA. Kandungan logam berat daging sapi yang digembalakan di TPA Mojosoongo Surakarta dilaporkan telah melebihi

ambang batas kandungan logam Zn dan Cd Standar berdasarkan SK Ditjen POM No. 03725/B/SK/VII/89. Laporan mengenai ditemukannya kandungan logam berat dari sapi yang dipelihara di sekitar TPA juga dituliskan dalam studi Nangkiawa *et al.* (2015). Studi tersebut melaporkan temuan kandungan logam berat cadmium melalui pengujian AAS di dalam darah 12 ekor sapi potong yang digembalakan di area tempat pembuangan akhir sampah (TPA) Kecamatan Alak, Kota Kupang, Nusa Tenggara Timur. Hal tersebut mengindikasikan bahwa sapi potong tersebut tidak aman dikonsumsi. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan No. HK.00.06.1.52.4011 dan SNI 7387:2009 menyatakan bahwa batas cemaran logam berat cadmium pada daging olahan dan produk daging adalah sebesar 0,3 ppm atau mg/kg. Temuan logam berat cadmium juga dilaporkan dalam studi Widayanti dan Widhiastuti (2018) yang menggunakan metode AAS untuk deteksi. Studi tersebut menyebutkan bahwa telah ditemukan kandungan cadmium pada daging sapi, kambing, burung dara dan bebek yang melebihi ambang batas aman di daerah Dinoyo, kota Malang.

KESIMPULAN

Kajian literatur keracunan logam berat Arsenik (As), Cadmium (Cd), Tembaga=Copper (Cu), Merkuri (Hg), Mangan (Mn) dan Timbal=Lead (Pb) yang difokuskan pada hewan laboratorium dan ayam sebagai hewan model keracunan pada ternak konsumsi menunjukkan kelainan anatomi dan histologi. Perubahan yang paling banyak ditemukan berada di organ hati, ginjal, testis, dan ovarium. Perubahan yang ditemukan berupa kelainan umum yang dapat ditemukan pada kasus infeksi atau penyakit metabolisme lainnya. Oleh karena itu, dibutuhkan uji pendukung lain untuk konfirmasi peneguhan kejadian keracunan seperti dengan menggunakan *Atomic Absorption Spectrophotometric* (AAS) dan *Neutron Activation Analysis* (NAA). Adapun kelainan umum yang ditemukan merupakan referensi tambahan sehingga ketika ditemukan kasus yang tidak spesifik, kejadian keracunan logam berat menjadi salah satu diagnosis pembandingan yang perlu ditelusuri lebih lanjut.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad K, Shaheen M, Iqbal Khan Z, Bashir H. 2013. Heavy metals contamination of soil and fodder: a possible risk to livestock. *Sci Technol Develop.* 32:140-148.
- Ahmad RZ. 2018. Mycoremediation to remove heavy metal pollution in post-mining areas for farmland utilization. *Wartazoa.* 28:41-50. doi: 10.14334/wartazoa.v28i1.1785.
- Ahmed MK, Habibullah-Al-Mamun M, Parvin E, Akter MS, Khan MS. 2013. Arsenic induced toxicity and histopathological changes in gill and liver tissue of freshwater fish, tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Experiment Toxicol Pathol.* 65:903-909.
- Apsari NLPN, Berata IK, Sudira IW. 2020. Gambaran histopatologi, kadar kadmium limpa dan paru-paru sapi Bali yang dipotong di tempat pemotongan hewan tradisional. *Indones Medic Vet.* 9:594-603. doi: 10.19087/imv.2020.9.4.594.
- Badis B. 2014. Levels of selected heavy metals in fresh meat from cattle, sheep, chicken and camel produced in Algeria. *Ann Res Rev Biol.* 4:1260-1267. doi: 10.9734/ARRB/2014/7430.
- Bernard A. 2008. Cadmium and its adverse effects on human health. *Indian J Med Res.* 128:557-564.
