

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK IKAN GABUS (*Channa striata*) PADA STRUKTUR HISTOLOGI HATI MENCIT (*Mus musculus*) HIPERGLIKEMIK

Nama Mahasiswa : Dwi Indah Latifah Ningrum
NRP : 1510 100 045
Jurusan : Biologi
Dosen Pembimbing : Dra. Nurlita Abdulgani, M.Si

Abstrak

Kondisi hiperglikemik dapat menyebabkan kerusakan jaringan hati. Pemberian albumin dapat meregenerasi jaringan hati. Ekstrak ikan gabus (Channa striata) banyak mengandung albumin sehingga dilakukan penelitian potensi ekstrak ikan gabus untuk meregenerasi jaringan hati mencit (Mus musculus) hiperglikemik.

Hiperglikemik pada mencit diinduksi dengan aloksan dosis tunggal 190 mg/kg berat badan secara intraperitoneal. Terapi menggunakan ekstrak ikan gabus dilakukan selama 14 hari dengan dosis bervariasi. Pengukuran kadar glukosa darah menggunakan glukometer Accu-Check Roche®. Preparasi histologi hati mencit dengan metode irisan paraffin pewarnaan haematoxylin-eosin, pengamatan dilakukan dengan mikroskop fotografi Olympus® BX-41.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terapi ekstrak ikan gabus dapat meregenerasi jaringan hati paling baik pada dosis 0,14846 ml/hari, dengan persentase perbaikan dari kondisi hiperglikemik sebesar 80,56%.

Kata kunci: Channa striata, diabetes, glukosa darah, hati.

THE INFLUENCES OF SNAKE-HEAD FISH (*Channa striata*)
EXTRACT ON HEART HISTOLOGY OF HYPERGLYCEMIC
WHITE-MICE (*Mus musculus*)

Student Name : Dwi Indah Latifah Ningrum
NRP : 1510 100 045
Department : Biology
Supervisor : Dra. Nurlita Abdulgani, M.Si

Abstract.

Hyperglycemic conditions can cause tissue damage in the heart. Albumin can regenerate tissue of liver. Snake-head fish (*Channa striata*) extract contain of albumines so that researched about potential of snake-head fish extract to regenerate tissue of liver of white-mice (*Mus musculus*) hyperglycemic. Hyperglycemic of white-mice induced by alloxan single dose of 190 mg/kg body weight intraperitoneally. Therapy use snake-head fish extract conducted for 14 days with varying doses. Measurement of blood glucose level using glucometer of Roche Accu-Check[®]. Preparation of white-mice liver histology with paraffin slices method staining with haematoxylin-eosin, observations were made with a microscope photography of Olympus[®] BX-41. The results showed that the fish extract cork therapy can regenerate liver tissue are best at doses 0.14846 ml / day, with the percentage improvement of hyperglycemic condition by 80.56%.

Keywords : *Channa striata*, diabetic, blood glucose, liver

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan Gabus (*Channa striata*)

Klasifikasi ikan gabus (Gambar 2.1.) menurut Suprayitno (2008) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
Phylum : Chordata
Classis : Actinopterygii
Ordo : Perciformis
Family : Channidae
Genus : Channa
Species : *Channa striata*



Gambar 2.1. Ikan Gabus (*Channa striata*) (Santoso, 2009).

Ikan gabus merupakan ikan air tawar yang melakukan pemijahan secara alami selama musim hujan (Bijaksana, 2012). Ikan gabus merupakan ikan karnivora yang suka memakan hewan lain yang lebih kecil, seperti cacing, udang, ketam, plankton dan udang renik (Djuhanda, 1981).

Menurut Fadli (2010) dan Sunatrio (2003) kandungan-kandungan penting yang ada pada ikan gabus (*Channa striata*) seperti 70% protein (3.36 g/100ml), 21% albumin (2.17g/100ml), asam amino lengkap, mineral-mineral penting antara lain Zn (3.43 mg/100ml), Cu (2,34 mg/100ml), dan Fe (0.81 mg/100ml). Jumlah protein yang terkandung dalam ekstrak ikan gabus ini sangat tinggi dibanding sumber protein hewani lainnya.

Albumin, sebagai protein plasma dengan kadar terbanyak merupakan sumber antioksidan hewani yang berfungsi sebagai pengikat radikal sehingga berperan dalam proses pembersihan dan penangkapan ROS (Sunatrio, 2003). Ekstrak ikan gabus memiliki aktivitas antioksidan $0,14 \pm 0.003$ mmol/l, atau sebanding dengan 90,93% aktivitas antioksidan vitamin E. Hal ini menunjukkan ekstrak ikan gabus dapat difungsikan sebagai antioksidan. Albumin melimpah akan gugus (-SH) yang berfungsi sebagai pengikat radikal sehingga berperan dalam proses pembersihan dan penangkapan *Reactive Oxygen Species* (Santoso, 2009). Selain itu albumin juga bersinergi dengan mineral Zn yang sangat dibutuhkan untuk perkembangan sel maupun pembentukan jaringan sel baru seperti akibat luka dan penyembuhan luka akibat operasi. Zn membantu sekresi dan metabolisme insulin, serta melindungi efek kerusakan pankreas. Zn juga berfungsi sebagai antioksidan yang melindungi sel-sel, mempercepat proses penyembuhan luka, mengatur ekspresi dalam limfosit dan protein, memperbaiki nafsu makan dan stabilisasi berat badan (Gibson, 2005). Sedangkan kalsium diyakini dapat meningkatkan sensitivitas, respon dan sekresi insulin (Dianitami, 2009).

Ikan gabus yang tidak disukai karena baunya yang amis ini, dapat dimodifikasi menjadi suplemen makanan yang berfungsi menjaga metabolisme tubuh, menaikkan kadar albumin, dan mempercepat pemulihan kesehatan. Ikan gabus diracik sedemikian rupa, dibuat serbuk, kemudian dimasukkan dalam kapsul. Bau amis ikan yang tak disukai itu pun hilang, tak terasa lagi. Hampir semua pasien berkadar albumin rendah yang diberi suplemen dari ikan gabus ini, kadar albuminnya naik lebih cepat daripada pemberian albumin lewat infus. Bahkan, pasien berkadar albumin rendah yang diikuti komplikasi penyakit lain seperti TB, diabetes, patah tulang, stroke, hingga HIV/AIDS, kondisinya bisa lebih baik dengan pemberian ekstrak ikan gabus. Begitu juga pada anak dengan gizi buruk dan berat badan kurang, pemberian

biskuit dari ekstrak ikan gabus membuat berat badan balita dapat naik minimal 1 kilogram per bulan (Astuti, 2008).

Ikan tersebut memiliki protein yang sangat tinggi, ikan ini dapat dijadikan alternatif sumber albumin bagi penderita hipoalbumin (rendah albumin) dan luka, baik luka pasca operasi maupun luka bakar. Bahkan, di daerah pedesaan, anak laki-laki pasca khitan selalu dianjurkan mengkonsumsi ikan jenis ini agar penyembuhan lebih cepat. Daging ikan tersebut dikukus atau disteam sehingga memperoleh filtrat, yang dijadikan menu ekstra bagi penderita hipoalbumin dan luka. Dalam tubuh manusia, albumin disintesis oleh hepar kira-kira 100-200 mikrogram/g jaringan hati setiap hari. Albumin didistribusikan secara vaskuler dalam plasma dan secara ekstrasvaskuler dalam kulit, otot, serta beberapa jaringan lain (Yanti, 2009).

Albumin adalah rantai peptida tunggal terdiri dari 585 asam amino dan mengandung 17 buah ikatan disulfida. Ikatan sulfida (S-S) mempertahankan stabilitas rantai. Konfigurasi albumin terdiri dari 67% alfa helix dan 10 % beta putaran. Albumin merupakan protein utama dalam plasma manusia (kurang lebih 3,4 – 4,7g/dL) dan menyusun sekitar 60% dari total plasma. Sekitar 40% dari albumin terdapat dalam plasma, dan 60 % lainnya ditemukan ekstrasvaskuler (Murray, 2003).

Albumin merupakan protein sederhana, berstruktur globular yang tersusun dari ikatan polipeptida tunggal dengan susunan asam amino sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Komposisi Asam Amino Albumin

Asam Amino	Albumin Serum (g AA/100 g protein)
Glisin	1,8
Alanin	6,3
Valin	5,9
Leusin	12,3
Isoleusin	2,,6
Serin	4,2
Treonin	5,8
Sistein ^½	6,0
Metionin	0,8
Fenilalanin	0,6
Tirosin	5,1
Prolin	4,8
Asam Aspartat	10,9
Asam Glutamat	16,5
Lisin	12,9
Arginin	5,9
Histidin	4,0

Sumber : Santoso (2009)

Albumin dihasilkan oleh hati 9- 12 gram perhari. Albumin pada mulanya disintesis sebagai preprotein. Peptida sinyalnya dilepaskan ketika preprotein melintas ke dalam sisterna retikulum endoplasma kasar, dan heksapeptida pada ujung terminal – N yang dihasilkan itu kemudian dipecah lebih lanjut disepanjang lintasan sekretorik. Produksi albumin dikontrol oleh perubahan tekanan osmotik koloid dan osmolalitas ruang ekstrasvaskular hati. Sintesis albumin ditingkatkan oleh insulin/T4 atau kortisol. Albumin tidak disimpan dalam tubuh. Peningkatan kadar albumin disebabkan karena dehidrasi, penggunaan glukokortikoid berlebihan, gagal jantung kongestif. Sedangkan penurunan kadar albumin didapatkan pada disfungsi hepar, malnutrisi, malnutrisi, diare, luka bakar, penyakit inflamasi dan kelainan idiopatik dan kongenital.

