

PERBAIKAN HISTOLOGIS PUSAT LEARNING AND MEMORY DI HIPOKAMPUS OTAK SETELAH PERLAKUAN SUPLEMEN DAGING IKAN GABUS (CHANNA STRIATA) DALAM PAKAN: KAJIAN IN VIVO PADA TIKUS WISTAR PASCA STRES

Reynato Wijaya Saputro^{1*}, Sunarno¹, Siti Muflichatun Mardiaty¹

¹ Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro

Jl. Prof. Soedarto, SH, Tembaalang Semarang

* E-mail: sunzen07@gmail.com

ABSTRACT

Background: Stress due to lack of feed that followed excessive activity is a trigger factor learning and memory disorder center in the hippocampus. Cornu ammonis (CA3 and CA1) in the hippocampus is a structure that is central to learning and memory. Complete nutrient content of feed is supporting the regeneration of the structure of CA3 and CA1 in the hippocampus impaired due to stress. This research was conducted to obtain a histological improvement layers of CA3 and CA1 hippocampus in the rat brain after supplementation with snakehead fish meat in the feed of post-stress.

Design and Method: This study uses a completely randomized design consisting of 6 treatments with 4 replications. Test animals used were male Wistar rats. Treatments, including P0: control, namely Wistar rats were conditioned to stress during the six days that followed the feeding without supplementation of snakehead fish meat for 14 days; P1, P2, P3, and P4, respectively Wistar rats were conditioned stress followed by supplemental feeding snakehead fish meat 5%, 10%, 15% and 20%. The research variables measured the thickness of the layer of CA3 and CA1. Data were analyzed using Analysis of Variance (ANOVA) at the level of 95% and continued with Duncan test with 95% significance level.

Result: Supplemental feeding with snakehead fish meat as much as 15% during 14 days in Wistar rats after stress gives the best effect on the improvement of CA3 and CA1 layer of the hippocampus, respectively 53.60 μm^2 (17.49%) and 46.31 μm^2 (78,32%), better than the control.

Conclusion: Feeding the snake head fish meat supplementation for 14 days in Wistar rats after stress can improve layer CA3 and CA1 in the hippocampus of the brain. Recommended snake head fish meat can be used as a feed supplement to improve the structure of CA3 and CA1 in the hippocampus and very good to support the learning and memory functions of the brain.

Keywords: snakehead fish meat, *Channa striata*, cornu ammonis, supplementation, hippocampus, learning and memory

ABSTRAK

Pendahuluan: Stres akibat kekurangan pakan yang diikuti aktivitas berlebihan merupakan faktor pemicu gangguan pusat learning and memory di hipokampus. Cornu ammonis (CA3 dan CA1) merupakan struktur di hipokampus yang merupakan pusat learning and memory. Kandungan nutrisi pakan yang lengkap sangat menunjang proses regenerasi struktur CA3 dan CA1 di hipokampus yang mengalami gangguan akibat stres. Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh gambaran perbaikan histologis lapisan CA3 dan CA1 di hipokampus otak tikus setelah suplementasi daging ikan gabus dalam pakan pasca stres.

Metode: Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap yang terdiri atas 6 perlakuan dengan 4 kali ulangan. Hewan uji yang digunakan adalah Tikus Wistar jantan.

Perlakuan yang diberikan, meliputi P0: kontrol, yaitu tikus Wistar yang dikondisikan stres selama 6 hari yang diikuti pemberian pakan tanpa suplementasi daging ikan gabus selama 14 hari; P1, P2, P3, dan P4, berturut-turut adalah tikus Wistar yang dikondisikan stres yang diikuti pemberian pakan dengan suplementasi daging ikan gabus 5%, 10%, 15%, dan 20%. Variabel penelitian yang diukur adalah ketebalan lapisan CA3 dan CA1. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan Analysis of Variance (ANOVA) pada taraf kepercayaan 95% dan dilanjutkan dengan uji Duncan dengan taraf signifikansi 95%.

Hasil: *pemberian pakan dengan suplementasi daging ikan gabus sebanyak 15% selama 14 hari pada tikus Wistar pasca stres memberi pengaruh terbaik pada perbaikan histologis lapisan CA3 dan CA1 hipokampus, berturut-turut 53,60 μm^2 (17,49%) dan 46,31 μm^2 (78,32%), lebih baik dibanding kontrol.*

Kesimpulan: *Pemberian pakan dengan suplementasi daging ikan gabus selama 14 hari pada tikus Wistar pasca stres dapat memperbaiki lapisan CA3 dan CA1 di hipokampus otak. Daging ikan gabus direkomendasikan dapat digunakan sebagai suplemen pakan untuk memperbaiki struktur CA3 dan CA1 di hipokampus dan sangat baik untuk menunjang fungsi learning and memory otak.*

Kata kunci : *daging ikan gabus, suplemen, cornu ammonis, hipokampus, learning and memory*

PENDAHULUAN

Pakan dan kandungan nutrisi pakan merupakan salah satu faktor penting yang menentukan perbaikan fungsi jaringan di dalam tubuh akibat stres. Stres menjadi masalah bagi produktivitas hewan dan dapat menimbulkan gangguan kesehatan pada manusia. Stres dapat memicu produksi radikal bebas dan rantai reaksi radikal bebas di dalam tubuh. Radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan komponen organik sel dan penurunan aktivitas enzim-enzim intraseluler. Secara berkelanjutan, stres dapat mengganggu fungsi sel, terutama sel yang rentan pada stres oksidatif, seperti sel-sel neuron di lapisan *cornu ammonis* hipokampus (Barja 2004; Jiang *et al.* 2004).