- Boucher O, Muckle G, Jacobson JL, Carter RC, Kaplan-Estrin M, Ayotte P, Dewailly E, Jacobson SW. 2014. Domain-specific effects of prenatal exposure to PCBs, mercury, and lead on infant cognition: Results from the environmental contaminants and child development study in Nunavik. *Environ Health Perspect.* 122:310-316. doi: 10.1289/ehp.1206323.
- Bustaffa E, Stoccoro A, Bianchi F, Migliore L. 2014. Genotoxic and epigenetic mechanisms in arsenic carcinogenicity. *Arch Toxicol.* 88:1043-1067. doi: 10.1007/s00204-014-1233-7.
- Carocci A, Rovito N, Sinicropi MS, Genchi G. 2014. Mercury toxicity and neurodegenerative effects. *Rev Environ Contam Toxicol.* 229:1-18. doi: 10.1007/978-3-319-03777-6_1.
- Dardouri K, Haouem S, Gharbi I, Sriha B, Haouas Z, Hani A el, Hammami M. 2016. Combined effects of Cd and Hg on liver and kidney histology and function in wistar rats. *J Agric Chem Environ.* 05:159-169. doi: 10.4236/jacen.2016.54017.
- Du Y, Zhu Y, Teng Xiaojie, Zhang K, Teng Xiaohua, Li S. 2015. Toxicological effect of manganese on NF- κ B/iNOS-COX-2 signaling pathway in chicken testes. *Biol Trace Element Res.* 168:227-234. doi: 10.1007/s12011-015-0340-5.
- Đukić-Čosić D, Baralić K, Javorac D, Djordjević AB, Bulat Z. 2020. An overview of molecular mechanisms in cadmium toxicity. *Curr Opin Toxicol.* 19:56-62. doi: 10.1016/j.cotox.2019.12.002.
- Elghani S, Oda S, Tohamy H, Hashem M. 2020. Hematological, biochemical and histopathological studies on the prophylactic effect of zinc sulphate against mercuric chloride toxicity in rats. *Alexandria J Vet Sci.* 64:102. doi: 10.5455/ajvs.60390.
- Engwa GA, Ferdinand PU, Nwalo FN, Unachukwu MN. 2019. Mechanism and health effects of heavy metal toxicity in humans. In: Karcioğlu O, Arslan B, editors. *Poisoning in the Modern World - New Tricks for an Old Dog?* [Internet]. London (UK):

- IntechOpen. [cited 2022 March 13]. Available from: <https://www.intechopen.com/chapters/64762>.
- Farina M, Campos F, Vendrell I, Berenguer J, Barzi M, Pons S, Suñol C. 2009. Probuco increases glutathione peroxidase-1 activity and displays long-lasting protection against methylmercury toxicity in cerebellar granule cells. *Toxicol Sci.* 112:416–426. doi: 10.1093/toxsci/kfp219.
- Galhardi CM, Diniz YS, Faine LA, Rodrigues HG, Burneiko RCM, Ribas BO, Novelli ELB. 2004. Toxicity of copper intake: lipid profile, oxidative stress and susceptibility to renal dysfunction. *Food Chem Toxicol.* 42:2053–2060. doi: 10.1016/j.fct.2004.07.020.
- Garla R, Sharma N, Shamli, Kaushal N, Garg ML. 2021. Effect of zinc on hepatic and renal tissues of chronically arsenic exposed rats: A biochemical and histopathological study. *Biol Trace Element Res.* 199:4237–4250. doi: 10.1007/s12011-020-02549-2.
- Golding J, Steer CD, Hibbeln JR, Emmett PM, Lowery T, Jones R. 2013. Dietary predictors of maternal prenatal blood mercury levels in the ALSPAC birth cohort study. *Environ Health Perspect.* 121:1214–1218. doi: 10.1289/ehp.1206115.