2.2 Diabetes Mellitus

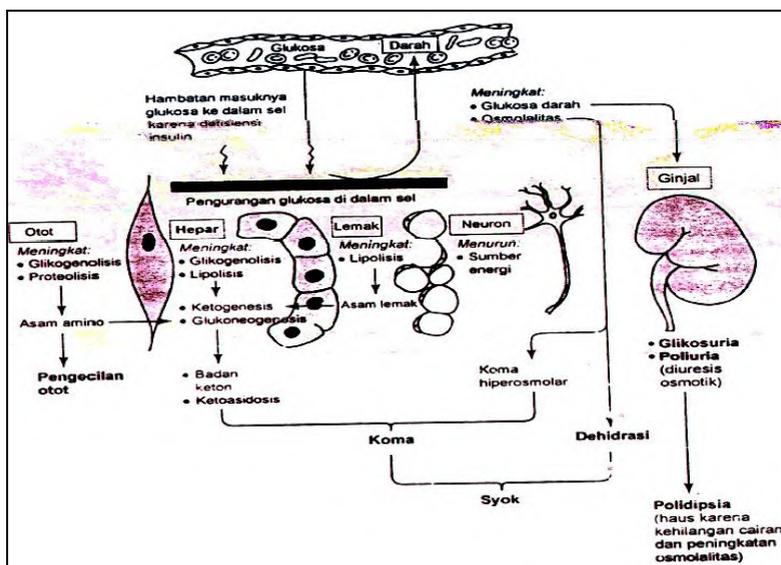
Diabetes mellitus merupakan gangguan metabolisme kronik yang ditandai dengan tingginya konsentrasi glukosa di dalam darah atau disebut juga hiperglikemia, yang disebabkan oleh kekurangan insulin atau dikombinasikan dengan terjadinya resistensi insulin. Hiperglikemia terjadi karena pengeluaran glukosa dari hati yang tidak terkontrol dan berkurangnya sintesis glikogen (Rang *et al*, 2007). Insulin merupakan hormon yang berperan dalam metabolisme glukosa khususnya sebagai perantara masuknya glukosa di dalam darah ke sel-sel jaringan tubuh lainnya seperti otot dan jaringan lemak (Reinauer *et al*, 2002). Tidak adanya atau tidak memadainya produksi hormon insulin akan mengakibatkan diabetes melitus tipe 1, terutama ditandai dengan penurunan berat badan, gejala 3 p (polifagia, polidipsia, poliuria) dan umumnya ditemukan pada usia anak-anak hingga remaja. Sedangkan peningkatan resistensi insulin dengan penurunan kuantitas insulin menyebabkan diabetes tipe 2, yang dicirikan oleh tubuh yang gemuk dan usia menengah keatas (Amma, 2009).

Penyakit diabetes melitus dapat dideteksi dengan melakukan pemeriksaan glukosa darah atau urin. Pemeriksaan glukosa darah spesifik dilakukan dalam keadaan puasa (8-10 jam setelah makan). Kadar glukosa darah puasa pada orang normal berkisar antara 70 sampai 120 mg/dL. Konsentrasi tersebut bisa bertambah tinggi pada keadaan setelah makan, yaitu 180 mg/dL dan akan kembali normal dalam waktu 2 jam. Apabila hasil dua kali pemeriksaan pada waktu yang berbeda menunjukkan kadar glukosa darah puasa lebih dari 140 mg/dL, seseorang dapat didiagnosis menderita penyakit diabetes (Mathur & Shiel, 2003).

2.2.1 Mekanisme timbulnya diabetes

Gejala klasik diabetes mellitus disebabkan oleh kelainan metabolisme glukosa. Kurangnya aktivitas insulin menyebabkan kegagalan pemindahan glukosa dari plasma ke dalam sel. Tubuh merespons dengan stimulasi glikogenolisis, glukoneogenesis dan lipolisis yang menghasilkan badan keton. Glukosa yang diserap

ketika makan tidak dimetabolisme dengan kecepatan normal sehingga terkumpul didalam darah (hiperglikemia) dan diekskresi ke dalam urine (glikosuria) dan menyebabkan diuresis osmotik sehingga meningkatkan produksi urine (poliuria). Kehilangan cairan dan hiperglikemia meningkatkan osmolaritas plasma, yang merangsang pusat rasa haus (polidipsia) (Chandrasoma, 2005). Untuk lebih jelasnya mekanisme terjadinya diabetes, dapat dilihat pada gambar 2.2. dengan penggambaran metabolisme abnormal dan simtomatologi utama pada diabetes millitus.



Gambar 2.2. Metabolisme Abnormal dan Simtomatologi Utama pada Diabetes Mellitus (Chandrasoma, 2005).

Mekanisme timbulnya penyakit diabetes mellitus adalah sebagai berikut : Pada kondisi normal, glukosa dalam tubuh yang berasal dari makanan diserap ke dalam aliran darah dan bergerak ke sel-sel di dalam tubuh. Glukosa tersebut kemudian dimanfaatkan sebagai sumber energi. Pengubahan glukosa dalam darah menjadi energi dilakukan oleh hormon insulin yang

dihasilkan oleh kelenjar pankreas. Hormon insulin juga berfungsi untuk mengatur kadar glukosa dalam darah.

Secara normal, glukosa akan masuk ke sel-sel dan kelebihanannya dibersihkan dari darah dalam waktu 2 jam. Namun apabila insulin yang tersedia jumlahnya terbatas atau tidak bekerja dengan normal, maka sel-sel di dalam tubuh tidak terbuka dan glukosa akan terkumpul dalam darah. Kadar glukosa darah ≥ 10 mmol/liter merupakan kondisi di atas ambang serap ginjal. Apabila kadar glukosa dalam darah berlebihan, maka sebagian glukosa kemudian dibuang bersama urin (Kurnia *et al*, 2005).

Hiperglikemia timbul karena penyerapan glukosa ke dalam sel terhambat serta metabolismenya terganggu. Pada keadaan normal kira-kira 50% glukosa yang masuk ke dalam tubuh mengalami metabolisme sempurna menjadi CO₂ dan H₂O pada jaringan adiposa melalui proses glikolisis, 15% menjadi glukagon pada jaringan hepar melalui proses glikogenesis dan kira-kira 30-40% diubah menjadi lemak pada jaringan adiposa.

2.3 Pengaturan Kadar Glukosa Darah

Pengaturan kadar glukosa dalam darah dipengaruhi oleh organ-organ tertentu. Organ yang paling penting itu adalah pankreas dan hati. Pengaturan kadar glukosa yang stabil dalam darah adalah mekanisme homeostatik yang merupakan kesatuan proses ikut berperannya hati, jaringan ekstra hepatic dan beberapa hormon. Pada kondisi kadar glukosa darah normal (80-100 mg/dl), hati ternyata merupakan satu-satunya penghasil glukosa. Pada keadaan pasca absorpsi, kadar glukosa darah pada manusia bervariasi antara 80-100 mg, sedangkan pada kondisi puasa, kadarnya menurun menjadi sekitar 60-70mg (Suharmiati, 2006).

Hasil pencernaan makanan diabsorpsi usus, glukosa dialirkan ke hati melalui vena porta. Sebagian dari glukosa tersebut disimpan sebagai glikogen. Pada saat itu kadar glukosa dalam vena porta lebih tinggi daripada kadarnya dalam vena hepatic. Glikogen dalam hati dipecah lagi menjadi glukosa, setelah absorpsi selesai. Pada saat ini kadar glukosa dalam vena

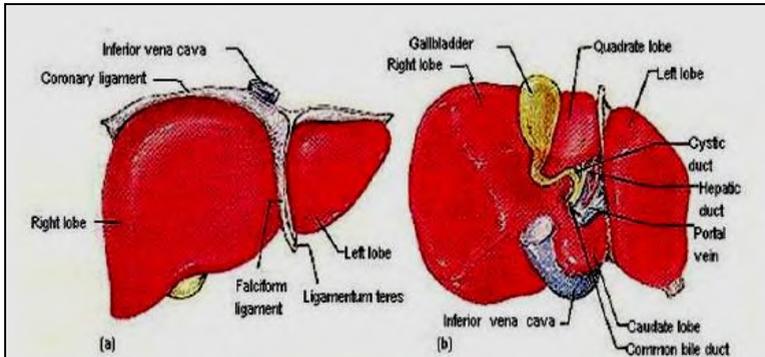
hepatik lebih tinggi daripada kadarnya dalam vena porta. Dalam keadaan biasa, persediaan glikogen dalam hepar cukup untuk mempertahankan kadar glukosa darah selama beberapa jam. Bila hepar terganggu fungsinya, mudah terjadi hipoglikemia maupun hiperglikemia. Hormon pankreas yang penting dalam mengatur metabolisme karbohidrat adalah glukagon. Glukagon menyebabkan glikogenolisis dengan jalan merangsang adenilsiklase, suatu enzim yang penting untuk mengaktifkan enzim fosforilase. Enzim fosforilase berperan dalam glikogenolisis. Penurunan cadangan glikogen hepar menyebabkan bertambahnya deaminasi dan transaminasi asam amino, sehingga glukoneogenesis di hati jadi lebih aktif (Del Prato, 2005).

Tanpa insulin, kontraksi otot dapat menyebabkan glukosa lebih banyak masuk ke dalam sel. Suatu kerja fisik akan mengurangi kebutuhan insulin, sehingga mudah terjadi hipoglikemia. Seorang penderita diabetes mellitus yang bekerja lebih berat dari biasanya, harus mendapat ekstra kalori atau dosis insulin yang lebih rendah. Hiperglikemia dapat disebabkan oleh berbagai keadaan. Semua keadaan yang menghambat produksi dan sekresi insulin, terdapatnya zat-zat yang bersifat anti-insulin dalam darah serta keadaan yang menghambat efek insulin pada reseptornya, semua dapat menyebabkan diabetes mellitus (Del Prato, 2005).

2.5 Hepar

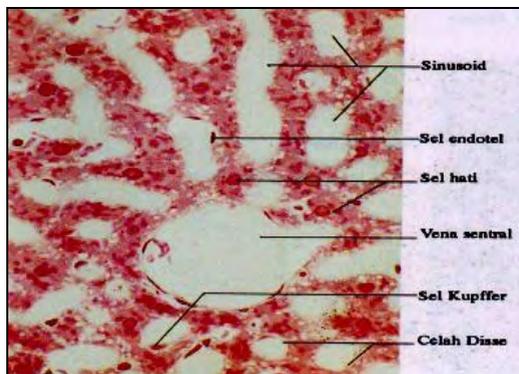
2.5.1 Anatomi dan fisiologi hepar

Salah satu organ yang sering menderita karena adanya zat-zat toksik adalah hepar. Hepar merupakan organ tubuh yang besar, kompleks dan terdapat di dalam rongga perut kanan atas, tepat di bawah diafragma kanan dan dilindungi tulang iga kanan bawah serta diselubungi oleh peritoneum. Organ ini berwarna coklat tua dan berbobot antara 1.200-1.600 gram atau 2.5% dari bobot total orang dewasa. Hepar terbagi menjadi dua bagian dan bagian kanan besarnya enam kali bagian kirinya (Ganong, 2003). Anatomi hepar dapat dilihat pada gambar 2.3. berikut:



Gambar 2.3. Anatomi Hepar (Wilson dan Lester, 2002).