Hipokampus terutama bagian *cornu ammonis* merupakan bagian otak yang paling cepat mengalami penurunan fungsi akibat stres. Hipokampus diketahui mempunyai peran penting dalam fungsi kognitif, mengontrol umpan balik pada respons stres, dan proses belajar dan mengingat. Sel-sel di hipokampus memiliki ciri-ciri yang spesifik, yaitu berbentuk piramida terutama di bagian *cornu ammonis* (CA). Bagian *cornu ammonis* hipokampus terdiri atas CA1, CA2, dan CA3. Lapisan CA3 dan CA1 memiliki fungsi *learning and memory*, adapun fungsi lapisan CA2 belum diketahui. Sel-sel piramida di *cornu ammonis* rentan dari pengaruh stres. Stres berkepanjangan dapat mengakibatkan depresi yang diikuti degenerasi neuron pada kedua lapisan di hipokampus tersebut (Liu *et al.* 2010).

Kujoth *et al.* (2007) melaporkan bahwa stres oksidatif dapat mengganggu proses oksidasi-fosforilasi di mitokondria, penurunan produksi ATP, dan peningkatan kebutuhan energi metabolisme secara keseluruhan (Serra *et al.* 2003; Speakman *et al.* 2004; Balaban *et al.* 2005). Hasil penelitian Liu *et al.* (2010) menunjukkan bahwa stres oksidatif dapat menyebabkan peningkatan peroksidasi lipid dan akumulasi deposit-deposit metabolit yang bersifat neurotoksik. Stres oksidatif dapat mengganggu aktivitas enzim Ca^{2+} ATPase yang berperan dalam proses regulasi konsentrasi Ca^{2+} intraseluler dan gangguan ini dapat menginduksi terjadinya degenerasi neuron di hipokampus. Gangguan fungsi hipokampus ditandai dengan gangguan struktur sel atau jaringan (Dringen *et al.*, 2000). Munculnya berbagai macam gangguan ini dapat menimbulkan pengaruh merusak pada protein dan lipid membran sel, modifikasi membran dan fungsi seluler, dan akhirnya menyebabkan kematian neuron *cornu ammonis* di hipokampus (Pamplona *et al.* 2004; Liu *et al.* 2010).

Stres berupa kekurangan pakan, ketidaktersediaan nutrisi pakan yang diikuti aktivitas berlebihan menjadi fenomena menarik untuk diteliti terkait dengan gangguan fungsi hipokampus. Perubahan struktur dan fungsi hipokampus akibat stres diawali dari perubahan konsentrasi protein dan asam-aam amino intraseluler, penurunan konsentrasi antioksidan, perubahan histo-morfologi, dan struktur mitokondria. Kondisi stres juga dapat mengakibatkan nekrosis sel, perubahan morfologi sel, serta perubahan plastisitas sinaptik pada hipokampus yang kemudian dapat mempengaruhi fungsi *learning and memory* (Kim and Diamond, 2002).

Saat ini ditemukan banyak kasus bahwa perbaikan fungsi jaringan akibat stres memerlukan waktu yang lama akibat rendahnya kandungan nutrisi pakan yang dikonsumsi. Moore (1997) menyatakan bahwa nutrisi terutama protein mempunyai peran penting selama periode hipermetabolisme akibat stres dan berperan dalam menunjang perbaikan fungsi jaringan tubuh. Ketersediaan protein pada kondisi gangguan fungsi jaringan tubuh berfungsi sebagai katalisator, molekul karier, molekul signal biologis, dan menstimulasi pembentukan komponen struktural (Rusjiyanto, 2009). Peningkatan kandungan nutrisi pakan, terutama protein sangat diperlukan untuk mempercepat perbaikan fungsi jaringan akibat stres, khususnya jaringan saraf di hipokampus. Jaringan saraf di hipokampus memiliki kemampuan regenerasi setelah mengalami stres. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sel-sel neuron di daerah hipokampus membutuhkan waktu hingga 14 hari setelah mengalami iskemik untuk beregenerasi (Nakatomi *et al.* 2002).

Berdasarkan hal tersebut, penggunaan suatu bahan yang memiliki kandungan protein, mikromineral dan berbagai macam asam amino untuk pemulihan hipokampus menjadi suatu kebutuhan. Berbagai nutrisi tersebut sangat dibutuhkan untuk menunjang fungsi neuron dan peningkatan kandungan antioksidan untuk pertahanan intraseluler dari pengaruh radikal bebas. Bahan yang memenuhi kriteria tersebut adalah daging ikan gabus. Daging ikan gabus merupakan salah satu bahan potensial yang dapat digunakan sebagai bahan suplemen untuk meningkatkan kandungan nutrisi pakan. Daging ikan ini banyak tersedia di alam, namun belum banyak dimanfaatkan sebagai bahan suplemen pakan. Pemberian daging ikan gabus perlu dicoba dan digunakan sebagai bahan suplemen dalam pakan untuk memperbaiki gangguan fungsi hipokampus akibat stres, karena bahan ini mengandung berbagai macam mikromineral dan asam-asam amino yang dapat meningkatkan kadar antioksidan dan mempercepat perbaikan fungsi jaringan (Daren *et al.*, 2007). Selanjutnya, pemberian suplemen ini diharapkan dapat memperantarai perbaikan profil histo-morfologi dan struktur mitokondria neuron hipokampus, kemampuan belajar atau mengingat, dan aktivitas motorik.

