

EFEKTIVITAS PAKAN DENGAN SUPLEMENTASI DAGING IKAN GABUS (Channa Striata) TERHADAP PERBAIKAN HISTOLOGIS DUODENUM TIKUS WISTAR SETELAH MENGALAMI PENGONDISIAN STRES FISILOGIS

Rudi Juandi Gultom^{1*}, Sunarno¹, Siti Muflichatun Mardiaty¹

¹Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro
E-mail: rgultome@gmail.com

ABSTRAK

Stres fisiologis dan defisiensi nutrisi pakan yang diikuti aktivitas berlebihan merupakan faktor pemicu terjadinya gangguan struktur dan fungsi duodenum. Organ pada duodenum memiliki kemampuan regenerasi secara periodik setelah mengalami gangguan akibat stres fisiologis. Kandungan nutrisi pakan menentukan proses regenerasi organ duodenum usus halus. Penelitian ini dilakukan untuk mengkaji, menganalisis dan menentukan konsentrasi daging ikan gabus untuk peningkatan diameter, panjang vili, ketebalan lapisan mukosa, submukosa dan muskularis duodenum tikus Wistar setelah pengondisian stress fisiologis. Penelitian ini menggunakan 20 ekor tikus Wistar jantan terdiri atas 5 perlakuan dengan 4 kali ulangan. Perlakuan pada penelitian ini terdiri atas P0: kontrol, hewan uji yang dikondisikan stres 6 hari yang diikuti pemberian pakan tanpa suplementasi daging ikan gabus; P1, P2, P3, dan P4 adalah hewan uji yang dikondisikan stres selama 6 hari dan diberi pakan dengan suplementasi daging ikan gabus selama 14 hari, berturut-turut 5%, 10%, 15%, dan 20% dari waktu setelah pengondisian stres. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Parameter yang diukur pada penelitian ini adalah diameter, panjang vili, dan ketebalan lapisan mukosa, submukosa, dan muskularis duodenum usus halus. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan Analysis of Variance (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji Duncan dengan taraf signifikansi 95%. Hasil penelitian ini adalah pemberian pakan daging ikan gabus dapat memperbaiki stuktur histologis duodenum setelah pengondisian stres dan pemberian pakan dengan suplementasi daging ikan gabus dengan konsentrasi 15% memberi pengaruh pada peningkatan diameter, panjang vili, dan ketebalan lapisan mukosa, submukosa, dan muskularis duodenum, berturut-turut 2520 μm , 576,34 μm , 506 μm , 123,34 μm , dan 72,34 μm masing-masing lebih tinggi 23,43%, 46,37%, 45,26%, 50,31%, dan 22,95% dibanding kontrol. Kesimpulan penelitian ini suplementasi daging ikan gabus dalam pakan dapat digunakan untuk memperbaiki struktur dan fungsi duodenum pasca stres.

Kata Kunci: *stres, suplemen, duodenum, ikan gabus, Channa striata, tikus Wistar*

ABSTRACT

Physiological Stress and nutritional deficiencies that followed excessive activity is a trigger factor disturbance structure and function of the duodenum. Organ in the duodenum has the ability to regenerate periodically after experiencing problems due to physiological stress. Nutrient content of feed determine organ regeneration process duodenum of the small intestine. This study was conducted to assess, analyze and determine the concentration of fish meat cork to increase in diameter, villous length, the thickness of the layer of the mucosa, submucosa and muscularis duodenum of Wistar rats after conditioning the physiological stress. This study used 20 male Wistar rats consisted of 5 treatments with 4 replications. The treatment in this study consisted of P0: control, test animals were conditioned stress followed six days of feeding without supplementation with fish meat cork; P1, P2, P3, and P4 are test animals that were conditioned stress for 6 days and fed with supplementation of fish meat cork for 14 days, respectively 5%, 10%, 15%, and 20% of the time after conditioning stress. This study uses a completely randomized design (CRD). The parameters measured in this study is the diameter, villous length and thickness of the layers of mucosa, submucosa, and muscularis duodenum of the small intestine. Data were analyzed using Analysis of Variance (ANOVA) followed by Duncan test with 95% significance level. The results of this study are feeding the fish meat cork can improve the structure of histologic duodenum after stress conditioning and feeding with supplementation of fish meat cork with a concentration of 15% giving effect to increase in diameter, the length of villi, and the thickness of the lining mucosa, submucosa, and muscularis duodenum, respectively -turut 2520 μm , 576.34 μm , 506 μm , 123.34 μm and 72.34 μm respectively higher 23.43%, 46.37%, 45.26%, 50.31%, and 22, 95% compared to controls. It concluded supplementation with fish meat cork in feed can be used to improve the structure and function of post-stress duodenum.

Keywords: *stress, supplements, duodenum, cork fish, Channa striata, Wistar*

PENDAHULUAN

Stres fisiologis karena kekurangan nutrisi yang disertai aktivitas berlebihan dapat menyebabkan permasalahan kekurangan energi yang dibutuhkan oleh tubuh. Kekurangan energi ini dapat berakibat pada gangguan fisiologis, morfologis, dan histologis organ tubuh, seperti pada duodenum yang berdampak pada penurunan bobot badan (Danladi *et al.*, 2014). Hasil penelitian Winarsi (2007) menyatakan bahwa stres fisiologis berdampak pada gangguan struktur dan fungsi sel, terutama sel-sel yang rentan terhadap stres, yaitu sel-sel epitel kolumnar dan sel goblet penyusun vili pada duodenum usus halus. Gangguan fisiologis, morfologis, dan histologis pada duodenum ditandai dengan penurunan produksi dan aktivitas enzim-enzim pencernaan, penurunan sistem pertahanan seluler pada duodenum, disfungsi, dan degenerasi sel. Gayton (2008) menyatakan, gangguan struktur dan kerusakan pada duodenum dapat berdampak pada penurunan bobot badan (Gayton, 2008).

Gangguan fisiologis, morfologis, dan histologis dapat diperbaiki karena sel-sel duodenum mempunyai potensi untuk melakukan pertumbuhan dan regenerasi. Perbaikan duodenum akibat gangguan fisiologis, morfologis, dan histologis pada prinsipnya adalah menyediakan kebutuhan berbagai macam nutrisi penting yang dibutuhkan untuk pertumbuhan dan proses perbaikan jaringan yang pada akhirnya akan berpengaruh pada peningkatan bobot badan (Al Qudah, 2014). Berbagai pilihan perlakuan bahan untuk perbaikan duodenum akibat stres fisiologis telah dilakukan oleh beberapa peneliti dan tersedia pilihan bahan lainnya untuk diujicobakan.