Hepar terdiri dari beberapa lobus, tergantung pada spesiesnya. Pada mencit terdapat empat lobus (lobus medial, lobus lateral kiri, lobus lateral kanan dan lobus kaudal (Harada *et al*, 2009). Di dalamnya mengalir darah yang melewati sel-sel hati melalui sinusoid dari cabang vena porta hepatica ke dalam vena sentralis tiap lobulus (Ganong, 2003). Setiap lobulus hepar terdiri dari berbagai komponen, yaitu sel-sel parenkim hati (hepatosit), vena sentralis, sinusoid, cabang-cabang vena porta, cabang-cabang arteri hepatica, sel Kupffer dan kanalikuli biliaris (Handoko, 2003). Vena porta, arteri hepatica dan saluran empedu akan bergabung dalam satu daerah vena porta (segitiga Kiernaan). Empedu akan disalurkan dari hepar ke duodenum melalui saluran empedu intrahepatik dan ekstrahepatik (Guyton, 2007). Di dalam hepar juga ditemukan banyak sel-sel RES (*Reticulo Endothelial System*), yakni sel-sel Kupffer yang terdapat dalam dinding-dinding kapiler dan sinusoid-sinusoid hepar, berfungsi untuk membersihkan benda-benda asing dari darah (fagositik) (Ganong, 2003). Gambaran histologi hepar dapat dilihat pada gambar 2.4.



Gambar 2.4. Histologi Hepar (Geneser, 2004).

Sel hepar (hepatosit) berbentuk polyhedral, berdiameter 20-25 mikron pada hewan dewasa, sedangkan pada hewan muda sekitar 2-7 mikron. Inti bulat ditengah-tengah dan kadang-kadang tampak lebih dari satu inti akibat pembelahan sitoplasma yang tidak sempurna (Hartono, 2002). Hepatosit tersusun radial di sekeliling vena sentralis. Di antara sederetan hepatosit terdapat suatu saluran sinusoid yang menuju vena sentralis. Saluran ini merupakan sistem sinusoidal, yang membawa darah dari pembuluh portal menuju vena sentralis dan pembuluh empedu. Lobus hepar secara histologis dibungkus oleh kapsula. Kapsula lobus hepar terdiri dari kapsula fibrosa dan kapsula serosa. Asinus hepatic dibagi lagi menjadi tiga zona: periportal, midzonal dan sentrolobular. Hepatosit pada zona periportal menerima darah kaya oksigen dan nutrisi karena berdekatan dengan pembuluh afferent sedangkan sel di sekitar zona sentrolobular terletak di distal, dekat mikrosirkulasi penerima darah yang mengandung gas dan metabolit. Hal ini yang menyebabkan zona sentrolobular tingkat sensitifitasnya lebih tinggi. Midzonal merupakan zona transisi dari kedua zona lain (Harada *et al.* 2009).

2.5.2 Fungsi hepar

Hepar adalah suatu organ yang besar, dapat meluas, dan organ venosa yang mampu bekerja sebagai suatu tempat

penampungan darah yang bermakna disaat volume darah berlebihan dan mampu mensuplai darah ekstra disaat kekurangan volume darah (Guyton, 2007).

Beberapa fungsi hepar menurut Ressang (2004), adalah :

- ✓ Sekresi empedu
- ✓ Metabolisme lemak
- ✓ Metabolisme hidrat arang
- ✓ Fungsi detoksikasi
- ✓ Pembentukan sel darah merah
- ✓ Metabolisme dan penyimpanan vitamin

Fungsi hepar sebagai sistem buffer glukosa darah sangat penting. (Guyton, 2005). Salah satu fungsi hepar yang penting adalah menjaga homeostasis glukosa. Hepar merupakan organ yang dapat memenuhi kebutuhan glukosa di jaringan dalam tubuh. Hepar juga mengubah glukosa dan fruktosa dalam makanan menjadi glikogen dan disimpan atau glukosa yang berlebihan dalam hepar diubah menjadi lemak. Selain itu glikogen yang ada dapat diubah oleh sel hepar menjadi glukosa jika dibutuhkan dan mengubah asam amino menjadi glukosa (glukoneogenesis) (Sulaiman, dkk, 2007).

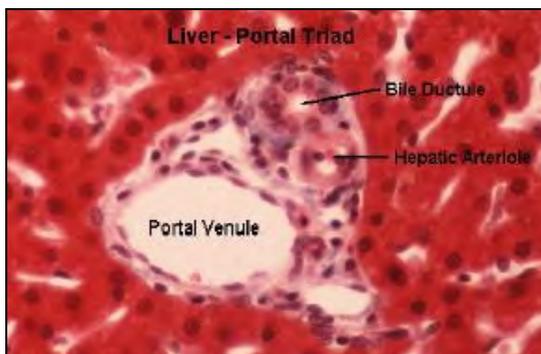
Selama tidak ada asupan makanan diantara asam-asam amino yang ditransport dari otot ke dalam hepar, alanin yang paling dominan dan menghasilkan siklus glukosa alanin yang menyebabkan daur glukosa dari hepar ke otot dengan pembentukan piruvat yang diikuti dengan transaminasi menjadi alanin, kemudian alanin ditransport ke hati dan diikuti oleh glukoneogenesis menjadi glukosa kembali. Energi yang diperlukan untuk sintesis glukosa di hepar dari piruvat berasal dari oksidasi asam-asam lemak (Murray *et al*, 2003).

Hepar mempunyai peranan penting sebagai alat penimbun berbagai jenis zat dalam tubuh, maka perubahan pada zat-zat tertentu dapat mempengaruhi fungsi hepar (Sulaiman, dkk, 2007). Fungsi hepar dapat terganggu apabila ada gangguan proses metabolisme karena adanya senyawa bersifat racun. Hepar menciit merupakan salah satu organ utama yang digunakan sebagai

indikator penelitian tentang pengaruh bahan kimia maupun toksin (Rusdi, dkk, 2007).

2.5.3 Patologis hepar

Hepar adalah organ terbesar dan secara metabolisme paling kompleks di dalam tubuh. Struktur normal hepar dapat dilihat pada gambar 2.5. Organ ini terlibat dalam metabolisme zat makanan serta sebagian besar obat dan toksikan. Jenis zat yang belakangan ini biasanya dapat mengalami detoksifikasi, tetapi banyak toksikan dapat dibioaktifkan dan menjadi lebih toksik. Toksikan dapat menyebabkan berbagai jenis efek toksik pada berbagai organel dalam sel hepar, mengakibatkan berbagai kerusakan hepar (Lu, 2005).

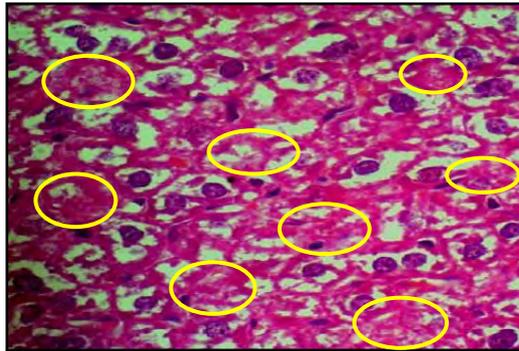


Gambar 2.5. Struktur Normal Hepar (Cooper, 2008).

Hepar sangat rentan terhadap pengaruh cukup banyak zat kimia. Kerentanan itu sebagian dapat diterangkan berdasarkan posisinya dalam sirkulasi cairan tubuh (Koeman, 2007). Sebagian besar toksikan memasuki tubuh melalui sistem gastrointestinal, dan setelah diserap, toksikan dibawa oleh vena porta ke hepar (Lu, 2005). Gejala-gejala yang timbul karena penyakit hepar biasanya merupakan paduan antara keadaan patologis, anatomi dan fungsi faalinya (Girindra, 2008). Beberapa kerusakan pada hepar menurut Ressay (2004) yaitu;

a) Degenerasi

Degenerasi sel (lihat gambar 2.6.) sering diartikan sebagai kehilangan struktur normal sel sebelum kematian sel. Dalam patologi dapat didefinisikan secara luas sebagai kehilangan struktur dan fungsi normal, biasanya progresif yang tidak ditimbulkan oleh induksi radang dan neoplasia. Degenerasi sel terkadang merupakan indikasi gangguan metabolisme yang meluas. Jenis umum degenerasi sel disebut perubahan melemak. Disini globuli lemak (terutama trigliserida) dideposisikan pada sitoplasma dalam jumlah besar. Hal ini terjadi pada kondisi diabetes melitus, malagizi, iskhemik dan anemi hebat (Spector, 2003). Degenerasi suram (*cloudy swelling*), berbutir, albuminoid atau parenkim sering terlihat pada kejadian keracunan (Ressang, 2004).

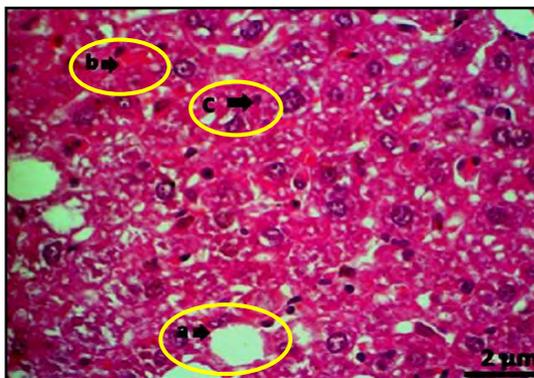


Gambar 2.6. Contoh gambaran histopatologi hepar menciit. Seluruh hepatosit mengalami degenerasi hidropis, Pewarnaan HE, bar 2 μm (Cheville, 2006).

b) Nekrosis

Nekrosis hepar (lihat gambar 2.7.) adalah kematian sel hepar. Kematian sel terjadi bersama dengan pecahnya membran plasma. Tidak ada perubahan ultrastruktural membran yang dapat dideteksi sebelum pecah, namun ada beberapa perubahan yang mendahului kematian sel. Perubahan morfologik awal antara lain

berupa edema sitoplasma, dilatasi retikulum endoplasma dan disagregasi polisom. Terjadi akumulasi trigliserid sebagai butiran lemak dalam sel. Perubahan yang terjadi merupakan pembengkakan mitokondria progresif dengan kerusakan kista, pembengkakan sitoplasma, penghancuran organel dan inti dan pecahnya membran plasma. Nekrosis dapat bersifat fokal (sentral, pertengahan, perifer) atau masif (Lu, 2005). Nekrosis hati merupakan manifestasi toksik yang berbahaya tetapi tidak selalu kritis karena hati mempunyai kapasitas pertumbuhan kembali yang luar biasa. Pada umumnya nekrosis toksopatik hanya memerlukan waktu singkat untuk menimbulkan gejala klinis.