Hasil penelitian Fadli (2010) melaporkan 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, 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%). Selain itu, 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; Rosenbloom, 2009; Deutz *et al.* 2014).

Bukti-bukti tersebut menunjukkan bahwa kandungan nutrisi dalam daging ikan gabus dapat memperantarai perbaikan fungsi jaringan atau organ tubuh yang mengalami gangguan fungsi akibat stres. Pemberian daging ikan gabus sebagai suplemen pakan menarik untuk diteliti sebagai upaya untuk mendapatkan informasi tentang hubungan antara konsentrasi pemberian daging ikan gabus dalam pakan dengan perbaikan histologis pusat *learning and memory* di hipokampus. Perbaikan histologis pusat *learning and memory* di hipokampus dapat diketahui dari indikator ketebalan lapisan CA3 dan CA1.

METODE PENELITIAN

Hewan uji yang digunakan untuk penelitian adalah tikus Wistar jantan dengan bobot badan \pm 250 g. Sebelum diberi perlakuan, tikus-tikus diaklimasi selama satu minggu dalam kandang individu. Selama aklimasi, tikus-tikus diberi pakan pelet komersial dan minum secara *ad-libitum*. Selanjutnya, setelah aklimasi hewan uji dikondisikan mengalami stres dengan cara tidak diberi pakan selama 6 hari berturut-turut, hanya diberi minum secara *ad-libitum* yang diikuti dengan aktivitas berenang dalam ember tertutup selama 10 menit (Suarsana dkk., 2013).

Desains eksperimen menggunakan rancangan acak lengkap yang terdiri atas 5 perlakuan dengan 4 kali ulangan, yang meliputi P0 (tikus yang mengalami pengondisian stres, diberi pakan tanpa suplementasi daging ikan gabus), selanjutnya berturut-turut P1, P2, P3, dan P4 yaitu tikus yang mengalami pengondisian stres dan diberi pakan dengan suplementasi daging ikan gabus masing-masing 5%, 10%, 15%, dan 20%. Perlakuan setelah pengondisian stres diberikan selama 14 hari berturut-turut, dimulai pada hari ke-8 sampai hari ke-21 secara *ad-libitum*. Selama perlakuan, tikus juga diberi air minum secara *ad-libitum*.

Di akhir percobaan, hewan uji dikorbankan, dibedah, dan dilanjutkan isolasi otak. Otak yang telah diisolasi direndam ke dalam garam fisiologis NaCl 0,95% sampai bersih. Setelah itu, otak ditimbang dengan timbangan analitik dan difiksasi dengan BNF 10% selama 24 jam dan dilanjutkan prosedur pemrosesan untuk pewarnaan histologis hipokampus otak.

Sediaan histologis hipokampus dibuat dengan metode parafin. Sediaan histologis hipokampus selanjutnya diproses dengan pewarnaan Hematoksin-Eosin (Sunarno dkk., 2013; Setyawan, 2013). Prosedur pemrosesan preparat histologi hipokampus diawali dengan pengambilan dan preparasi otak bagian kanan, kemudian diiris tepat dibagian tengah. Hipokampus terletak di bagian mid-dorsolateral. Sampel yang sudah diperoleh kemudian difiksasi dengan larutan BNF 10% selama 24 jam. Tahap selanjutnya adalah dehidrasi sampel ke dalam alkohol dengan konsentrasi, secara berurutan yaitu 70%, 80%, 90%, dan 100%, dengan waktu satu jam, dilanjutkan *clearing* (pencucian) menggunakan silol selama 2 jam. Selesai *clearing*, dilakukan *embedding* (penanaman) sampel ke dalam blok parafin. Blok parafin yang berisi jaringan kemudian ditempelkan secara kuat pada *holder*, selanjutnya *holder* dipasang di bagian *sliding* mikrotom dan jaringan yang tertanam dalam parafin kemudian diiris secara melintang setebal 8 μ m. Irisan kemudian dilekatkan pada gelas objek (*affixing*) dengan menggunakan perekat Meyer's albumin.