Perlakuan bahan untuk perbaikan duodenum telah dilakukan oleh beberapa peneliti dengan memanfaatkan berbagai jenis tanaman dan bahan lainnya yang memiliki kandungan bahan aktif atau nutrisi esensial yang dapat mempercepat pertumbuhan, meningkatkan kandungan antioksidan, proses perbaikan jaringan, dan peningkatan bobot badan. Berbagai jenis bahan yang telah diujicobakan untuk perbaikan duodenum dan berdampak pada peningkatan bobot badan hewan uji, antara lain perasan buah labu siam (*Sechium edule*) (Palupi dkk., 2012), yoghurt susu kambing (Sari dkk., 2012), dan minyak jinten atau *Nigela sativa* (Danladi *et al.*, 2014). Terdapat alternatif tentang penggunaan bahan lain yaitu daging ikan gabus (*Channa striata*). Daging jenis ikan ini memiliki kandungan albumin, glutamin, sistein, glisin, dan beberapa mikromineral, mudah diperoleh dan diproses serta dapat digunakan untuk mengatasi dan memperbaiki jaringan tubuh yang mengalami gangguan fisiologis, morfologis maupun histologis (Sinambela, 2012).

Daging ikan gabus telah diketahui mengandung berbagai macam nutrisi esensial yang dibutuhkan untuk perbaikan jaringan tubuh akibat luka. Nutrisi esensial dalam daging ikan gabus, seperti albumin, glutamin, sistein, glisin, dan beberapa mikromineral diketahui dapat meningkatkan proses metabolisme dan produksi energi selular (Chambell and Perkins, 2006). Berdasarkan hal tersebut pemberian suplemen daging ikan gabus dalam pakan diharapkan dapat digunakan untuk peningkatan energi dan bermanfaat untuk perbaikan fisiologis, morfologis, dan histologis duodenum.

Hasil penelitian Fadli (2010) menyatakan bahwa daging ikan gabus memiliki kandungan nutrisi mikro seng, besi, selenium, serta protein sebesar 70% dari total kandungan nutrisi. Albumin ditemukan sebanyak 21% dari total kandungan protein, dan sisanya berupa beberapa asam amino. Beberapa asam amino yang terkandung dalam daging ikan gabus, meliputi fenilalanin (7,5%), isoleusin (8,34%), leusin (14,98%), metionin (0,81%), valin (8,66%), treonin (8,34%), lisin (17,02%), histidin (4,16%), asam aspartat (17,02%), asam glutamat (30,93%), alanin (10,07%), prolin (5,19%), serin (11,02%), glisin (6,99%), sistein (0,16%), dan tirosin (7,49%). Daging ikan gabus (per 100 g) juga mengandung energi sebanyak 74 kkal, lemak 1,7 g, kalsium 62 mg, fosfor 176 mg, dan besi 0,9 mg (Ansar, 2010). Rata-rata kebutuhan protein untuk memelihara status kesehatan umum dan fisiologi dewasa pada hewan ditetapkan sama untuk orang dewasa sehat dari segala usia yaitu 0,8 g protein/kg berat badan/hari 5. Suplemen protein dalam pakan berkontribusi sebesar 17,5% dari keseluruhan konsumsi protein untuk menunjang kebutuhan gizi optimal (Nabella, 2011).

Bukti-bukti tersebut menunjukkan bahwa kandungan nutrisi dalam daging ikan gabus dapat mendukung perbaikan histologis duodenum dan peningkatan bobot badan akibat stres fisiologis. Pemberian daging ikan gabus sebagai suplemen pakan menarik untuk diteliti sebagai upaya untuk mendapatkan informasi penting tentang konsentrasi daging ikan gabus yang memberi pengaruh pada perbaikan histologis duodenum sekaligus berpengaruh pada peningkatan bobot badan. Perbaikan histologis merupakan aspek yang akan diteliti pada penelitian ini. Histologis duodenum dapat diketahui dari berbagai macam variabel histologis, yang meliputi diameter, panjang vili, ketebalan lapisan mukosa, submukosa dan muskularis duodenum.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini diawali dengan persiapan dan aklimasi hewan uji. Hewan uji yang digunakan adalah tikus Wistar jantan berjumlah 20 ekor dan berumur 4 bulan dengan berat ± 250 g yang dibagi ke dalam 5 kelompok perlakuan dengan 4 ulangan. Aklimasi tikus Wistar dilakukan selama satu minggu. Selama aklimasi, tikus-tikus diberi pakan dan air minum secara *ad libitum*.

Setelah aklimasi dilanjutkan pembuatan pakan dengan suplemen daging ikan gabus. Suplemen daging ikan gabus dibuat dengan cara menambahkan daging ikan gabus yang telah diproses ke dalam pakan tikus sesuai persentase yang dibutuhkan. Pembuatan suplemen ikan gabus diawali dengan pemotongan bagian badan yang dipisahkan dengan bagian kepala dan ekor. Daging dibagian badan dipisahkan dari kulit dan ruas-ruas tulang belakang atau duri yang menyatu dengan daging. Daging dibersihkan dan dipotong-potong dengan ukuran seperti dadu. Potongan daging kemudian diblender sampai homogen sehingga diperoleh homogenat.

Homogenat yang telah ditentukan beratnya dicampur dengan pakan tikus yang telah ditimbang sesuai kebutuhan untuk *repeletting*. Sebelum dicampur, ke dalam nampan yang berisi pakan tikus diberi air hangat dengan volume sesuai kebutuhan, lalu dihomogenisasi sampai diperoleh pakan yang kalis. Homogenat dari daging ikan gabus kemudian dicampurkan ke dalam pakan dengan konsentrasi sesuai yang dibutuhkan, berturut-turut 0%, 5%, 10%, 15%, dan 20% sampai diperoleh campuran pakan yang homogen. Pakan yang telah tercampur secara homogen kemudian dibuat pelet dengan menggunakan *grinder*. Pelet yang dihasilkan kemudian dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 60°C selama 2 hari hingga diperoleh kadar air kurang lebih 10%. Pelet kering yang mengandung daging ikan gabus selanjutnya siap digunakan sebagai perlakuan pada tikus Wistar yang telah mengalami pengondisian stres.

Pengondisian stres dilakukan dengan cara, tikus dipuaskan dan hanya diberi minum secara *ad libitum* yang diikuti dengan aktivitas berenang di dalam ember tertutup selama 10 menit setiap hari selama 6 hari (Sunarno *et al.*, 2013). Perlakuan pakan dengan suplementasi daging ikan gabus dilakukan setelah tikus Wistar mengalami pengondisian stres, yang dimulai pada hari ke 8 sampai hari ke 21 (14 hari). Konsentrasi suplemen daging ikan gabus dalam pakan terdiri atas 5 konsentrasi, yang meliputi 0%, 5%, 10%, 15%, dan 20%. Selama perlakuan, hewan uji diberi air minum secara *ad libitum*.

Di akhir penelitian, hewan uji dipuaskan selama 1 hari sebelum dikorbankan. Tikus-tikus Wistar kemudian dibedah dan dilanjutkan dengan pengambilan duodenum. Bagian usus ini kemudian dimasukkan ke dalam larutan garam fisiologis (NaCl

0,95%), dilanjutkan pemotongan dengan ukuran 7 cm, dan kemudian difiksasi dengan menggunakan larutan BNF 10%.