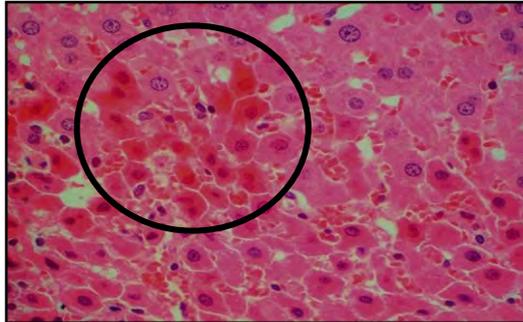
Gambar 2.7. Contoh gambaran histopatologi hepar mencit. Beberapa diantaranya mengalami degenerasi lemak (a), nekrosis (c) dan kongesti di sinusoid (b). Pewarnaan HE, bar 2 μm (Cheville, 2006).

c) Steatosis (Degenerasi lemak hepar)

Secara patologis hal yang dapat menyebabkan perlemakan (lihat gambar 2.7.) adalah hipoksemi oleh karena hepar tidak dapat membakar lemak atau karena adanya toksin yang menyebabkan penurunan fungsi lipolitik hepar. Toksin yang dapat menyebabkan perlemakan toksik adalah antimon, arsen, alkohol dan racun lain yang memerlukan banyak oksigen sehingga lemak tidak terbakar.

d) Sirosis hepar

Sirosis (lihat gambar 2.8.) adalah pengerasan pada hepar. Sirosis hepar dicirikan dengan permukaan nodular, granular dan irregular, konsistensinya keras dan terjadi fibrosis difus. Sirosis dapat disebabkan oleh berbagai hal, akan tetapi dapat juga kausanya tidak diketahui. Pada umumnya bahan-bahan toksik dan parasit dapat menyebabkan sirosis hepar (Ressang, 2004). Menurut Spector (2003), sirosis berasal dari nekrosis sel tunggal karena kurangnya mekanisme perbaikan. Kemudian keadaan ini menyebabkan aktivitas fibroplastik dan pembentukan jaringan parut. Tidak cukupnya aliran darah dalam hati menjadi salah satu faktor pendukung.



Gambar 2.8. Pada hampir seluruh sel hepar mengalami sirosis disertai kongesti hebat pada sinusoid Apoptosis sel hati (Nabib, 2007).

Kerusakan sel secara terus-menerus akan mencapai suatu titik sehingga terjadi kematian sel. Mekanisme kematian sel terjadi melalui dua proses: yaitu apoptosis dan nekrosis. Pada apoptosis terjadi kematian sel yang terprogram yang dipicu oleh fragmentasi DNA dan biasanya terjadi pada satu atau sekelompok sel saja. Lain halnya dengan nekrosis, kematian sel bersifat menyeluruh. Pada nekrosis biasanya ditemukan sel radang dan sitoplasma sel akan terlihat asidofilik. Nekrosis ini ada yang bersifat lokal dan ada yang bersifat difus (Lu, 2005).

Hepar dapat mengalami nekrosis yang disebabkan oleh dua hal yaitu 1). Toksopatik, disebabkan oleh pengaruh langsung

agen yang bersifat toksik, 2). Trofopatik, akibat kekurangan oksigen, zat-zat makanan dan sebagainya (Ressang, 2004). Degenerasi hidropis, degenerasi lemak dan nekrosa merupakan stadium permulaan dari proses kelainan dalam hati yang kemudian menjurus kearah suatu proses peradangan (Harold, 2001).

Gambaran mikroskopis umum dari hepatitis toksik akut ialah suatu nekrosa sentrolobular dengan lenyapnya sebagian besar sel-sel yang terletak di sekitar vena sentralis dan tempatnya diambil alih oleh darah. Sel-sel yang terletak lebih perifer mengalami degenerasi lemak dan lebih perifer lagi degenerasi hidropis. Bila keadaan berjalan beberapa hari, terdapat infiltrasi sel-sel limfosit ke dalam tunjangan ikat periportal (Harold, 2001).

Makroskopis hati yang menderita hepatitis toksik akut memperlihatkan gambaran seperti umumnya pada perubahan degenerasi hidropis, degenerasi lemak dan nekrosis. Umumnya hati bengkak, pucat, belang sedangkan gambaran lobular terlihat jelas. Ukuran besar dari hati cenderung untuk mengecil karena sejumlah sel-sel parenkhimnya menghilang akibat nekrosis, tetapi pembendungan oleh darah dan penimbunan lemak cenderung memperbesar volumenya, sehingga secara positif tidak bisa memberikan gambaran mengenai besarnya hati yang menderita hepatitis toksik akut, meskipun pada kasus-kasus yang parah, hati umumnya lebih kecil dari normal (Ressang, 2004).

2.6 Aloksan

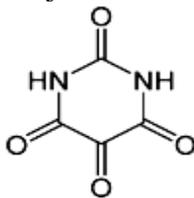
Aloksan adalah suatu substrat yang secara struktural adalah derivat pirimidin sederhana. Aloksan diperkenalkan sebagai hidrasi aloksan pada larutan encer. Aloksan murni diperoleh dari oksidasi asam urat oleh asam nitrat (Nugroho, 2004).

Aloksan (2,4,5,6-tetraoksipirimidin; 5,6-dioksiurasil) merupakan senyawa kimia yang dapat digunakan untuk menginduksi penyakit diabetes melitus. Pada tahun 1943, Shaw Dunn, Sheehan, dan McLetchie menemukan bahwa pemberian

aloksan pada kelinci menghasilkan hiperglikemia temporer, yang diikuti hipoglikemia hebat, dan diakhiri dengan kematian hewan. (McLetchie, 2002; Szkudelski, 2001).

Aloksan sebagai diabetogenik, dapat digunakan secara intravena, intraperitoneal dan subkutan (Nugroho *et al.*, 2006). Dosis intravena yang digunakan biasanya 65 mg/kg BB, sedangkan intraperitoneal dan subkutan adalah 2-3 kalinya (Szkudelski, 2001, Rees *et al.*, 2005). Dosis pemberian aloksan bervariasi tergantung pada spesies, nutrisi, dan rute pemberiannya (Szkudelski, 2001). Kemampuan aloksan untuk dapat menimbulkan diabetes juga tergantung pada jalur penginduksian, dosis, hewan coba, dan status nutrisinya (Andayani 2003). Injeksi aloksan dengan dosis 190 mg/kg berat badan pada tikus akan memperlihatkan kenaikan kadar glukosa darah sampai lebih dari 200 mg/dl dalam jangka waktu minimal 48 jam setelah injeksi (Colca *et al.*, 1983).

Aloksan bersifat hidrofilik dan tidak stabil, waktu paruh pada suhu 37°C dan pH netral adalah 1,5 menit dan dapat lebih lama pada suhu yang lebih rendah. Molekul aloksan memiliki bentuk yang sangat mirip dengan glukosa (Weaver *et al.*, 1979; Gorus *et al.*, 1982), seperti yang ditunjukkan oleh Gambar 2.9.



Gambar 2.9 Struktur kimia aloksan (Nugroho 2006).

Karena karakter hidrofiliknya, aloksan dan glukosa tidak dapat menembus lipid bilayer membran plasma. Namun bentuk molekul aloksan yang sangat mirip dengan glukosa menyebabkan transporter glukosa GLUT2 dalam membrane plasma sel β menerima molekul ini sebagai analog glukosa (glukomimetik) dan mengantarkannya ke dalam sitosol (Weaver *et al.*, 1979; Gorus *et al.*, 1982).

Aloksan menginduksi pengeluaran ion Ca^{2+} dari mitokondria yang mengakibatkan proses oksidasi sel terganggu. Keluarnya ion Ca^{2+} dari mitokondria ini mengakibatkan gangguan homeostasis yang merupakan awal kematian sel. Aloksan juga menghambat aktivitas kalmulin yang berperan dalam transport Ca^{2+} di dalam sel dan merupakan protein pengikat ion Ca^{2+} (Balz *et al.*, 1980; Colca *et al.*, 1983). Aksi sitotoksik aloksan diperantarai oleh adanya spesi oksigen reaktif (radikal bebas). Aloksan dan produk reduksinya, asam dialurat, menghasilkan sebuah siklus redoks dengan pembentukan radikal superoksida. Radikal-radikal ini menjalani dismutase menjadi hydrogen peroksida. Setelah itu, radikal hidroksil yang sangat reaktif dengan kalsium dalam sel inilah yang menyebabkan kerusakan yang sangat cepat pada sel β pankreas, sehingga dapat meningkatkan kadar glukosa dalam darah (Colca *et al.*, 1983).

Mekanisme toksisitas aloksan diawali dengan masuknya aloksan ke dalam sel β pankreas. Kerusakan pada sel β terjadi melalui beberapa proses secara bersamaan, yaitu melalui oksidasi gugus sulfidril dan pembentukan radikal bebas. Aloksan terutama menyerang senyawa-senyawa seluler yang mengandung gugus sulfidril, asam-asam amino sistein dan protein yang berikatan dengan dua gugus SH (termasuk enzim yang mengandung gugus SH). Aloksan bereaksi dengan dua gugus SH berikatan pada bagian sisi dari protein atau asam amino membentuk ikatan disulfide sehingga menginaktifkan protein yang berakibat pada gangguan fungsi protein tersebut (Szkudelski, 2001).

2.7 Mencit (*Mus musculus*) sebagai Hewan Uji

Mencit (*Mus musculus*) adalah hewan pengerat (rodentia) yang cepat berbiak, mudah dipelihara dalam jumlah banyak, variasi genetik cukup besar serta sifat anatomis dan fisiologisnya terkarakterisasi dengan baik (Malole dan Pramono, 2009). Selain itu, mencit juga mempunyai siklus hidup yang relatif pendek, jumlah anak per kelahiran banyak dan mudah ditangani

(Moriwaki *et al*, 2004). Hal-hal tersebut menjadi dasar pemilihan mencit sebagai hewan percobaan pada penelitian ini. Menurut Malole dan Pramono (2009), mencit yang paling sering digunakan di laboratorium untuk berbagai penelitian adalah mencit albino swiss (*Swiss albino mice*).