Pewarnaan sediaan histologis hipokampus menggunakan prosedur pewarnaan HE yang diawali dengan deparafinasi menggunakan silol dengan 3x celupan, masing-masing celupan

selama 3 menit, dilanjutkan rehidrasi untuk menghilangkan silol dengan memasukkan ke dalam larutan alkohol konsentrasi 100%, 90%, 80%, dan 70%, secara berurutan selama 15 menit. Selesai rehidrasi, dilanjutkan pencucian irisan sediaan histologis hipokampus dengan air mengalir selama 1 menit, dan diikuti pencelupan singkat ke dalam akuades dan selanjutnya ke dalam pewarna hematoksilin selama 15 menit. Tahap selanjutnya adalah pencucian lagi dengan air mengalir selama 5-10 menit, diikuti pencelupan ke dalam pewarna eosin selama 0,25-2 menit. Setelah pewarnaan eosin selesai, sediaan histologis didehidrasi ke dalam larutan alkohol dengan konsentrasi 70%, 80%, 90%, dan 100%, secara berurutan diikuti pencucian menggunakan silol selama 10 menit, kemudian ditetesi dengan entelan, ditutup dengan kaca penutup, dan diberi label.

Sediaan histologis hipokampus yang sudah terwarnai dengan baik kemudian didokumentasi menggunakan fotomikrograf yang terkoneksi dengan komputer dengan bantuan aplikasi *software Mac Biophotonics Image J*. Variabel histologis yang diukur adalah ketebalan lapisan *cornu ammonis*, yaitu CA3 dan CA1. Pengukuran ketebalan lapisan CA3 dan CA1 hipokampus dilakukan pada bagian yang paling tebal dan tipis menggunakan perbesaran 200x pada 4 bidang pandang, kemudian dirata-rata untuk memperoleh data ketebalan lapisan tersebut.

Hasil pengukuran ketebalan lapisan CA3 dan CA1 yang diperoleh setelah pengamatan histologis diuji dengan ANOVA dengan signifikansi 95%. Apabila terdapat pengaruh yang nyata dari suplementasi daging ikan gabus dalam pakan terhadap ketebalan lapisan CA3 dan CA1 hipokampus, maka dilanjutkan dengan uji Duncan (*Duncant Multi Range Tests*) dengan signifikansi 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis rata-rata ketebalan lapisan CA3 dan CA1 hipokampus tikus Wistar pasca stres yang mendapat perlakuan pakan dengan suplemen daging ikan gabus disajikan pada Tabel 1.

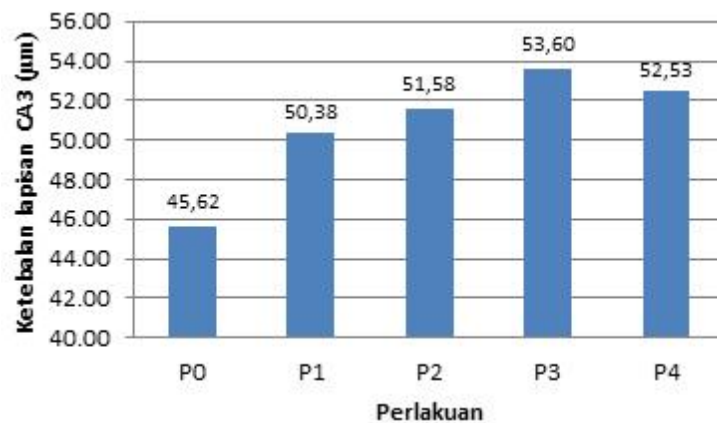
Tabel 1. Hasil analisis rata-rata ketebalan lapisan CA3 dan CA1 hipokampus tikus Wistar pasca stres yang diberi perlakuan pakan dengan suplementasi daging ikan gabus selama 14 hari.

Variabel	Perlakuan			
	P0	P1	P2	P3

Ketebalan CA3 (μm^2)	45,62 ^b ±1,56	50,38 ^a ±0,45	51,58 ^a ±2,73	53,60 ^a ±1,96	52,53 ^a ±4,25
Ketebalan CA1 (μm^2)	25,97 ^b ±0,90	35,58 ^{ab} ±7,69	36,27 ^{ab} ±0,24	46,31 ^a ±13,62	38,49 ^{ab} ±2,14

Keterangan: Angka yang ditunjukkan dengan superskrip yang berbeda pada baris yang sama berarti berbeda nyata ($P < 0,05$). P0: Kontrol, P1, P2, P3, dan P4 adalah tikus yang mengalami pengondisian stres yang diberi pakan dengan suplementasi daging ikan gabus dalam pakan, secara berurutan dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, dan 20%.