Setelah fiksasi dengan larutan BNF 10%, dilanjutkan dengan pembuatan sediaan histologis duodenum. Prosedur pemrosesan sediaan histologis duodenum diawali dengan melakukan pengirisan jaringan duodenum dengan ukuran 0,5 x 0,5 cm, kemudian direndam ke dalam larutan fiksatif Bouin selama 24 jam Jaringan selanjutnya dicuci dengan alkohol 70% secara berulang sampai duodenum bersih dari larutan fiksatif Bouin.

Tahap selanjutnya adalah dehidrasi duodenum menggunakan alkohol bertingkat (70%, 80%, 90%, 96%, absolut) masing-masing selama 30 menit. Kemudian dilakukan proses *clearing* menggunakan toluol dengan tujuan untuk infiltrasi parafin ke dalam sampel duodenum dengan cara memasukkan sampel duodenum ke dalam campuran toluol dan parafin dengan perbandingan toluol: parafin secara bertahap, mulai dari 3:1, 1:1, dan 1:3 masing-masing selama 30 menit. Selanjutnya sampel duodenum dimasukkan kedalam parafin murni secara berulang sebanyak 2 kali selama 30 menit. Proses infiltrasi parafin ini dilakukan di dalam oven yang bersuhu 56°C. Setelah proses infiltrasi selesai, dilakukan penanaman kedalam cetakan blok parafin yang terbuat dari kertas. Kemudian blok-blok parafin ditunggu sampai keras dan dimasukkan kedalam lemari es. Selanjutnya dilakukan pengirisan atau *section* dengan ketebalan 6 μ m menggunakan mikrotom putar.

Proses berikutnya adalah penempelan atau *affixing* irisan ke gelas benda. Proses penempelan irisan parafin ini menggunakan Mayer's albumin sebagai perekat dan ditambahkan sedikit akuades agar saat dipanaskan di atas *hot plate* irisan jaringan dapat merentang dengan baik dan tidak melipat. Irisan parafin yang berisi sediaan histologis duodenum yang telah ditempelkan pada gelas benda dibiarkan sampai kering untuk selanjutnya dilakukan pewarnaan dengan menggunakan hematoksilin-eosin.

Proses pewarnaan diawali dengan deparafinasi, yaitu menghilangkan parafin yang terdapat dalam irisan yang berisi sediaan histologis dengan cara merendam ke dalam silol selama 24 jam, selanjutnya dicelup dengan alkohol bertingkat 96%, 90%, 80%, 70%, 50%, 30%, masing-masing selama 1-2 menit, kemudian dimasukkan ke dalam pewarna hematoksilin selama 15-20 menit lalu dibilas dengan akuades. Jika sudah terwarnai dengan baik maka dilanjutkan dengan perendaman ke dalam alkohol bertingkat mulai dari 30%, 50%, dan 70%, kemudian dilanjutkan dengan pewarnaan eosin selama 5 menit. apabila pewarnaan sudah merata dilakukan perendaman alkohol bertingkat mulai dari 70%, 80%, 90%, dan 96%. Proses selanjutnya *mounting* atau

penutupan sediaan histologis dengan gelas penutup. Sebelum *mounting* sediaan histologis dimasukkan ke dalam silol selama 24 jam. Preparat yang sudah diwarnai, ditutup dengan Canada balsam dan diberi label kemudian diamati dengan mikroskop.

Sediaan histologis yang sudah diamati kemudian didokumentasi dengan menggunakan mikroskop yang dilengkapi kamera yang terhubung dengan layar komputer. Parameter histologis duodenum yang diamati, yang meliputi panjang vili, diameter duodenum, dan ketebalan lapisan mukosa pada duodenum usus halus. Pengamatan parameter histologis duodenum dengan menggunakan *software Mac Biophotonics Image J* pada 5 lapang pandang kemudian dirata-rata untuk memperoleh data ukuran dari masing-masing parameter tersebut.

Hasil pengukuran panjang vili, diameter duodenum, dan ketebalan lapisan mukosa pada duodenum usus halus yang diperoleh setelah pengamatan histologis diuji dengan ANOVA dengan signifikansi 95%. Apabila terdapat pengaruh yang nyata dari pakan dengan suplementasi daging ikan gabus terhadap ukuran parameter histologis duodenum, maka dilanjutkan dengan uji Duncan dengan signifikansi 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian tentang pengaruh suplemen daging ikan gabus dalam pakan terhadap bobot badan, diameter duodenum, panjang vili, tebal lapisan mukosa, tebal lapisan submukosa dan tebal lapisan muskularis eksterna dianalisis menggunakan ANOVA (*analysis of variance*) pada taraf kepercayaan 95%. Suplementasi daging ikan gabus dalam pakan yang diberikan pada hewan uji berpengaruh nyata terhadap perbaikan histologi duodenum. Hal tersebut ditunjukkan oleh nilai rata-rata dari beberapa parameter histologi duodenum variabel yang diamati (Tabel 4.1).

Bobot badan tikus Wistar berdasarkan uji Anova dan Duncan pada taraf kepercayaan 95% setelah diberikan suplemen daging ikan gabus dalam pakan menunjukkan bahwa P0 berbeda nyata dengan P1, P2 dan P4 namun tidak berbeda nyata dengan P3. P1 berbeda nyata dengan P4 namun tidak berbeda nyata dengan P2. P3 dengan konsentrasi 15% memberi pengaruh terhadap peningkatan bobot badan setelah pengondisian stres fisiologis (Lampiran 4.1). Pemberian suplemen daging ikan gabus dalam pakan pada konsentrasi tersebut dimungkinkan meningkatkan ketersediaan nutrisi dalam pakan yang mendukung ketersediaan nutrisi yang dibutuhkan untuk regenerasi dan perbaikan jaringan tubuh, khususnya duodenum setelah pengondisian stres

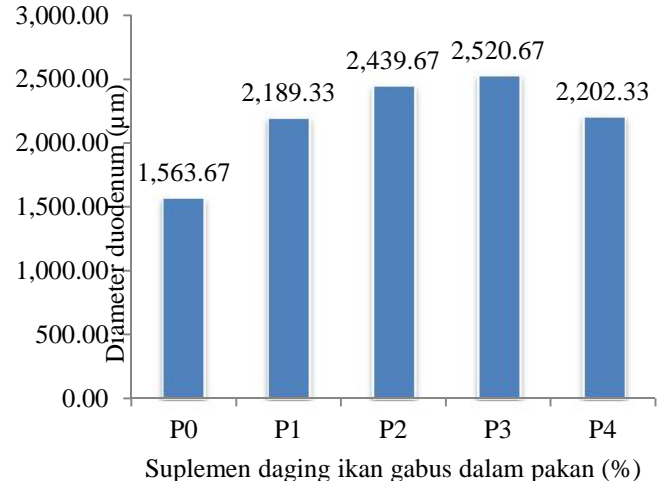
fisiologis. Daging ikan gabus mengandung protein albumin, asam amino glutamin, glisin, dan sistein (Sunarno, 2015). Terjadi penurunan pada konsentrasi yang lebih tinggi, yaitu pada konsentrasi 20%, hal tersebut menunjukkan bahwa penambahan daging ikan gabus dalam pakan sampai batas konsentrasi tertentu memberi kontribusi pada metabolisme yang lebih efektif, sebaliknya kandungan protein yang berlebih dalam tubuh dapat menghasilkan limbah-limbah metabolit seperti ammonia dan urea yang berdampak pada perubahan orientasi penggunaan energi dan produk-produk dari metabolisme biosintesis. Energi yang dihasilkan lebih banyak digunakan untuk mekanisme pengeluaran limbah daripada perbaikan jaringan. Hal ini berdampak pada penurunan histologis duodenum (Schade *et al.* 2009).