Perlakuan mencit secara halus akan mempermudah pengendaliannya, sebaliknya bila diperlakukan secara kasar akan menjadi agresif atau menggigit. Pada pencampuran antara pejantan baru dalam kelompok yang sudah stabil susunan hierarkinya, akan menyebabkan timbulnya perkelahian untuk menentukan pemimpin kelompok baru tersebut (Malole dan Pramono, 2009).

Mencit memiliki organ yang terlengkap sebagai mamalia. Oleh karena itu, sering dipilih sebagai makhluk percobaan untuk obat-obatan atau makanan yang nantinya akan digunakan oleh manusia (Anonim, 2013).

Sistem taksonomi mencit (Gambar 2.10) (Umniah, 2007);

Kingdom : Animalia
Phylum : Chordata
Classis : Mamalia
Ordo : Rodensia
Family : Muridae
Genus : Mus
Species : *Mus musculus*



Gambar 2.10. Mencit (*Mus musculus*) (Subramanian, 2008).

Hewan coba mempunyai kontribusi yang sangat penting dalam mempelajari penyakit diabetes mellitus. Percobaan mengenai diabetes mellitus dengan menggunakan hewan percobaan didasarkan pada patogenesis penyakit tersebut pada manusia. Penggunaan hewan coba tersebut dapat memberikan gambaran tentang kondisi genetik dan lingkungan yang mungkin mempengaruhi perkembangan penyakit tersebut beserta komplikasinya, yang akhirnya dapat memberikan informasi baru tentang cara penangan pada manusia. Kondisi patologis hewan percobaan tersebut tidak sepenuhnya menggambarkan kondisi patologis secara riil pada manusia. Hal ini disebabkan karena beberapa faktor, antara lain perbedaan kondisi fisiologi, perbedaan patologis dari beberapa model diabetes melitus, ragamnya penyakit diabetes melitus, serta adanya komplikasi yang menyertai dari penyakit tersebut (Nugroho, 2006; Chakravarthy *et al.*, 2010).

BAB III METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret-Mei 2014 di laboratorium Zoologi jurusan Biologi, Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah pisau, silet, skalpel, pinset anatomis, pinset sirurgis, gunting besar, gunting kecil, tali, label, botol wadah spesimen, wadah dari gelas untuk tempat pewarnaan (*staining jar*), timbangan hewan, kandang tikus beserta tempat makan dan minum, sonde oral, jarum suntik, hot plate, blender, magnetic stirrer, destiller, oven, timbangan analitik, holder, glukometer, dan tes strip, vacuum rotavapor, Mounting menggunakan Permount[®] dan *cover glass*, kapas, dan alat-alat gelas.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) sebanyak 30 ekor, berumur 2 bulan dan berkelamin jantan, alkohol 70%, 80%, 90%, 95%, alkohol absolut, xylol, paraffin, bunsen, inkubator, cetakan paraffin mikrotom, mayer hematoksin eosin, air dingin, alkohol absolut, alkohol 70%, 80%, 90%, 95%, 100%, aquadest serta xylol, larutan fiksatif *Buffered Neutral Formalin* (BNF 10%), Air minum yang digunakan adalah air kran, sedangkan pakan yang dipergunakan adalah pakan ayam berupa *pellet*.

3.3 Metode Kerja

3.3.1 Cara pengambilan data

Penentuan jumlah tikus tiap kelompok, dihitung berdasarkan rumus Federer : $(n-1) (t-1) \geq 15$, dimana t

menunjukkan jumlah perlakuan dan n menunjukkan jumlah ulangan minimal dari tiap perlakuan (Sudjana, 1992). Maka hewan uji dipilih sebanyak 25 ekor tikus putih (*Mus musculus*) jantan secara acak dibagi menjadi 5 kelompok, masing-masing terdiri dari 5 ekor. Sebelum penelitian dimulai, terlebih dahulu dipersiapkan tempat pemeliharaan hewan coba, yaitu kandang, sekam, tempat makan, minum dan pakan mencit. Kemudian diaklimasi. Tahap percobaan meliputi, masa adaptasi selama dua minggu dengan pemberian pakan dan air minum secara *ad libitum*. Pada akhir penelitian, semua tikus diterminasi dengan cara *dislokasio os cervical*. Tikus dibedah segera setelah dicekoki rutin ekstrak ikan gabus selama 2 minggu yang telah diketahui mencit hiperglikemik akibat induksi aloksan. Setelah tikus mati dan diambil organ hepar guna pemeriksaan histopatologi.

3.3.2. Perlakuan mencit hiperglikemik

(a) Pembuatan larutan aloksan

Masing-masing mencit ditimbang terlebih dahulu untuk mengetahui berat badan yang berhubungan dengan banyaknya aloksan yang diinduksikan. Dengan menggunakan acuan dosis 190 mg/kg berat badan, dikonversikan ke dalam berat badan mencit dalam satuan gram. Proses penyimpanan sampai proses penyuntikan aloksan harus dilakukan pada suhu dingin supaya aloksan tidak rusak. Aloksan yang telah ditimbang (sesuai konversi dengan berat badan masing-masing mencit) kemudian dilarutkan dengan aquades pro-injeksi sebanyak 0,5 cc untuk masing-masing mencit.

(b) Induksi mencit hiperglikemik dengan aloksan

Pada hari ke-14 dilakukan pengambilan darah. Hasil pengukuran kadar glukosa darah ditetapkan sebagai kadar glukosa darah 14 hari (hiperglikemia awal). Kemudian dilakukan penginduksian aloksan pada kelompok B, C, D, dan E pada hari ke-16. Masing-masing mencit diinduksi aloksan sebanyak 0,5 cc menggunakan syringe 1ml secara intraperitoneal (pada rongga perut). Terlebih dahulu bagian intraperitoneal mencit diusap dengan kapas yang sudah dibasahi dengan alkohol 70% supaya

steril. Kemudian syringe yang sudah berisi larutan aloksan, diinjeksikan pada daerah tersebut. Mencit pada kelompok 1 hanya diinjeksi dengan aquades pro-injeksi saja. Selesai perlakuan, semua tikus diistirahatkan di dalam kandang masing-masing dan diberi makan dan minum.

3.3.3. Terapi mencit hiperglikemik

Mencit kelompok C, D, dan E yang memiliki kadar glukosa darah ≥ 200 mg/dl, siap diterapi menggunakan ekstrak ikan gabus secara oral pada hari ke-20 dengan ketentuan perhitungan dosis obat di Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga Surabaya. Dengan rincian perlakuan seperti pada tabel 3.2 di bawah ini.

Tabel 3.2. Pembagian Kelompok Hewan Uji Induksi Aloksan dengan Pengobatan Ekstrak Ikan Gabus

Kelompok	Jumlah Mencit	Perlakuan
1	5	Kontrol negatif (normal)
2	5	Kontrol positif (hiperglikemik)
3	5	Dibuat hiperglikemik (disuntik aloksan) dan pengobatan (dicekoki ekstrak ikan gabus dosis 0,07423 ml/oral/hari)
4	5	Dibuat hiperglikemik (disuntik aloksan) dan pengobatan (dicekoki ekstrak ikan gabus dosis 0,1248 ml/oral/hari)
5	5	Dibuat hiperglikemik (disuntik aloksan) dan pengobatan (dicekoki ekstrak ikan gabus dosis 0,14846 ml/oral/hari)

3.3.4. Pengukuran glukosa darah

Konsentrasi glukosa darah tikus diukur menggunakan glukometer merek *Accu-Chek® Active*. Pengukuran glukosa darah tikus dilakukan setelah tikus dipuasakan selama ± 18 jam. Ekor tikus dibersihkan dengan alkohol 70 %. Selanjutnya ujung ekor tikus digunting 0,2 cm dari ujung ekor, dilakukan pemijatan

perlahan terhadap ekor supaya darah keluar. Setetes darah tikus yang berasal dari ujung ekor diteteskan pada strip glukosa yang telah dimasukkan ke dalam glukometer. Sebelumnya pada glukometer dilakukan penyesuaian kode yang tertera pada kemasan strip glukosa. Setelah darah diteteskan pada strip, ditunggu ± 5 detik untuk menunggu hasil pembacaan nilai konsentrasi glukosa darah oleh glukometer. Nilai yang tertera pada glukometer merupakan nilai konsentrasi glukosa darah tikus dengan satuan mg/dL. Konsentrasi glukosa darah diukur sebanyak 3 kali, yaitu setelah aklimasi (hari ke-15), hari ke-19 (setelah induksi hiperglikemik), dan hari ke-34 (akhir seluruh perlakuan). Hal ini dilakukan supaya dapat dibandingkan kadar glukosa darah mencit pada kondisi normal, hiperglikemik dan hiperglikemik pasca terapi dengan perbedaan dosis ekstrak ikan gabus.

3.3.5. Terapi ekstrak ikan gabus

Cara pembuatan ekstrak ikan gabus adalah sebagai berikut :

1. Pilih ikan dengan jumlah berat 1 kg dalam keadaan hidup.
2. Matikan dengan cara dipukul di bagian tengkuk (*oblongata*) harus langsung pingsan dan tidak bergerak, potong di dua urat lalu dilepaskan dari kepalanya dengan mengirisnya mulai dari bagian bawah insang ke atas, kiri dan kanan.
3. Bersihkan dari sisik, sirip, isi perut dan saluran cerna. Dicuci sampai bersih. Berat bersih yang didapat adalah 640 gram (BDD Ikan Gabus 64%).
4. Dipotong melintang dengan ketebalan $\frac{1}{2}$ -1 cm.
5. Masukkan dalam ekstraktor dengan suhu $70^{\circ} \pm 2.5^{\circ}C$. Waktu $\frac{1}{2}$ jam pertama ekstrak dibuang karena masih berwarna kemerahan yang berarti masih mengandung darah, setelah itu baru ditampung. Untuk 5 kg ikan maksimal penampungan ekstrak 2 jam. Untuk 1 kg ikan menghasilkan ekstrak sekitar $\pm 150cc$. Prosedur pengukuran aktivitas SOD serum didasarkan pada manual yang disediakan oleh *reagent kit* aktivitas enzim superoksida dismutase.

Proses pembuatan ekstrak ikan gabus ini sesuai dengan ekstrak ikan gabus kemasan yang siap digunakan dalam terapi pada mencit (*Mus musculus*) yang telah hiperglikemik. Pemberian ekstrak ikan gabus dilakukan setiap hari selama 2 minggu setelah diketahui mencit hiperglikemik akibat penginduksian aloksan dari pengukuran kadar glukosa darah.