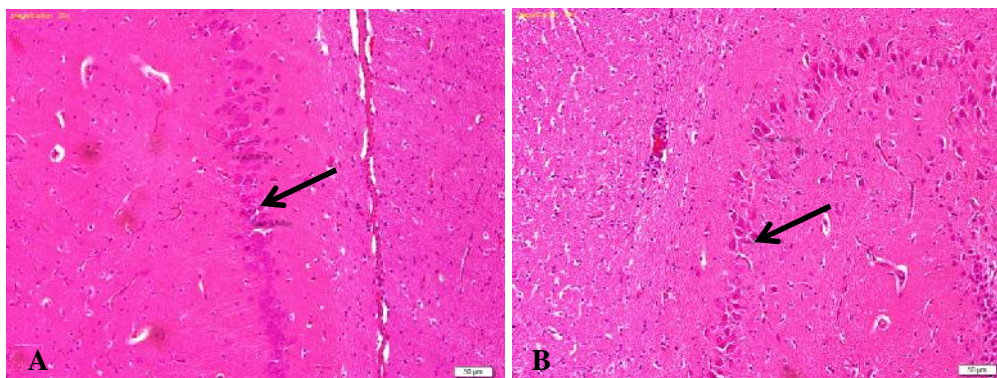
Hasil analisis pemberian suplemen daging ikan gabus terhadap ketebalan CA3 hipokampus otak tikus dengan *Analysis of Variance* (ANOVA) menunjukkan hasil berbeda nyata ($P < 0,05$). Hasil tersebut menunjukkan bahwa pemberian pakan dengan suplementasi daging ikan gabus memberikan pengaruh nyata terhadap ketebalan CA3 hipokampus otak tikus pasca stres. Hasil penelitian ini didukung oleh Bardy *et al.* (2015) yang menyatakan bahwa dalam medium basal neuron yang diperkaya dengan protein dapat meningkatkan aktivasi sinaptik dan pembentukan potensial aksi neuron yang berfungsi dalam memori dan komunikasi. Nicholson (2004) menyatakan bahwa peningkatan aktivitas sinaptik mempunyai keterkaitan erat dengan simpanan informasi, mendukung proses belajar atau mengingat, dan kemampuan kognitif. Hal tersebut merupakan indikasi bahwa struktur dan fungsi lapisan CA3 hipokampus berfungsi dengan baik. Hasil penelitian Serrano dan Klann (2004) juga menguatkan bahwa perbaikan sinaptik neuron-neuron penyusun hipokampus, terutama pada bagian *cornu ammonis* memiliki keterkaitan dengan ketersediaan protein-protein intraseluler yang bersumber dari pakan. Knierim *et al.* 2006 menyatakan bahwa perbaikan fisiologis dan biokimiawi akan memberi pengaruh pada struktur dan anatomi hipokampus, khususnya neuron-neuron pada lapisan CA3 yang berperan dalam fungsi *learning and memory* maupun kognitif.



Gambar 1. Ketebalan lapisan CA3 hipokampus otak setelah pengondisian stres 6 hari yang diikuti pemberian suplementasi daging ikan gabus dalam pakan selama 14 hari pada hewan uji

Hasil analisis dengan Uji Duncan dengan signifikansi 95% menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata antara P0 dengan P1, P2, P3, dan P4, tetapi tidak terdapat perbedaan nyata antara keempat perlakuan tersebut. Ketebalan CA3 hipokampus tertinggi adalah 53,604 μm yaitu pada P3; sedangkan P1 adalah 50,380 μm ; P2 adalah 51,580 μm ; P4 adalah 52,532 μm ; dan P0 adalah 45,624 μm (Tabel 1).

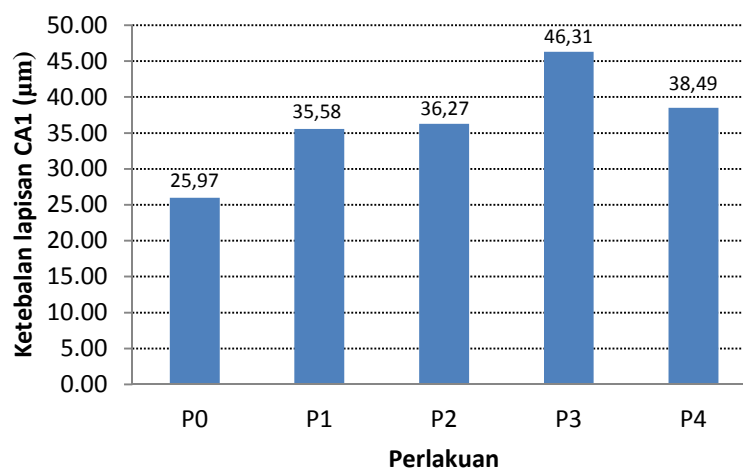
Respons ketebalan lapisan CA3 hipokampus yang berbeda nyata dari ke empat perlakuan dengan kontrol dapat disebabkan oleh ketersediaan nutrisi yang dibutuhkan untuk perbaikan hipokampus yang berbeda. Pakan dengan suplementasi daging ikan gabus memberi pengaruh pada ketersediaan nutrisi yang lebih baik untuk perbaikan lapisan CA3 di hipokampus dibanding pakan tanpa suplementasi daging ikan gabus. Suplementasi daging ikan gabus ke dalam pakan menunjang ketersediaan protein, asam amino-asam amino, vitamin, dan mineral-mineral penting yang dibutuhkan oleh sel-sel piramida di daerah CA3 sebagai bahan baku sintesis protein. Peningkatan sintesis protein jaringan sangat menunjang proses perbaikan jaringan pasca stres.



Gambar 2. Ketebalan lapisan CA3 hipokampus otak pada tikus yang mengalami pengondisian stres yang diikuti pemberian pakan dengan suplementasi daging ikan gabus 0% (A) dan 15% (B); tanda panah menunjukkan ketebalan lapisan CA3.