Tabel 4.1. Rata-rata nilai variabel histologis duodenum setelah perlakuan.

Parameter	Perlakuan				
	P0	P1	P2	P3	P4
Bobot badan (g)	290 ^c ±10,95	260 ^a ±16,73	264 ^{ab} ±7,48	282 ^c ±24,16	270 ^b ±6,32
Diameter duodenum (µm)	1563,7 ^a ±377,4	2189,3 ^b ±151,6	2439,7 ^b ±158,3	2520,7 ^b ±265,9	2202,3 ^b ±280,8
Panjang vili (µm)	211,3 ^a ±7,5	340,7 ^{ab} ±54,9	445,4 ^{bc} ±66,1	576,6 ^c ±113,2	435,0 ^b ±162,8
Tebal mukosa (µm)	190,7 ^a ±21,6	250,0 ^{ab} ±95,5	359,6 ^b ±54,9	506,0 ^c ±72,9	323,67 ^{ab} ±99,2
Tebal sub-mukosa (µm)	40,3 ^a ±14,0	53,67 ^a ±6,7	74,34 ^a ±10,1	123,3 ^b ±32,6	72,0 ^a ±25,7
Tebal muskularis (µm)	45,3 ^a ±6,5	54,0 ^{ab} ±3,5	59,34 ^b ±3,4	72,34 ^c ±2,1	61,67 ^b ±3,5

Keterangan: Angka yang diikuti dengan *superscript* yang sama dalam baris sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($P < 0,05$). P0 : perlakuan konsentrasi 0%, P1: perlakuan konsentrasi 5%, P2: perlakuan konsentrasi 10%, P3 : perlakuan 15%, P4: perlakuan konsentrasi 20%.

Hasil penelitian ini juga memberi bukti bahwa suplementasi daging gabus dalam pakan yang diberikan selama 14 hari dari waktu setelah hewan uji mengalami pengondisian stres fisiologis mampu memperbaiki diameter duodenum, panjang vili, ketebalan lapisan mukosa, ketebalan lapisan submukosa dan ketebalan lapisan muskularis eksterna, lebih baik dibanding kontrol. Daging ikan gabus diketahui mengandung protein albumin, berbagai macam asam amino, vitamin dan mineral. Suplementasi daging ikan gabus ke dalam pakan menyebabkan kandungan nutrisi pakan menjadi meningkat dan mampu memberi pengaruh pada perbaikan variabel histologis duodenum.

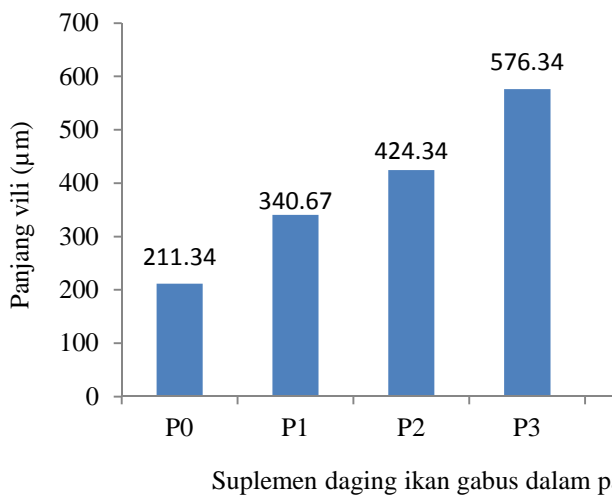


Gambar 4.1. Histogram diameter duodenum tikus Wistar setelah perlakuan
Keterangan: P0, P1, P2, P3, dan P4 berturut-turut perlakuan suplemen daging ikan gabus dalam pakan dengan konsentrasi 0%, 5%, 10%, 15%, dan 20%.

Hasil penelitian seperti pada Gambar 4.1 menunjukkan bahwa P1-P4 memberi pengaruh

terhadap lebar diameter duodenum lebih besar dibanding P0 (kontrol). P3 dengan konsentrasi 15% memberi pengaruh terhadap diameter duodenum paling baik dibanding perlakuan lainnya, yaitu sebesar 2.520,67 μm . Diameter duodenum tikus Wistar berdasarkan uji Anova dan Duncan pada taraf kepercayaan 95% setelah diberikan suplemen daging ikan gabus dalam pakan menunjukkan bahwa P0 berbeda nyata dengan P1, P2, P3 dan P4. Uji Anova menunjukkan P3 tidak berbeda nyata dengan P1, P2 dan P4 (Lampiran 4.2).

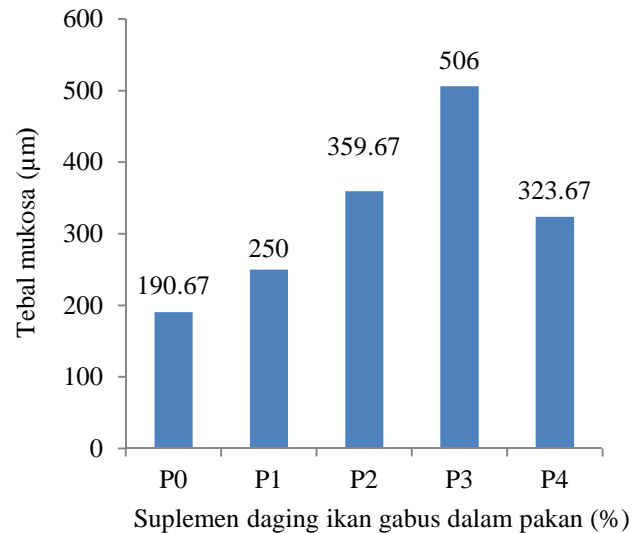
Pemberian suplemen daging ikan gabus dalam pakan pada tikus Wistar selama 14 hari setelah pengondisian stres fisiologis selama 6 hari juga berpengaruh terhadap panjang vili duodenum.



Gambar 4.2. Histogram panjang vili duodenum tikus Wistar setelah perlakuan
Keterangan: P0, P1, P2, P3, dan P4 berturut-turut perlakuan suplemen daging ikan gabus dalam pakan dengan konsentrasi 0%, 5%, 10%, 15%, dan 20%.