3.3.6 Pembuatan preparat sayatan hepar

1. *Dehidrasi* dilakukan dengan memasukkan organ hepar tersebut ke dalam alkohol 70%, 80%, 90%, dan 96%, masing-masing selama 30 menit.
- b. *Clearing* atau dealkoholisasi (pembersihan) dilakukan dengan memasukkan organ hepar tersebut ke dalam xylol sampai jernih atau transparan selama 24 jam.
- c. *Infiltrasi* ke dalam parafin dilakukan di dalam oven pada suhu 56-60°C. Sebelum masuk ke parafin murni, jaringan dimasukkan ke dalam xylol parafin 3:1, 1:1, dan 1:3. Setelah itu dimasukkan ke dalam paraffin murni, masing-masing perlakuan selama 30 menit.
- d. *Embedding*, jaringan dari parafin murni ditanamkan ke dalam suatu tempat yang telah berisi parafin cair. Jaringan diletakkan pada bagian dasar tengah dengan posisi melintang.
- e. *Sectioning* (pemotongan) dilakukan dengan memasang holder di mikrotom, kemudian mengatur ketebalan irisan sebesar 5 mikron pada mikrotom. Lalu diiris secara seri dengan cara memutar pengait mikrotom.
- f. *Deparafinasi*, untuk menghilangkan parafin, sediaan histologis dimasukkan ke dalam xylol I dan II masing-masing 10 menit.
- h. *Staining* (pewarnaan) dilakukan dengan pewarna hematoksilin-eosin. Setelah deparafinisasi sediaan histologi dihisap xylolnya dengan kertas saring, kemudian berturut-turut dimasukkan ke alkohol 95%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, dan aquades. Dimasukkan ke hematoxylin kira-kira 7 detik, lalu dicuci dengan air mengalir selama 10 menit, dicelup aquades lalu ke alkohol 30%, 40%, 50%, 60%, 70% beberapa celupan. Dimasukkan ke dalam eosin 1-2 menit, kemudian dicelupkan

ke alkohol 70%, 80%, 90%, dan 95%, lalu dikeringkan dengan kertas saring. Dimasukkan xylol selama 15 menit, kemudian sediaan histologis ditetesi canada balsam.

- i. *Mounting* (penutupan) dan *labeling* (pemberian label) yaitu penutupan preparat dengan menggunakan kaca penutup dan memberi identitas pada preparat (label), kemudian disimpan dalam kotak sediaan.

3.3.7. Parameter pengamatan histologis

Preparat hepar yang telah dibuat, diamati di bawah mikroskop compound dengan perbesaran 40-1000x untuk mengetahui gambaran histologis regenerasi hepar mencit, kemudian dilakukan penilaian kerusakan hati dengan menggunakan tabel penilaian kerusakan hati berdasarkan *Knodell Histological Activity Index (HAI)* (lihat tabel 3.4.) (Rahn, 2001). Tabel rancangan percobaan pengamatan preparat histologis organ hepar *Mus musculus* dapat dilihat pada tabel 3.3 berikut.

Tabel 3.3. Penilaian histologi hepar menciit berdasarkan *Histological Activity Index (HAI)* (Knodell *et al.*, 1981).

Jenis Kerusakan Hepar							
I. Rangkaian nekrosis (bridging nekrosis) pada daerah periportal		II. Degenerasi pada daerah intralobular dan fokal nekrosis		III. Peradangan dan pengkakan pada daerah portal		IV. Fibrosis	
Ciri-ciri	nilai	Ciri-ciri	nilai	Ciri-ciri	nilai	Ciri-ciri	nilai
A. Tidak ada kelainan	0	Tidak ada kelainan	0	Tidak ada kelainan	0	Tidak ada kelainan	0
B. Sedikit bagian mengalami nekrosis	1	Sedikit bagian mengalami nekrosis dan pengkakan sel pada 1/3 lobus atau modul	1	Peradangan dan pembengkakan sedikit tersebar pada 1/3 bagian daerah portal	1	Perluasan fibrosis pada bagian portal	1
C. Cukup banyak bagian yang mengalami nekrosis hingga 50%	3	Cukup banyak bagian yang mengalami nekrosis hingga 1/3 - 2/3 pada setiap lobus atau nodul	3	Cukup banyak peradangan dan pembengkakan 1/3 - 2/3 pada bagian daerah portal	3	Terbentuk rangkaian dari bagian yang mengalami fibrosis	3
D. Pertanda nekrosis lebih dari 50%	4	Nekrosis lebih dari 2/3 pada setiap lobus	4	Peradangan dan pembengkakan >2/3 pada bagian portal	4	Chirrhosis terlihat jelas	4
E. Cukup banyak bagian yang mengalami nekrosi +rangkaiian nekrosis terlihat jelas	5						
F. Terjadi nekrosis antar lobus	10						

3.5 Analisis Data

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak ikan gabus terhadap hepar mencit diabetes mellitus yang diinduksi aloksan, data hasil pengamatan histopatologis hepar, dianalisis menggunakan metode deskriptif kualitatif yang mengacu pada penilaian kerusakan hati mencit berdasarkan penilaian *Knodell Histological Activity Index (HAI)*. Tingkat kerusakan dikategorikan sebagai berikut (Knodell *et al.*, 1981):

1. 0 = Normal
2. 1 - 4 = Sedikit
3. 5 - 8 = Ringan
4. 9 - 12 = Sedang
5. 13 - 18 = Berat

Kemudian hasil data diuji statistik dengan dipersentasekan dan dianalisis menggunakan uji ANOVA (*Analysis Of variance*). Kemudian Jika hasil uji ANOVA menunjukkan perbedaan signifikan maka dilanjutkan dengan uji Tukey ($\alpha = 0,05$) pada derajat kepercayaan 95%.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak ikan gabus (*Channa striata*) terhadap struktur histologi hati mencit (*Mus musculus*) yang rusak akibat hiperglikemik. Alokasin sering digunakan untuk membuat keadaan diabetes pada hewan eksperimental dengan dosis yang dapat menyebabkan kerusakan selektif pada sel β pankreas sehingga menghasilkan kondisi hiperglikemik permanen yang merupakan salah satu etiologi dari diabetes mellitus tipe I (Insulin Dependent Diabetes Mellitus) (Szkudelski, 2001). Pada hasil pengukuran kadar glukosa darah setelah induksi hiperglikemik, menunjukkan peningkatan kadar glukosa darah rata-rata dari 101,25 mg/dL menjadi 461 mg/dL. Maka mencit sudah dapat dikatakan dalam kondisi hiperglikemik karena menurut Colca *et al* (1983), bahwa mencit dalam kondisi hiperglikemik memperlihatkan kenaikan kadar gula darah sampai ≥ 200 mg/dL

Setelah mencit hiperglikemik, maka dilakukan terapi ekstrak ikan gabus pada kelompok C, D, dan E yang dilakukan secara oral dengan 3 variasi dosis antara lain dosis bawah (0,07423 ml/hari), dosis tengah (0,1248 ml/hari) dan dosis atas (0,14846 ml/hari). Kemudian dilakukan preparasi organ hati dengan pewarnaan hematoxylin-eosin untuk mengamati penampang jaringan hati mencit.

4.1 Perbandingan Struktur Histologi Hati Mencit Normal (kontrol negatif) dan Mencit Hiperglikemik (kontrol positif).

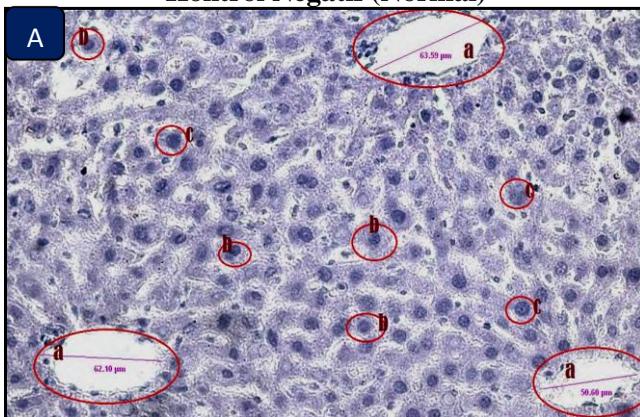
Sel-sel hepar (hepatosit) normal, tersusun lempeng-lempeng atau lembaran-lembaran bercabang-cabang dan membentuk labirin, dengan di antaranya terdapat ruang sinusoid. Sel hepar berbentuk poligonal dengan enam atau lebih permukaan, dengan membrane sel yang jelas. Inti bulat atau lonjong dengan permukaan teratur dan besarnya bervariasi dari sel satu dengan lainnya. Masing-masing inti bentuknya vasikular

dengan granula kromatin tampak jelas dan tersebar ,dengan satu atau lebih anak inti. Diantara hepatosit terdapat kapiler-kapiler yang disebut sebagi sinusoid yang merupakan cabang vena porta dan arteri hepatica, Sinusoid pada gambarannya nanti akan terlihat berkelok-kelok dan terlihat teratur susunan lebarnya dengan hepatosit (Leeson *et al.*, 1998).

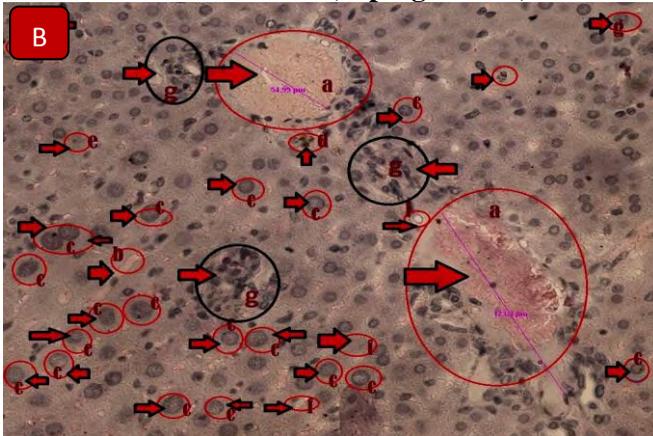
Apabila sel hati mengalami kerusakan yang diakibatkan oleh kondisi hiperglikemik, maka serangkaian perubahan morfologi dapat dijumpai pada hati. Perubahan tersebut dapat berupa perubahan subletal yang sering disebut dengan perubahan degeneratif dan perubahan letal yang disebut nekrotik. Proses degeneratif merupakan proses yang reversibel, yaitu jika rangsangan yang menimbulkan cedera dapat dihentikan, maka sel akan kembali sehat seperti semula, sedangkan proses nekrotik merupakan suatu proses irreversibel, yaitu pada saat sel telah mencapai titik dimana sel tidak dapat lagi mengkompensasi dan tidak dapat lagi melangsungkan metabolisme atau dengan kata lain telah terjadi kematian sel.