Cajigas *et al.*, 2010 menyatakan, peningkatan sintesis protein jaringan terutama di lapisan CA3 hipokampus dapat menginduksi terjadinya peningkatan integrasi sinaptik yang akhirnya memicu potensiasi jangka panjang. Peningkatan sintesis protein dan aktivitas

metabolik dalam sel piramida juga meningkatkan ukuran badan sel neuron piramida di CA3 yang akhirnya menyebabkan peningkatan ketebalan CA3 (Bianchi *et al.*, 2013). Ketersediaan protein jaringan memiliki keterkaitan dengan pemeliharaan dan sintesis antioksidan intraseluler, memperbaiki integritas seluler, dan mencegah kerusakan jaringan (Schade *et al.* 2009; Fernandes *et al.* 2010). Hasil penelitian lainnya menunjukkan bahwa glutamin dan vitamin B6 mempunyai peran penting dalam proses transaminasi asam-asam amino dan semua proses metabolisme asam-asam amino (Wang *et al.* 2007). Daging ikan gabus dengan kandungan protein, asam-asam amino seperti glutamin, sisten, dan glisin, vitamin dan mineral dimungkinkan dapat menunjang transport asam amino dan ion-ion sodium ke dalam sel. Kondisi ini dapat memicu perubahan komposisi protein intraseluler dan volume sel, mendukung sintesis protein, dan meningkatkan ketersediaan substrat untuk beberapa sistem yang dilibatkan dalam proses perbaikan jaringan (Cruzat *et al.* 2007). Glutamin telah diketahui dapat memelihara aktivitas Na^+-K^+ dan $Ca^+-ATPase$, meningkatkan energi metabolisme seluler, melindungi struktur dan fungsi mitokondria, retikulum endoplasma kasar, menurunkan produksi radikal bebas oksigen, mencegah kerusakan sel, dan memperbaiki sel-sel (Jun *et al.* 2006).

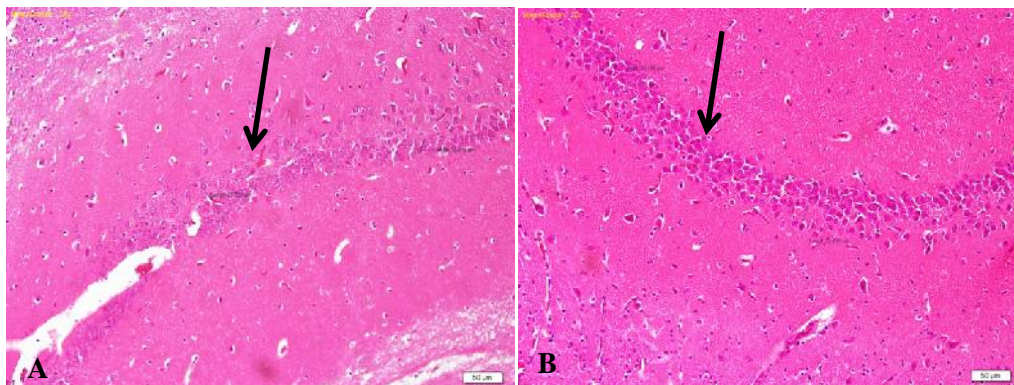


Gambar 3. Ketebalan lapisan CA1 hipokampus setelah pengondisian stres 6 hari yang diikuti pemberian pakan dengan suplementasi daging ikan gabus dalam konsentrasi yang berbeda selama 14 hari pada hewan uji.

Hasil analisis pemberian suplemen daging ikan gabus terhadap ketebalan CA1 hipokampus otak tikus dengan *Analysis of Variance* (ANOVA) menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($P>0,05$). Hasil tersebut menunjukkan bahwa suplementasi daging ikan gabus

dalam pakan memberi pengaruh terhadap ketebalan lapisan CA1 hipokampus tikus setelah pengondisian stres selama 6 hari (Gambar 3).

Neuron piramida pada lapisan CA1 dimungkinkan lebih rentan terhadap radikal bebas dibanding pada lapisan CA3 akibat stres. Tingginya tingkat kerentanan ini dapat diimbangi dengan ketersediaan protein, asam-asam amino, vitamin, dan mineral yang dibutuhkan untuk peningkatan sintesis protein pada sel neuron piramida di CA1 yang berakibat pada tercukupinya konsentrasi protein intraseluler. Hal tersebut akhirnya berpengaruh pada proses perbaikan dendrit neuron piramida CA1 hipokampus yang mengalami gangguan akibat stres (Wiyono dkk., 2007; DeGracia, 2007). Perbaikan kumpulan dendrit neuron pada lapisan CA1 akhirnya berpengaruh pada peningkatan ukuran ketebalan lapisan CA1 yang akhirnya memberi hasil berbeda nyata antara kontrol dengan perlakuan seperti pada penelitian ini.



Gambar 4. Ketebalan lapisan CA1 hipokampus pada tikus yang mengalami pengondisian stres yang diikuti pemberian pakan dengan suplementasi daging ikan gabus 0% (A) dan 15% (B); tanda anak panah menunjukkan lapisan CA1.