Gambar 4.2 menunjukkan bahwa P1, P2, P3, dan P4 memberi pengaruh terhadap panjang vili dengan rata-rata nilai yang lebih tinggi dibandingkan dengan P0 (kontrol). Perlakuan suplemen daging ikan gabus dalam pakan sebanyak 15% mampu memperbaiki panjang villi secara signifikan dibandingkan dengan keempat perlakuan lainnya. Hal tersebut dapat ditunjukkan dengan P3 yang memberi pengaruh terhadap vili duodenum dengan panjang 576,34 μm , lebih panjang dibanding pengaruh perlakuan lainnya. Panjang vili tikus Wistar berdasarkan uji Anova dan Duncan pada taraf kepercayaan 95% setelah diberikan suplemen daging ikan gabus dalam pakan menunjukkan bahwa P0

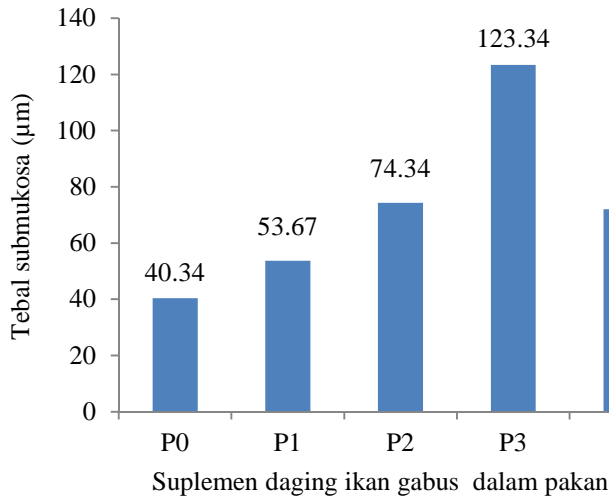
berbeda nyata dengan P2, P3 dan P4 namun tidak berbeda nyata dengan P1. Uji Anova menunjukkan P4 tidak berbeda nyata dengan P2 namun berbeda nyata dengan P3. Panjang vili duodenum pada P3 berbeda nyata dengan kontrol namun tidak berbeda nyata dengan P2 (Lampiran 4.3)



Gambar 4.3. Histogram tebal mukosa duodenum tikus Wistar setelah perlakuan
Keterangan: P0, P1, P2, P3, dan P4 berturut-turut perlakuan suplemen daging ikan gabus dalam pakan dengan konsentrasi 0%, 5%, 10%, 15%, dan 20%.

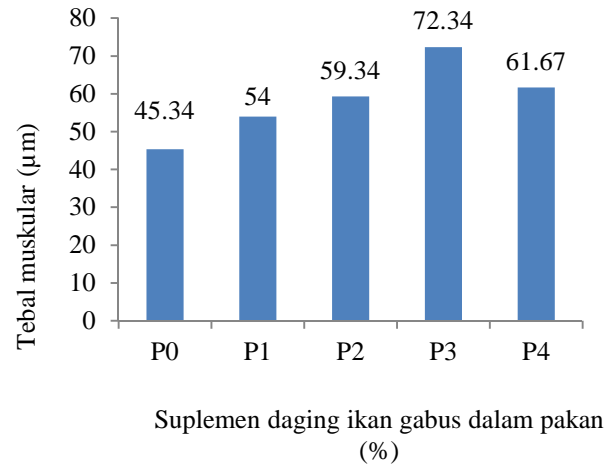
Suplementasi daging ikan gabus dalam pakan selain meningkatkan kandungan nutrisi pakan juga menjamin ketersediaan bahan baku metabolisme yang digunakan untuk produksi energi dan biosintesis. Hal tersebut memberi kontribusi penting bagi perbaikan jaringan tubuh setelah pengondisian stres fisiologis. Bukti tentang pengaruh suplementasi daging ikan gabus tampak pada lapisan mukosa duodenum. Respons lapisan mukosa pada perlakuan lebih baik dibanding kontrol. Perlakuan P1, P2, P3, dan P4 memberi pengaruh terhadap lapisan mukosa yang lebih tebal dibanding dengan P0 (kontrol). Perlakuan P3 dengan konsentrasi daging ikan gabus dalam pakan sebanyak 15% mampu memberi pengaruh nyata terhadap ketebalan lapisan mukosa duodenum dan paling baik dengan rata-rata nilai sebesar 506 μm . Ketebalan lapisan mukosa berdasarkan uji Anova dan Duncan pada taraf kepercayaan 95% setelah diberikan suplemen daging ikan gabus dalam pakan menunjukkan bahwa P0 berbeda nyata dengan P2 dan

P3 namun tidak berbeda nyata dengan P1 dan P4. Uji Anova menunjukkan P2 berbeda nyata dengan P3 (Lampiran 4.4).



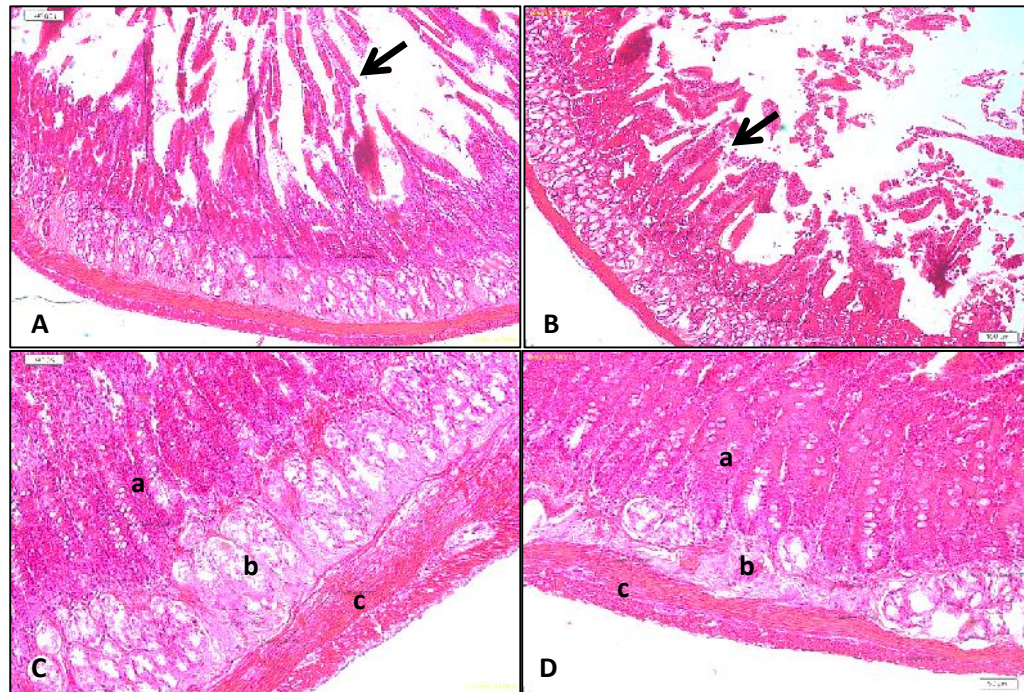
Gambar 4.4. Histogram tebal submukosa duodenum tikus Wistar setelah perlakuan. Keterangan: P0, P1, P2, P3, dan P4 berturut-turut perlakuan suplemen daging ikan gabus dalam pakan dengan konsentrasi 0%, 5%, 10%, 15%, dan 20%.