Untuk lebih jelasnya, dapat dilihat pada Gambar 4.1 berikut yang merupakan hasil pengamatan mikroskopis preparat histologi hati kontrol (normal) dan kontrol positif (hiperglikemik).

Kontrol Negatif (Normal)



Kontrol Positif (Hiperglikemik)



Gambar 4.1. Hasil pengamatan histologi hati mencit (A) Kontrol negatif (normal): a. Vena sentralis normal, b. Hepatosit normal dan (B) Kontrol positif (hiperglikemik): a. Vena sentralis nekrosis, b. Sinusoid hemoragi, c. Kariokinesis, d. Fibrosis, e. Piknosis, f. Kariolisis, g. Fokal nekrosis (Perbesaran 400x dan pewarnaan HE).

Hasil pengamatan terhadap preparat histologis hati memperlihatkan bahwa hati mencit kontrol negatif (normal) secara umum menunjukkan sel-sel penyusun jaringan hati memiliki letak yang teratur akibat tidak adanya pengaruh zat toksik maupun unsur-unsur lainnya.

Berbeda halnya dengan kelompok kontrol positif (hiperglikemik), yang merupakan kelompok mencit yang menderita diabetes namun tidak diberi ekstrak ikan gabus. Hasil pengamatan terhadap jaringan hati kelompok kontrol positif menunjukkan kerusakan jaringan yang berupa bridging nekrosis yaitu piknosis, kariolisis, dan kariokinesis, fokal nekrosis, degenerasi intralobular, kongesti atau bendung darah pada vena sentral, perdarahan pada sinusoid dan fibrosis.

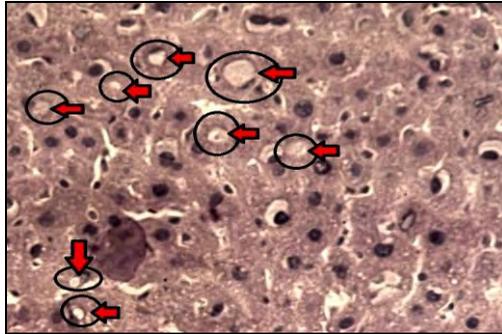
Berdasarkan proses sirkulasi toksikan yang masuk melalui pencernaan, maka hati merupakan organ yang pertama kali menerima toksikan tersebut dan juga organ yang pertama kali

akan memetabolismenya. Proses metabolisme tersebut dalam beberapa kasus dapat meningkatkan toksisitas toksikan sehingga dapat merusak hati (Harlina 2007).

Pada kondisi hiperglikemik, radikal bebas akan terbentuk sebagai hasil samping reaksi glukosa darah dalam konsentrasi tinggi dengan molekul protein. Radikal bebas tersebut menjadi faktor timbulnya komplikasi diabetes. Komplikasi yang lebih sering terjadi dan mematikan adalah kerusakan hati. Sel hati merupakan jaringan utama yang menjadi sasaran dari peningkatan konsentrasi radikal bebas karena hati merupakan tempat terjadinya metabolisme senyawa xenobiotik (Ernawati, 2006).

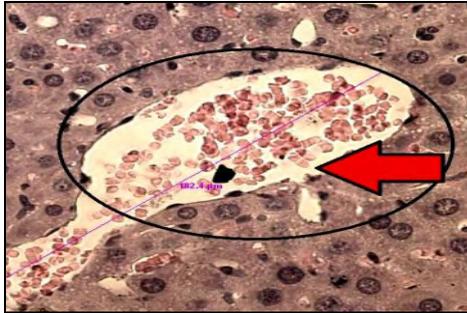
Menurut Trisnowati (2009), gangguan keseimbangan dalam proses homeostasis glukosa (hiperglikemik) menimbulkan stress oksidatif yang menghasilkan hidrogen peroksida, dan membentuk radikal hidroksil yang sangat reaktif. Radikal hidroksil tersebut menyebabkan peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid dapat menyebabkan kerusakan membran sel dan kemudian mengakibatkan struktur sel menjadi tidak normal dan merusak fungsi sel.

Secara teoritis, proses kerusakan sel hepar dimulai dari proses degenerasi dengan ciri pembengkakan sel. Sel akan mengalami perubahan untuk beradaptasi mempertahankan hidup pada kerusakan yang bersifat sementara. Hal ini menyebabkan membran sel normal akan mengalami kerusakan sehingga keseimbangan pengeluaran K^+ dan pemasukan ion Na^+ , Ca^{2+} dan air akan terganggu. Kerusakan membran sel menyebabkan terjadinya peningkatan jumlah air ke dalam sel, sehingga menyebabkan sitoplasma menjadi bengkak dan dipenuhi butiran-butiran air. Apabila kerusakan membran sel terus berlangsung, maka sitoplasma sel akan berisi cairan yang membentuk vakuola-vakuola, sehingga sitoplasma terlihat lebih pucat, keadaan ini dinamakan degenerasi hidropis (Cheville 1999).



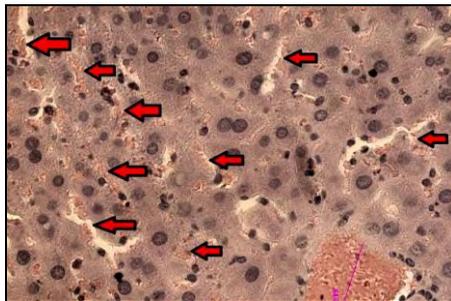
Gambar 4.2. Hati mencit (*Mus musculus*) yang mengalami pembengkakan sel hati (tanda panah merah), Perbesaran 400x, pewarnaan HE

Pembengkakan sel hati (lihat gambar 4.2) ditandai dengan adanya vakuola (ruang-ruang kosong) akibat hepatosit membengkak yang menyebabkan sinusoid menyempit, sitoplasma tampak keruh. Hal tersebut sangat berbeda dengan struktur jaringan hati yang normal yang menunjukkan hepatosit terlihat jelas, inti bulat letaknya sentralis dan sinusoid tampak jelas, dan vena sentralis sebagai pusat lobulus tampak berbentuk bulat dan kosong. Pembengkakan sel terjadi karena muatan elektrolit di luar dan di dalam sel berada dalam keadaan tidak seimbang. Ketidakstabilan sel dalam memompa ion Na^+ keluar dari sel menyebabkan peningkatan masuknya cairan dari ekstraseluler kedalam sel sehingga sel tidak mampu memompa ion natrium yang cukup. Hal ini akan menyebabkan sel membengkak sehingga sel akan kehilangan integritas membrannya. Sel akan mengeluarkan materi sel keluar dari kemudian akan terjadi kematian sel (nekrosis). Pembengkakan sel atau degenerasi vakuola bersifat reversibel sehingga apabila paparan zat toksik tidak berlanjut maka sel dapat kembali normal. Namun jika pengaruh zat toksik berlangsung lama maka sel tidak dapat mentolerir kerusakan yang diakibatkan oleh zat toksik tersebut.



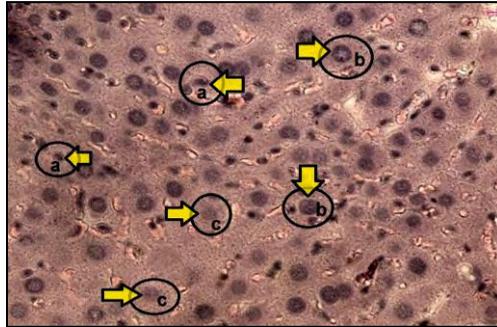
Gambar 4.3. Hati mencit (*Mus musculus*) yang mengalami kongesti pada vena sentralis (tanda panah merah), perbesaran 400x, pewarnaan HE

Kongesti merupakan istilah yang menunjukkan kelebihan volume darah pada suatu bagian pembuluh darah (lihat gambar 4.3). Hal ini dapat terjadi karena terlalu banyak darah yang masuk ke arteri atau terlalu kecilnya darah yang menuju vena. Secara mikroskopis kongesti dicirikan dengan adanya dilatasi pada dinding arteri atau kapiler yang disebabkan oleh banyaknya volume darah pada bagian tersebut (Jones *et al.* 1997). Adanya kerusakan pada vena sentral dapat diakibatkan karena terlalu banyaknya darah yang ditampung, hal inilah yang dapat menyebabkan konsentrasi zat yang bersifat toksik jauh lebih besar sehingga memperjelas kerusakan yang terjadi pada vena sentral (Price and Wilson, 1995).



Gambar 4.4. Hati mencit (*Mus musculus*) yang mengalami perdarahan pada sinusoid (tanda panah merah), perbesaran 400x, pewarnaan HE

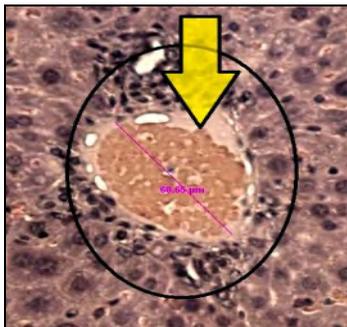
Perdarahan pada sinusoid terjadi (gambar 4.4), disebabkan pecahnya pembuluh darah kapiler sehingga menyebabkan darah masuk ke sinusoid. Kerja organ dapat dipengaruhi oleh perdarahan, apabila terjadi perdarahan dalam jumlah yang besar akan mengakibatkan *shock hemoragik* (Robbins dan Kumar, 1992).