- Hambach R, Lison D, D'Haese PC, Weyler J, de Graef E, de Schryver A, Lamberts LV, van Sprundel M. 2013. Co-exposure to lead increases the renal response to low levels of cadmium in metallurgy workers. *Toxicol Letters.* 222:233–238. doi: 10.1016/j.toxlet.2013.06.218.
- He J, Qian X, Carpenter R, Xu Q, Wang L, Qi Y, Wang Z-X, Liu L-Z, Jiang B-H. 2013. Repression of miR-143 mediates Cr (VI)-induced tumor angiogenesis via IGF-IR/IRS1/ERK/IL-8 pathway. *Toxicol Sci.* 134:26–38. doi: 10.1093/toxsci/kft101.
- He J, Wang M, Jiang Y, Chen Q, Xu S, Xu Q, Jiang B-H, Liu L-Z. 2014. Chronic arsenic exposure and angiogenesis in human bronchial epithelial cells via the ROS/miR-199a-5p/HIF-1 α /COX-2 pathway. *Environ Health Perspect.* 122:255–261. doi: 10.1289/ehp.1307545.
- He Z, Shentu J, Yang X, Baligar VC, Zhang T, Stoffella PJ. 2015. Heavy metal contamination of soils: sources, indicators and assessment. *J Environ Indicators.* 9:17–18.
- Hegazy AMS, Fouad UA. 2014. Evaluation of lead hepatotoxicity; histological, histochemical and ultrastructural study. *Forensic Med Anatomy Res.* 02:70–79. doi: 10.4236/fmar.2014.23013.
- Hubaux R, Becker-Santos DD, Enfield KS, Rowbotham D, Lam S, Lam WL, Martinez VD. 2013. Molecular features in arsenic-induced lung tumors. *Mol Cancer.* 12:20. doi: 10.1186/1476-4598-12-20.
- Hughes MF, Beck BD, Chen Y, Lewis AS, Thomas DJ. 2011. Arsenic exposure and toxicology: A historical perspective. *Toxicol Sci.* 123:305–332. doi: 10.1093/toxsci/kfr184.
- Hussein HK, Abu-Zinadah OA, El Rabey HAS, Meerasahib MF. 2011. Environmental assessment of ground water pollution by heavy metals and bioaccumulation of mercury residues in chicken tissues. *Afr J Biotechnol.* 10:16089-16100. doi: 10.5897/AJB11.2694.
- Janardani NMK, Berata IK, Kardena IM. 2018. Studi histopatologi dan kadar timbal pada ginjal sapi Bali di tempat pembuangan akhir Suwung Denpasar. *Indones Medic Vet.* 7:42-50. doi: 10.19087/imv.2018.7.1.42.
- Jin-Long Li, Hui-Xin Li, Shu Li, Zhao-Xin Tang, Shi-Wen Xu, Xiao-Long Wang. 2010. Oxidative stress-mediated cytotoxicity of cadmium in chicken splenic lymphocytes. *Polish J Environ Stud.* 19:947–956.
- Kaplan O, Yildirim NC, Yildirim N, Cimen M. 2011. Toxic elements in animal products and environmental health. *Asian J Anim Vet Adv.* 6:228–232. doi: 10.3923/ajava.2011.228.232.
- Kim J-C, Lee I-C, Ko J-W, Park S-H, Lim J-O, Shin I-S, Moon C, Kim S-H, Her J-D. 2016. Comparative toxicity and biodistribution of copper nanoparticles and cupric ions in rats. *Int J Nanomedicine.* 11:2883–2900. doi: 10.2147/IJN.S106346.
- Li J-L, Gao R, Li S, Wang J-T, Tang Z-X, Xu S-W. 2010. Testicular toxicity induced by dietary cadmium in cocks and ameliorative effect by selenium. *BioMetals.* 23:695–705. doi: 10.1007/s10534-010-9334-0.
- Ma Y, Shi Y, Li L, Xie C, Zou X. 2018a. Toxicological effects of mercury chloride on laying performance, egg quality, serum biochemistry, and histopathology of liver and kidney in laying hens. *Biol Trace Element Res.* 185:465–474. doi: 10.1007/s12011-018-1263-8.