Hasil penelitian pada Gambar 4.4 menunjukkan bahwa tebal submukosa duodenum akibat pengaruh suplementasi daging ikan gabus selama 14 hari dengan konsentrasi 15% lebih tebal dibanding pengaruh dari perlakuan lainnya dan kontrol. Ketebalan lapisan submukosa berdasarkan uji Anova dan Duncan pada taraf kepercayaan 95% setelah diberikan suplemen daging ikan gabus dalam pakan menunjukkan bahwa P0 berbeda nyata dengan P3 namun tidak berbeda nyata dengan P1, P2 dan P4 (Lampiran 4.5). Perlakuan P3 memberi pengaruh terhadap ketebalan lapisan submukosa dengan rata-rata nilai sebesar 123,34µm, paling baik dibanding perlakuan lainnya.



Gambar 4.5. Histogram tebal muskularis duodenum tikus Wistar setelah perlakuan. Keterangan: P0, P1, P2, P3, dan P4 berturut-turut perlakuan suplemen daging ikan gabus dalam pakan dengan konsentrasi 0%, 10%, 15%, dan 20%.

Pemberian suplementasi daging ikan gabus dalam pakan pada tikus Wistar setelah pengondisian stres fisiologis selama 6 hari yang dilakukan pada hari ke-8 sampai dengan hari ke-21 (14 hari) berpengaruh pada ketebalan muskularis eksterna duodenum. Hasil penelitian seperti pada Gambar 4.5 menunjukkan bahwa P1-P4 memiliki rata-rata nilai ketebalan muskularis eksterna yang lebih tebal dibandingkan kontrol (P0). Suplementasi daging ikan gabus dengan konsentrasi 15% mampu meningkatkan ketebalan muskularis duodenum secara nyata, lebih tebal dibanding kontrol dan perlakuan lainnya. P3 memberi pengaruh terhadap ketebalan muskularis eksterna duodenum dengan rata-rata nilai sebesar 72,37µm. Ketebalan lapisan muskularis eksterna berdasarkan uji Anova dan Duncan pada taraf kepercayaan 95% setelah diberikan suplemen daging ikan gabus dalam pakan menunjukkan bahwa P0 berbeda nyata dengan P2, P3 dan P4 namun tidak berbeda nyata dengan P1. Uji Anova menunjukkan P2 dan P4 berbeda nyata dengan P3 (Lampiran 4.6).



Gambar 4.6. Respons histologis duodenum setelah perlakuan.

Keterangan: panjang vili (tanda panah), lapisan mukosa (a), submukosa (b), dan muskularis (c) duodenum akibat pengaruh suplemen daging ikan gabus dalam pakan dengan konsentrasi 15% (A,C: P3) dan kontrol (0%; B,C: P0). Pewarnaan: Hematoksilin dan Eosin. Perbesaran mikroskop A dan B 200x; C dan D 400x

Perbedaan yang nyata antara pengaruh perlakuan P3 dengan P0 (kontrol) dapat dilihat lebih jelas pada gambaran histologis panjang vili, lapisan mukosa, submukosa dan muskularis duodenum seperti ditunjukkan pada Gambar 4.6.

Lapisan mukosa, submukosa, dan muskularis duodenum akibat pengaruh perlakuan pakan dengan suplementasi daging ikan gabus konsentrasi 15% dengan pewarnaan hematoksilin-eosin tampak lebih tebal dibanding pengaruh perlakuan dengan konsentrasi 0% (kontrol). Morfologi umum dan struktur duodenum tikus Wistar yang sudah diwarnai dengan pewarnaan Hematoksilin-Eosin (H&E) menunjukkan inti sel penyusun lapisan mukosa, submukosa, dan muskularis mengambil warna basofilik, sedangkan bagian sitoplasma mengambil warna asidofilik. Warna basofilik pada inti sel menunjukkan bahwa hematoksilin yang bersifat basa telah bereaksi dengan senyawa asam dalam inti sel yang menghasilkan warna ungu pada bagian inti tersebut. Warna merah muda pada sitoplasma menunjukkan bahwa Eosin yang bersifat asam telah bereaksi dengan senyawa dalam sitoplasma yang bersifat basa. Selain itu, warna merah muda juga

mewarnai bagian-bagian dalam sitoplasma yang tidak terwarnai oleh Hematoksilin (Sunarno dkk., 2015).

Perbaikan beberapa parameter histologis duodenum memiliki keterkaitan erat dengan kandungan nutrisi dalam daging ikan gabus yang digunakan sebagai suplemen. Daging ikan gabus selain mengandung banyak vitamin dan mineral, juga mengandung protein dan berbagai macam asam amino yang dibutuhkan oleh tubuh. Protein dan asam-asam amino merupakan salah satu nutrisi pakan yang mempunyai peran penting dalam proses metabolisme. Protein merupakan zat pembangun yang berperan penting dalam proses perbaikan jaringan. Adapun asam-asam amino yang terkandung dalam daging ikan gabus, seperti glutamin, glisin, dan sistein berfungsi sebagai bahan baku dalam proses regenerasi atau perbaikan jaringan pada duodenum (Sediaoetama, 2004). Peran sinergi antara protein, asam-asam amino, vitamin, dan mineral mengakibatkan terjadinya peningkatan dan percepatan proses regenerasi atau perbaikan jaringan pada duodenum setelah pengondisian stres fisiologis. Bukti dari penelitian ini menguatkan hasil penelitian yang telah diperoleh.

Murray *et al.* (2009) menyatakan bahwa albumin merupakan protein yang berperan dalam

meningkatkan laju transportasi berbagai macam nutrisi yang dibutuhkan oleh jaringan tubuh. Albumin diketahui berperan dalam transportasi molekul-molekul kecil melewati plasma dan cairan sel, serta memelihara tekanan osmotik di dalam kapiler. Fungsi albumin sebagai pembawa molekul-molekul kecil memiliki keterkaitan erat dengan bahan metabolisme. Adapun, asam amino glutamin mempunyai peran penting sebagai pembawa nitrogen untuk mendukung aktivitas fisikokimia dan penghasil energi intraseluler yang mendukung proses perbaikan jaringan. Transport amida nitrogen dari glutamin melalui reaksi amidotransferase berperan dalam biosintesis purina dan pirimidina, sintesis DNA, dan RNA (Schade *et al.*, 2009). Ketersediaan glutamin melalui penambahan suplementasi daging ikan gabus dalam pakan sangat dibutuhkan dalam kondisi stres fisiologis seperti pada penelitian ini. Hewan dengan kondisi stres fisiologis akan mengalami penurunan konsentrasi glutamin dalam tubuh mencapai 50% dibanding kondisi normal, sementara konsentrasi dalam plasma menurun sekitar 20%. Gayton (2008) menyatakan, perlakuan aktivitas yang panjang dan intensif dapat menyebabkan penurunan konsentrasi glutamin plasma dan otot. Hasil penelitian lainnya melaporkan bahwa penurunan konsentrasi glutamin dapat berdampak pada penurunan pertahanan seluler terhadap radikal bebas oksigen (Schade *et al.* 2009). Dalam kondisi tersebut, ketersediaan glutamin sangat esensial dan sangat penting.