Ketebalan CA1 pada hipokampus tikus setelah pemberian pakan dengan suplementasi daging ikan gabus pasca stres ditunjukkan pada Gambar 4. Suplementasi protein daging ikan gabus dalam pakan diduga dapat meningkatkan aktivitas metabolisme intraseluler, terutama proses sintesis protein pada neuron piramida yang masih hidup dari kondisi stres dan memberi kontribusi terhadap peningkatan ukuran badan sel (Pena *et al.*, 2001). Selanjutnya, hasil analisis Uji Duncan dengan signifikansi 95% menunjukkan bahwa terdapat perbedaan antara P3 dengan P0, tetapi tidak terdapat perbedaan nyata antara P3 dengan P1, P2, dan P4. Hasil analisis juga menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang nyata antara P0 dengan P1, P2, dan P4. Adanya perbedaan nyata respons ketebalan CA1 antara pengaruh pakan dengan suplementasi daging ikan gabus konsentrasi 15% dengan kontrol menunjukkan bahwa

suplementasi daging ikan gabus 15% memberi pengaruh terhadap peningkatan ketebalan lapisan CA1. Protein daging ikan gabus berperan sebagai bahan baku sintesis neurotransmitter GABA (asam gamma amino butirat) dalam sel-sel granula di girus dentat. GABA ditranspor sepanjang *mossy fibers* (kumpulan akson sel-sel granula) dan kemudian dialirkan ke sel-sel piramida CA3 dan menstimulasi sel-sel tersebut. Adanya aktivasi sel-sel piramida pada CA3 akan mengaktivasi sel-sel piramida pada CA1 sehingga sel-sel piramida pada CA1 dapat bertahan hidup (Pedroni *et al.*, 2014; Hsu, 2007).

Berdasarkan analisis terhadap hasil penelitian telah memberi bukti bahwa pemberian pakan dengan suplementasi daging ikan gabus (*Channa striata*) selama 14 hari pada tikus Wistar pasca stres dengan pengondisian stres selama 6 hari dapat meningkatkan ketebalan lapisan CA3 dan CA1 hipokampus. Berdasarkan hal tersebut, penggunaan daging ikan gabus sebagai suplemen pakan sangat dianjurkan untuk menunjang proses regenerasi atau perbaikan jaringan saraf dan jaringan tubuh lainnya yang mengalami perubahan struktur dan penurunan fungsi akibat stres.

KESIMPULAN

Pemberian pakan dengan suplementasi daging ikan gabus dengan konsentrasi 15% mampu memperbaiki secara optimal struktur histologis hipokampus otak akibat stres, yang ditandai dengan peningkatan ketebalan lapisan CA3 dan CA1.

DAFTAR PUSTAKA

- Ansar. 2010. *Pengolahan dan Pemanfaatan Ikan Gabus*. Kementerian Pendidikan Nasional Direktorat Jenderal Pendidikan Nonformal dan Informal Direktorat Pendidikan Kesetaraan. ISBN, Jakarta.
- Balaban RS, Nemoto S, Finkel T. 2005. Mitochondria, oxidants, and aging. *Cell* 120:483-495.
- Bardy, C., M. van den Hurk, T. Eames, C. Marchand, R. V. Hernandez, M. Kellogg, M. Gorris, B. Galet, V. Palomares, J. Brown, A. G. Bang, J. Mertens, L. Böhnke, L. Boyer, S. Simon and F. H. Gage. 2015. Neuronal Medium That Supports Basic Synaptic Functions and Activity of Human Neurons In-Vitro. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112(25): E2735-E2734.
- Barja G. 2004. Aging in vertebrates, and the effect of caloric restriction: a mitochondrial free radical production-DNA damage mechanism. *Biol Rev Camb Philosoph Soc* 79:235-251.
- Bianchi, S., C. D. Stimpsona, T. Duka, M. D. Larsen, W. G. M. Janssen, Z. Collins, A. L. Bauernfeind, S. J. Schapiro, W. B. Baze, M. J. McArthur, W. D. Hopkins, D. E. Wildman, L. Lipovich, C. W. Kuzawa, B. Jacobs, P. R. Hof and C. C. Sherwood. 2013. Synaptogenesis and Development of Pyramidal Neuron Dendritic Morphology in the