- Ma Y, Zhu M, Miao L, Zhang X, Dong X, Zou X. 2018b. Mercuric chloride induced ovarian oxidative stress by suppressing Nrf2-Keap1 signal pathway and its downstream genes in laying hens. *Biol Trace Element Res.* 185:185–196. doi: 10.1007/s12011-018-1244-y.
- Martin S, Griswold W. 2009. Human health effects of heavy metals. *Environ Sci Technol Briefs for Citizens.* 15:1–6.
- Mohammed AT, Ebraheim LLM, Metwally MMM. 2018. Ebselen can protect male reproductive organs and male fertility from manganese toxicity: Structural and bioanalytical approach in a rat model. *Biomed Pharmacotherapy.* 102:739–748. doi: 10.1016/j.biopha.2018.03.086.
- Nawrot TS, Staessen JA, Roels HA, Munters E, Cuypers A, Richart T, Ruttens A, Smeets K, Clijsters H, Vangronsveld J. 2010. Cadmium exposure in the population: from health risks to strategies of prevention. *BioMetals.* 23:769–782. doi: 10.1007/s10534-010-9343-z.

- Noman ASM, Dilruba S, Mohanto NC, Rahman L, Khatun Z, Riad W, Mamun AA, Alam S, Aktar S, Chowdhury S, Saud ZA, Rahman Z, Hossain K, Haque A. 2015. Arsenic-induced histological alterations in various organs of mice. *J Cytol Histol*. 06:323. doi: 10.4172/2157-7099.1000323
- Patrick L. 2006. Lead toxicity part II: the role of free radical damage and the use of antioxidants in the pathology and treatment of lead toxicity. *Altern Med Rev*. 11: 114-127.
- Pretto A, Loro VL, Morsch VM, Moraes BS, Menezes C, Santi A, Toni C. 2014. Alterations in carbohydrate and protein metabolism in silver catfish (*Rhamdia quelen*) exposed to cadmium. *Ecotoxicol Environ Safety*. 100:188–192. doi: 10.1016/j.ecoenv.2013.11.004.
- Putra WS, Berata IK, Kardena IM. 2018a. Kadar logam berat Pb dan histopatologi limpa sapi bali yang dipelihara di tempat pembuangan akhir Suwung Denpasar. *Buletin Veteriner Udayana*. 10:64–69. doi: 10.24843/bulvet.2018.v10.i01.p10.
- Rafiei H, Ahmadi Z, Ashrafizadeh M. 2018. Effects of Orally administered lead acetate II on rat femur histology, mineralization properties and expression of osteocalcin gene. *IBBJORGJ*. 4:149–155.
- Rajaganapa V, Xavier F, Sreekumar D, Mandal PK. 2011. Heavy metal contamination in soil, water and fodder and their presence in livestock and products: A review. *J Environ Sci Technol*. 4:234–249. doi: 10.3923/jest.2011.234.249.
- Randa AH, Dawlat MA, Nariman AR, Hatem ME, Dessouky MI. 2012. Clinicopathological, histopathological and immunological studies on animals exposed to lead and cadmium under experimental conditions. *New York Sci J*. 5:12.
- Rashid K, Sinha K, Sil PC. 2013. An update on oxidative stress-mediated organ pathophysiology. *Food Chem Toxicol*. 62:584–600. doi: 10.1016/j.fct.2013.09.026.
- Reichard JF, Puga A. 2010. Effects of arsenic exposure on DNA methylation and epigenetic gene regulation. *Epigenomics*. 2:87–104. doi: 10.2217/epi.09.45.
- Rumbeiha W.K., Snider DB. 2014. Veterinary toxicology. In: *Encyclopedia of toxicology*. Amsterdam (Belanda): Elsevier. p. 915–928. doi: 10.1016/B978-0-12-386454-3.00444-9.