Senyawa glutamin dalam daging ikan gabus (*Channa striata*), seperti pada penelitian ini sangat dibutuhkan untuk pemulihan atau perbaikan jaringan dari kondisi stres fisiologis. Glutamin eksogen dapat meningkatkan konsentrasi glutamin di dalam tubuh, membantu proses sintesis protein, keseimbangan nitrogen, memberi pengaruh anabolik yang dibutuhkan untuk mempercepat pemulihan atau perbaikan kondisi fisiologis tubuh. Glutamin diketahui dapat menstimulasi dan meningkatkan fungsi sistem imun, mendukung proliferasi sel, melindungi integritas mikrovaskuler, dan memelihara fungsi glikogenik. Fungsi glikogenik mempunyai peran penting dalam menyeimbangkan level gula dalam darah, asam basa antar jaringan, dan meningkatkan fungsi saluran pencernaan. Glutamin juga berpengaruh pada pusat nafsu makan dan mampu mendetoksifikasi amonia yang merupakan penyebab kerusakan sel (Cruzat *et al.*, 2007).

Demikian pula asam amino glisin memiliki peran penting dalam biosintesis heme dan hemoglobin (Murray *et al.*, 2009). Perbaikan histologi duodenum pada semua perlakuan, utamanya pada pemberian konsentrasi optimal juga dipengaruhi oleh adanya asam amino glisin dan sistein. Glisin dan sistein berfungsi untuk meningkatkan pertahanan dan

pemeliharaan integritas seluler (Jun *et al.* 2006). Penjelasan ini menguatkan bukti tentang pengaruh suplementasi daging ikan gabus dengan berbagai macam kandungan nutrisinya terhadap perbaikan beberapa parameter histologis duodenum.

Hasil dari Uji Duncan pada taraf kepercayaan 95% (Tabel 4.1) secara umum menunjukkan bahwa respons histologis duodenum oleh suplementasi daging ikan gabus dalam pakan ada perbedaan antara kelompok perlakuan dengan kontrol atau perlakuan yang satu dengan lainnya. Suplementasi daging ikan gabus dalam pakan yang terbaik adalah perlakuan dengan konsentrasi 15%. Hasil penelitian Nabella (2011) melaporkan bahwa suplemen protein dalam pakan berkontribusi sebesar 17,5% dari keseluruhan konsumsi protein untuk menunjang kebutuhan gizi optimal. Suplementasi daging ikan gabus 15% mampu meningkatkan rata-rata diameter duodenum, panjang vili, tebal lapisan mukosa, tebal lapisan submukosa, dan tebal lapisan muskularis eksterna berurut-turut 23,43%, 46,37%, 45,26%, 50,71%, 22,95% lebih tinggi dibanding kontrol (Tabel 4.1).

Perbaikan beberapa parameter histologi duodenum dapat disebabkan oleh peningkatan konsentrasi suplementasi daging ikan gabus sampai konsentrasi 15%, kemudian akan menunjukkan penurunan pada konsentrasi yang lebih tinggi, yaitu pada konsentrasi 20%. Fakta tersebut menunjukkan bahwa penambahan daging ikan gabus dalam pakan sampai batas konsentrasi tertentu memberi kontribusi pada metabolisme yang lebih efektif, sebaliknya kandungan protein yang berlebih dalam tubuh dapat menghasilkan limbah-limbah metabolit seperti ammonia dan urea yang berdampak pada perubahan orientasi penggunaan energi dan produk-produk dari metabolisme biosintesis. Energi yang dihasilkan lebih banyak digunakan untuk mekanisme pengeluaran limbah daripada perbaikan jaringan. Hal ini berdampak pada penurunan respons histologis duodenum sehingga perbaikan pada vili, ketebalan lapisan mukosa, submukosa, dan muskularis menjadi lebih lama. Kondisi ini berdampak pada ukuran diameter duodenum yang lebih sempit, vili yang tampak lebih pendek, ketebalan lapisan mukosa, submukosa, dan muskularis yang menjadi berkurang.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan membuktikan bahwa pemberian suplementasi daging ikan gabus (*Channa striata*) dalam pakan selama 14 hari pada hewan uji setelah pengondisian stres 6 hari dapat memperbaiki diameter duodenum, vili, lapisan mukosa, submukosa, dan muskularis. Perlakuan suplementasi daging ikan gabus dalam pakan dengan konsentrasi 15% memberi pengaruh pada peningkatan ukuran diameter duodenum, panjang vili, ketebalan lapisan mukosa, submukosa, dan muskularis. Berdasarkan hal tersebut,

penggunaan daging ikan gabus sebagai suplemen makanan sangat penting untuk menunjang regenerasi jaringan tubuh yang mengalami perubahan struktur dan penurunan fungsi akibat stres fisiologis, khususnya duodenum.