- Chimpanzee Neocortex Resembles Humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110(2): 10395–10401.
- Cajigas, I. J., T. Will and E. M. Schuman. 2010. Protein Synthesis and Synaptic Plasticity. *The EMBO Journal* 29: 2746–2752.
- 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.
- Daren, K. H., R. Dhaliwalm, R. D. A. Day, J. Drover, H. Cote and Paul Wischmeyer. 2007. Optimizing The Dose of Glutamine Dipeptides and Antioxidants in Critically III Patients: a phase I dose-finding study. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* 31(2): 109-118.
- DeGracia, D. J., J. Rudolph, G. G. Roberts, J. A. Rafols and J. Wang. 2007. Convergence of Stress Granules and Protein Aggregates in Hippocampal Cornu Ammonis 1 at Later Reperfusion Following Global Brain Ischemia. *Neuroscience* 146: 562–572.
- Deutz, N. E. P., J. M. Bauer, R. Barazzoni, G. Biolo, Y. Boirie, A. B. Westphal, T. Cederholm, A. C. Jentoft, Z. Krznaric, K. S. Nair, P. Singer, D. Teta, K. Tipton and P. C. Calder. 2014. Protein Intake and Exercise for Optimal Muscle Function With Aging: Recommendations from The ESPEN Expert Group. *Clinical Nutrition* 33: 929-936.
- 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 Pasarikan* 86: 4-5.
- Fernandes, V., M. M. Rogero and J. Tirapegui. 2010. Effects of Supplementation with Free Glutamine and the Peptide Alanyl-Glutamine on Parameters of Muscle Damage and Inflammation in Rats Submitted to Prolonged Exercise. *Cell Biochem Funct* 28: 24-30.
- Hsu, D. 2007. The Dentate Gyrus as A Filter or Gate: A Look Back and A Look Ahead. *Progress in Brain Research* 163(32): 601-613.
- Jiang JM, Wang Z, Dong D. 2004. Effects of AGEs on oxidation stress and antioxidation abilities in cultured astrocytes. *Biomed Environ Sci* 17:79-86.
- Jun C, Dai CL, Zhang X, Cui K, Xu F, Xu YQ. 2006. Alanyl-glutamine dipeptide inhibits hepatic ischemia-reperfusion injury in rats. *World J Gastroent* 12(9): 1373-1378.
- Kim, J. J and D. M. Diamond. 2002. The Stressed Hippocampus, Synaptic Plasticity, and Lost Memories. *Neuroscience* 3: 453-462.
- Knierim, J. J., I. Lee and E. L. Hargreaves. 2006. Hippocampal Place Cells: Parallel Input Streams, Subregional Processing, and Implications for Episodic Memory. *Hippocampus* 16:755-764.
- Kujoth GC, Bradshaw PC, Haroon S, Prolla TA. 2007. The role of mitochondrial DNA mutations in mammals aging. *Plos Genet* 23:e24.
- 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.
- Nakatomi, H, T. Kuriu, S. Okabe, S. Yamamoto, O. Hatano, N. Kawahara, A. Tamura, T. Kirino and M. Nakafuku. 2002. Regeneration of Hippocampal Pyramidal Neurons after Ischemic Brain Injury by Recruitment of Endogenous Neural Progenitors. *Cell* 110: 429-441.
- Nicholson DA. 2004. Reduction in size of perforated postsynaptic densities in hippocampal axospinous synapses and age-related spatial learning impairments. *J Neurosci* 24:7648.

- Pedroni, A., D. D. Minh, A. Mallamaci and E. Cherubini. 2014. Electrophysiological Characterization of Granule Cells in the Dentate Gyrus Immediately After Birth. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 8(44): 1-9.
- Pena, E., M. T. Berciano, R. Fernandez, J. L. Ojeda and M. Lafarga. 2001. Neuronal Body Size Correlates With the Number of Nucleoli and Cajal Bodies, and With the Organization of the Splicing Machinery in Rat Trigeminal Ganglion Neurons. *Journal of Comparative Neurology* 430: 250–263.
- 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. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0531556504000506>.
24 September 2015.
- Rosenbloom, C. 2009. Protein for Athletes: Quantity, Quality, and Timing. *Nutrition and Physical Activity* 44(5): 204-210.
- 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.
- Schade, R. S. M, M. Grundling, D. Pavlovic, K. Starke, M. Wendt, S. Retter, M. Murphy, U. Suchner, A. Spassov, T. Gedrange and C. H. Lehmann. 2009. Glutamine and Alanyl-Glutamine Dipeptide Reduce Mesenteric Plasma Extravasation, Leucocyte Adhesion and Tumor Necrosis Factor-Alpha. *Journal of Physiology and Pharmacology* 60 (8): 19-24.
- Serra V, Zglinicki T, Lorenz M, Saretzki G. 2003. Extracellular superoxide dismutase is a major antioxidant in human fibroblasts and slows telomere shortening. *J Biol Chem* 278:6824-6830.
- Speakman JR, Talbot DA, Selman C, Snart S, McLaren JS, Redman P, Krol E, Jackson DM, Johnson MS, Brand MD. 2004. Uncoupled and surviving: individual mice with high metabolism have greater mitochondrial uncoupling and live longer. *Aging Cell* 3:87-94.
- Serrano F, Klann E. 2004. Reactive oxygen species and synaptic plasticity in the aging hippocampus. *Ageing Res Rev* 3:431.
- Setyawan, N. 2013. Gambaran Mikroanatomi pada Insang Ikan Sebagai Indikator Pencemaran Logam Berat di Perairan Kaligarang Semarang. *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.
- Suarsana, I. N., T. Wresdiyati dan A. Suprayogi. 2013. Respon Stres Oksidatif dan Pemberian Isoflavon terhadap Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase dan Peroksidasi Lipid pada Hati Tikus. *JITV* 18(2): 146-152.
- Sunarno, W. Manalu, N. Kusumorini dan D. R. Agungpriyono. 2013. Perbaikan Respons Seluler pada Penuaan Hipokampus yang Diperantarai *Glutation* Hasil Pemberian Alanin-glutamin Dipeptida. *Jurnal Veteriner* 14(1): 61-71.
- Wang, L., T. J. Maher and R. J. Wurtman. 2007. Oral L-Glutamine Increases GABA Level in Striatal Tissue and Extracellular Fluid. *The FASEB Journal* 21: 1227-1232.
- Wiyono, N., S. Aswin dan Harijadi. 2007. Hubungan Antara Tebal Lamina Pyramidalis CA1 Hippocampus dengan Memori Kerja pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Pascastres Kronik. *Jurnal Anatomi Indonesia* 3(1): 104-111.