- Saleh RM, Awadin WF. 2017. Biochemical and histopathological changes of subacute cadmium intoxication in male rats. *Environ Sci Pollution Res*. 24:25475–25481. doi: 10.1007/s11356-017-0348-9.
- Seif MM, Madboli A-N, Marrez DA, Aboulthana WMK. 2019. Hepato-renal protective effects of egyptian purslane extract against experimental cadmium toxicity in rats with special emphasis on the functional and histopathological changes. *Toxicol Reports*. 6:625–631. doi: 10.1016/j.toxrep.2019.06.013.
- Shao C-C, Li N, Zhang Z-W, Su J, Li S, Li J-L, Xu S-W. 2014. Cadmium supplement triggers endoplasmic reticulum stress response and cytotoxicity in primary chicken hepatocytes. *Ecotoxicol Environ Safety*. 106:109–114. doi: 10.1016/j.ecoenv.2014.04.033.
- Shao Y, Zhao H, Wang Y, Liu J, Li J, Chai H, Xing M. 2018. Arsenic and/or copper caused inflammatory response via activation of inducible nitric oxide synthase pathway and triggered heat shock protein responses in testis tissues of chicken. *Environ Sci Pollution Res*. 25:7719–7729. doi: 10.1007/s11356-017-1042-7.
- Sheikh T, Patel B, Joshi D, Patel R, Jegoda M. 2013. Repeated dose oral toxicity of inorganic mercury in wistar rats: biochemical and morphological alterations. *Vet World*. 6:563. doi: 10.5455/vetworld.2013.563-567.
- Shi H, Shi X, Liu KJ. 2004. Oxidative mechanism of arsenic toxicity and carcinogenesis. *Mol Cell Biochem*. 255:67–78. doi: 10.1023/B:MCBI.0000007262.26044.e8.
- Simon E, Braun M, Vidic A, Bogyó D, Fábíán I, Tóthmérész B. 2011. Air pollution assessment based on elemental concentration of leaves tissue and foliage dust along an urbanization gradient in Vienna. *Environ Pollution*. 159:1229–1233. doi: 10.1016/j.envpol.2011.01.034.
- Tsutsumi T, Ishihara A, Yamamoto A, Asaji H, Yamakawa S, Tokumura A. 2014. The potential protective role of lysophospholipid mediators in nephrotoxicity induced by chronically exposed cadmium. *Food Chem Toxicol*. 65:52–62. doi: 10.1016/j.fct.2013.12.019.
- Wadaan MAM. 2009. Effects of mercury exposure on blood chemistry and liver histopathology of male rats. *J Pharmacol Toxicol*. 4:126–131.
- Wang Y, Wang K, Huang H, Gu X, Teng X. 2017. Alleviative effect of selenium on inflammatory damage caused by lead via inhibiting inflammatory factors and heat shock proteins in chicken testes. *Environ Sci Pollution Res*. 24:13405–13413. doi: 10.1007/s11356-017-8785-z.
- Wang Z, Zhao Y, Smith E, Goodall GJ, Drew PA, Brabletz T, Yang C. 2011. Reversal and prevention of arsenic-induced human bronchial epithelial cell malignant transformation by microRNA-200b. *Toxicol Sci*. 121:110–122. doi: 10.1093/toxsci/kfr029.
- Wu X, Cobbina SJ, Mao G, Xu H, Zhang Z, Yang L. 2016. A review of toxicity and mechanisms of individual and mixtures of heavy metals in the environment. *Environ Sci Pollution Res*. 23:8244–8259. doi: 10.1007/s11356-016-6333-x.
- Zhou C, Xu P, Huang C, Liu G, Chen S, Hu G, Li G, Liu P, Guo X. 2020. Effects of subchronic exposure of mercuric chloride on intestinal histology and microbiota in the cecum of chicken. *Ecotoxicol Environ Safety*. 188:109920. doi: 10.1016/j.ecoenv.2019.109920.