KESIMPULAN

Pemberian suplemen daging ikan gabus dalam pakan memberi pengaruh terhadap peningkatan diameter, panjang vili, ketebalan lapisan mukosa, submukosa, dan muskularis duodenum pada tikus Wistar setelah pengondisian stres fisiologis. Konsentrasi terbaik suplemen daging ikan gabus dalam pakan yang dapat meningkatkan beberapa variabel histologis duodenum pada tikus Wistar setelah pengondisian stres fisiologis adalah 15%.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed. 2002. Joining the Cell Survival Squad: an Emerging Role For Protein Kinase CK2. *Trends Cell Biology* 12(5):226-30.
- Al Qudah, M. M. 2014. Histological Effects of Aging on Male Albino Rats Duodenum. *World Journal of Medical Sciences* 10(2): 174-178.
- Ansar, 2010. *Pengolahan dan Pemanfaatan Ikan Gabus*. Kementerian Pendidikan Nasional Direktorat Jenderal Pendidikan Nonformal dan Informal Direktorat Pendidikan Kesetaraan. ISBN, Jakarta.
- Baratawidjaja, K. G., dan I. Rengganis. 2009. *Imunologi Dasar*. Balai Penerbit FKUI, Jakarta.
- Bijaksana, U. 2012. Domestikasi Ikan Gabus, *Channa Striata* Blkr, Upaya Optimalisasi Perairan Rawa Di Provinsi Kalimantan Selatan. *Jurnal Lahan Suboptimal* 1(1): 92-101.
- Brown, D., 1992. *Buku Teks Histologi Veteriner*. Edisi III. UI Press, Jakarta.
- Chambell, K. J and N. D. Perkins. 2006. Regulation of NF-kappaB Function. *Biochem Soc Symp.* 73 : 165 – 180.
- Cruzat, V. F., M. M. Rogero, M. C. Borges and J. Tirapegui. 2007. Current Aspects About Oxidative Stress, Physical Exercise and Supplementation. *Rev Bras Med Esporte* 13(5): 304e-310e.
- Danladi, J., S. P. Akpulu, G. K. Owolagba, V. K. Afuwai, R. A. Hadiza and T. Murdakai. 2014. Histological Effect of Oral Administration of Ccl4-Induced Stomach and Duodenum Damage and the Protective Effect of Nigella Sativa in Adult Wistar Rats. *Journal of Dental and Medical Sciences* 13(7): 53-58
- Dringen, R., J. M. Gutterer and J. Hirrlinger. 2000. Glutathione Metabolism in Brain Metabolic Interaction Between Astrocytes and Neurons in the Defense Against Reactive Oxygen Species. *Eur J Biochem* 267: 4912-4916.
- Fadli. 2010. *Bagusnya Ikan Gabus*. Warta Pasar ikan Edisi 8; Hal: 4-5
- Gayton. 2008. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 11. EGC, Jakarta; Hal: 896.
- Kulkarni C, Kulkarni KS, Hamsa BR. 2005. L-Glutamic acid and glutamine: exciting molecules of clinical interest. *Indian J Pharmacol* 37(3):148-154.
- Kurcu. 2010. The Effects of Regular Exercise on Oxidative and Antioxidative Parameters in Young Wrestlers. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 4(5): 244-51.
- Liu, J., A. Wang, L. Li, Y. Huang, P. Xue and A. Hao. 2010. Oxidative Stress Mediates Hippocampal Neuron Death in Rats After Lithium-Pilocarpine-Induced Status Epilepticus. *Seizure* 19: 165-172.
- Moore, M. C. 1997. *Buku Pedoman Terapi Diet dan Nutrisi*. Hipokrates, Jakarta.
- Mulyadi, A. F, M. Effendi dan J. M. Maligan. 2011. *Modul Teknologi Pengolahan Ikan Gabus*. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya, Malang.
- Murray, R. K., D. A. Bender, K. M. Botham, P. J. Kennelly, V. W. Rodwell and P. A. Weil. 2009. *Harper's Illustrated Biochemistry* 28th Edition. The McGraw-Hill Companies, USA.
- Muslim, S. M. 2007. *Pemeliharaan Benih Ikan Gabus (Channa striata) pada Media Budidaya (Waring) dalam Rangka Domestikasi*. Program Studi Budidaya Perairan Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya, Palembang.
- Nabella, H. 2011. Hubungan Asupan Protein dengan Kadar Ureum dan Kreatin pada Bodybuilder. *Artikel Penelitian*. Program Studi Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang.
- Nseabasi, N. E., E. E. A. Offiong, G. D. Eyoh and M. D. Udo. 2013. Stress and Animal Welfare: An Uneasy Relationship. *European Journal of Advanced and Research in Biological and Life Sciences* 1 (1): 9-16.
- Palupi, H. N., Aullani'am dan D. K. Wuragil. 2012. Studi Terapi Air Perasan Buah Labu Siam (*Sechium edule*) pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Model *Inflammatory Bowel Disease* Pasca Induksi Indometasin Terhadap Kadar Malondialdehidida dan Gambaran Histopatologi Duodenum. *Skripsi*. Program Studi Kedokteran Hewan, Program Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya
- Pamplona, R., M. P. Otin, A. Sanz, J. Requena and G. Barja. 2004. Modification of The Longevity-

- Related Degree of Fatty Acid Unsaturation Modulates Oxidative Damage to Proteins and Mitochondrial DNA in Liver and Brain. *Experimental Gerontology* 39: 725-733.
- Poedjiadi. 2006. Ilmu Gizi Klinis pada Anak. Fakultas Kedokteran UI Press, Jakarta.
- Rusjiyanto. 2009. Pengaruh Pemberian Suplemen Seng (Zn) dan Vitamin C Terhadap Kecepatan Penyembuhan Luka Pasca Bedah di Rumah Sakit Umum Daerah Kabupaten Sukoharjo. *Jurnal Kedokteran Indonesia* 1(1): 64-75.
- Saladin, K. S. 2004. Anatomy and Physiology: The Unity of Form And Function (3rd Ed.) McGraw-Hill Companies, Inc., 1221 Avenue of the Americas, New York.
- Saraswati, T. R dan S. M. Mardiaty. 2004. Buku Penuntun Praktikum Mikroteknik Hewan. Undip Press, Semarang.
- Sari, W. O. P., M. C. Padaga, dan D. K. Wuragil. 2012. Gambaran Histopatologi Duodenum dan Ekspresi *Inducible Nitric Oxide Synthase* (iNOS) Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Hiperkolesterolemia dengan Terapi Yoghurt Susu Kambing. Skripsi. Program Studi Kedokteran Hewan, Program Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya
- Schade, R. S. M., M. Grundling, D. Pavlovic, K. Starke, M. Wendt, S. Retter, M. Murphy, U. Suchner, A. Spassov, T. Gedrange, C. H. Lehmann. 2009. Glutamine and Alanyl-Glutamine Dipeptide Reduce Mesenteric Plasma Extravasation, Leukocyte Adhesion and Tumor Necrosis Factor-Alpha (TNF- α) Release during Experimental Endotoxemia. *Journal of Physiology and Pharmacology* 60(8): 19-24.
- Sediaoetama. 2004. Ilmu Gizi untuk Mahasiswa dan Profesi. Jilid 1. Dian Rakyat, Jakarta; Hal: 74-75.
- Sinambela, H. Y. 2012. Optimasi Formulasi Sediaan Salep Minyak Ikan Gabus (*Channa striata* Bloch) sebagai Obat Luka Sayat dengan Metode *Simplex Lattice Design*. Skripsi. Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak.
- Sunarno, S. M. Mardiaty dan T. Suprihatin. 2015. Potensi Bahan *Antiaging* dari Ekstrak Ikan Gabus (*Channa striata*) terhadap Perbaikan Histo-Morfologi Hipokampus. *Buletin Anatomi dan Fisiologi* 2015: 1-8.
- Umoren, E. B and E. E. Osim. 2014. Morphology of the Small Intestine of Albino Wistar Rats Following Long Term Administration of Nevirapine. *Biochem Pharmacol* 3(2): 1-5.
- Zhu, J. H., X. Zhang, J. P. McClung and X. G. Lei. 2006. Impact of Cu, Zn-Superoxide Dismutase and Se-Dependent Glutathione Peroxidase-1 Knockouts on Acetaminophen-Induced Cell Death and Related Signaling in Murine Liver. *Exp Biol Med* 231: 1726-1732.