Gambar 4.5. Hati mencit (*Mus musculus*) yang mengalami bridging nekrosis. (a) Piknosis, (b) Kariokinesis, dan (c) Kariolisis, perbesaran 400x, pewarnaan HE

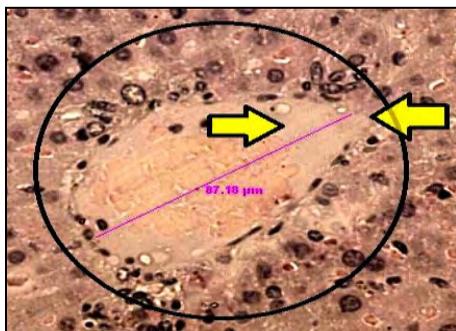
Bridging nekrosis (gambar 4.5) merupakan nekrosis yang membentuk suatu rangkaian yang terjadi dibagian periportal akibat sel-sel hepatosit menjalar ke daerah pembuluh (portal-portal, portal-sentral, dan sentral-sentral). Bridging nekrosis terjadi karena pembengkakan sel yang terus berlanjut karena zat toksik yang terakumulasi dalam tubuh organisme. Bridging nekrosis dapat dibedakan menjadi tiga bagian yaitu, piknosis, kariolisis, kariokinesis. Piknosis adalah pengerutan inti sel sehingga inti terlihat lebih kecil dari ukuran normalnya dan biasanya sel yang mengalami piknosis akan terlihat berwarna gelap. Kariolisis ditandai dengan kosongnya sel karena nukleus yang hilang dari dalam sel, sehingga sel hanya berupa rongga kosong atau bahkan bila kariolisis terjadi secara sempurna maka sel tersebut sudah tidak akan terlihat lagi bila diamati. Kariokinesis adalah inti yang pecah dan menjadi bagian-bagian

yang kecil yang tersebar di sekitar tempat sel tersebut berada sebelumnya (Sutjibto, 1998).



Gambar 4.6. Hati mencit (*Mus musculus*) yang mengalami Fokal nekrosis, perbesaran 400x, pewarnaan HE

Fokal nekrosis (lihat gambar 4.6) ditandai dengan hilangnya struktur jaringan, daerah nekrosis dikelilingi oleh zona hemoragik yaitu adanya bintik pendarahan. Fokal nekrosis merupakan nekrosis yang terjadi secara acak pada satu sel atau sekelompok kecil sel pada seluruh daerah lobulus-lobulus hati. Jadi, tidak seluruh lobulus terkena.

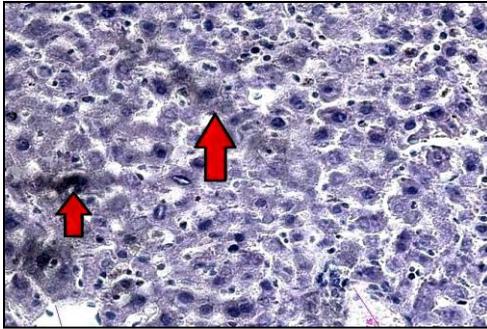


Gambar 4.7. Hati mencit (*Mus musculus*) yang mengalami peradangan (tanda panah kuning), perbesaran 400x, pewarnaan HE

Keberadaan sel radang dalam jaringan hati menunjukkan adanya proses inflamasi pada jaringan tersebut. Inflamasi merupakan mekanisme aktif tubuh dalam menanggapi berbagai bahaya yang mengganggu keseimbangan dan memperbaiki kerusakan struktur serta gangguan fungsi jaringan yang ditimbulkan bahaya tersebut (Baratawidjaya, 2002). Salah satu faktor yang berperan dalam proses inflamasi adalah sel-sel inflamasi (sel-sel radang) yang terdiri dari neutrofil, mastosit, eosinofil, dan monosit-fagosit.

Peradangan (dapat dilihat gambar 4.7 diatas) ditandai dengan adanya jendolan-jendolan darah serta jaringan berwarna merah karena banyak didapati eritrosit yang keluar dari pembuluh darah. Respon peradangan ini bertujuan untuk pemulihan jaringan serta menekan agen penyebab nekrosis. Hal ini dikarenakan sel-sel yang mengalami nekrosis tidak mampu di absorpsi oleh sel fagosit sehingga dapat melarutkan unsur-unsur sel sehingga dapat mengeluarkan enzim litik. Respon peradangan dilakukan dengan cara regenerasi sel-sel hilang, pembentukan jaringan ikat serta terjadi emigrasi leukosit ke daerah nekrosis (Robbine dan Kumar, 1992). Akan tetapi, apabila zat toksik terus menerus terpapar maka akan menyebabkan sel kehilangan kemampuan dalam regenerasi sehingga akan memicu terjadinya fibrosis (lihat gambar 4.8 di bawah).

Fibrosis ini terjadi karena akibat dari peradangan akut karena sel kehilangan kemampuan dalam regenerasi yang menyebabkan terjadinya proliferasi fibroblast sehingga serabut kolagen yang berlebih (Anderson, 1994). Fibrosis ditandai dengan kolagen lebih tebal, dimana serabut halus kolagen ini berperan untuk menyokong sinusoid dan hepatosit. Jika fibrosis ini meluas kesemua bagian hati maka akan terjadi sirosis (pemadatan organ hati) yang menyebabkan kegagalan fungsi hati sehingga dapat menyebabkan kematian. Hal ini dikarenakan terjadinya hipertensi vena porta yang dapat mengganggu aliran darah sehingga akan menghambat suplai nutrisi dan pertukaran oksigen. Fibrosis dapat dilihat pada gambar 4.8 berikut.

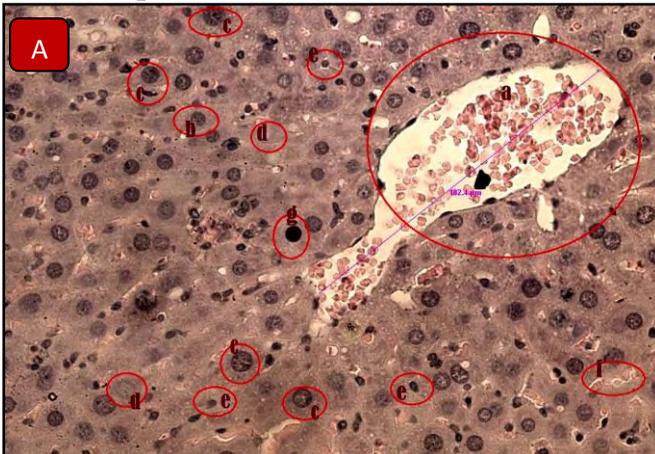


Gambar 4.8. Hati mencit (*Mus musculus*) yang mengalami fibrosis (tanda panah merah), perbesaran 400x, pewarnaan HE

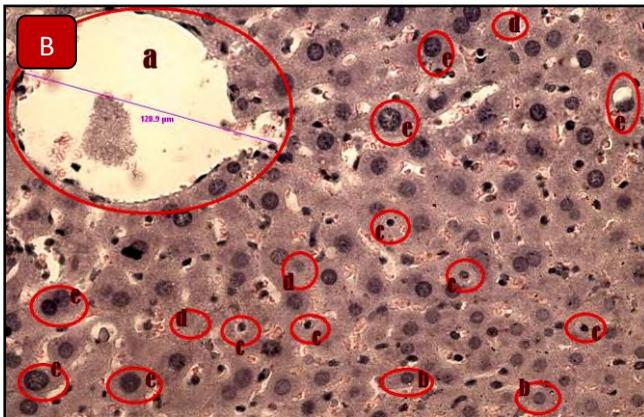
4.2 Struktur Histologi Hati Mencit (*Mus musculus*) Setelah Terapi Ekstrak Ikan Gabus (*Channa striata*)

Terapi menggunakan ekstrak ikan gabus ini bertujuan untuk mengetahui pengaruhnya terhadap perbaikan histologi hati mencit (*Mus musculus*) hiperglikemik.

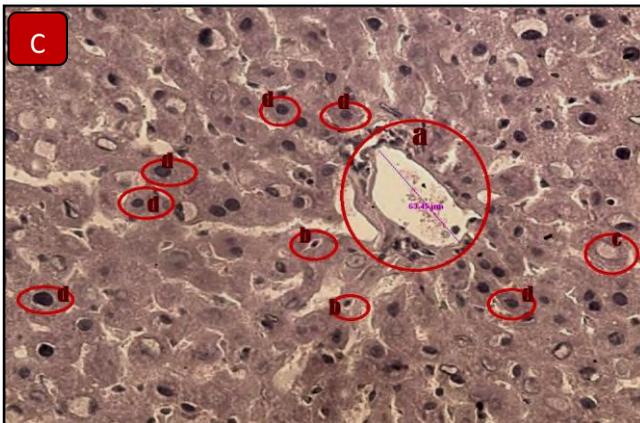
Terapi ekstrak dosis bawah (0,07423 ml)



Terapi ekstrak dosis tengah (0,1248 ml)



Terapi ekstrak dosis atas (0,14846 ml)



Gambar 4.9. Hasil pengamatan histologi hati mencit perlakuan ekstrak ikan gabus. (A) Terapi ekstrak ikan gabus dosis 0, 074 ml/hari: a.Vena sentralis kongesti, b.Hepatosit normal, c.Kariokinesis, d.Kariolisis, e.Piknosis f.Sinusoid hemoragi, dan g. Degenerasi; (B) Terapi ekstrak ikan gabus dosis 0, 1248 ml/hari: a.Vena sentralis kongesti sebagian, b.Hepatosit normal, c.Piknosis, d.Kariolisis, e.Kariokinesis; dan (C) Terapi ekstrak ikan gabus dosis 0, 14846 ml/hari: a. Vena sentralis normal, b. Piknosis, c. Kariolisis, d. Kariokinesis, dan e.Hepatosit normal (Perbesaran 400x dan pewarnaan HE)

Pada gambar 4.8, histologi hati pemberian ekstrak ikan gabus dosis 0,74 ml/hari; dosis 0,124 ml/hari; dan dosis 0,148 ml/hari; terlihat mengalami perbaikan seiring dengan peningkatan dosis ekstrak.

Hasil pengamatan terhadap jaringan hati mencit diabetes yang diberi ekstrak ikan gabus 0,0148 ml/hari, kerusakannya berkurang dibandingkan dengan kerusakan jaringan hati mencit diabetes yang diberi ekstrak ikan gabus 0,124 ml/hari dan 0,074 ml/hari. Jumlah nekrosa lebih sedikit dan sinusoid mulai terlihat teratur dibandingkan dengan kelompok mencit diabetes yang diberi ekstrak ikan gabus 0,124 ml/hari dan 0,074 ml/hari.

Penurunan jumlah kerusakan pada jaringan hati tidak terlepas dari kemampuan hati dalam meregenerasi sel-sel yang sudah rusak sangat tinggi. Diketahui bahwa walaupun hampir 80% sel-sel hati rusak, hati masih sanggup beregenerasi mengakibatkan proliferasi sel-sel hati yang sangat giat, sehingga dalam waktu 2-3 minggu bagian hati yang rusak dapat diganti kembali dan bahkan dapat sembuh sama sekali. Hal ini menunjukkan bahwa kerusakan jaringan pada hati mencit diabetes dapat diperbaiki secara maksimal oleh hati setelah pemberian ekstrak ikan gabus dengan dosis yang efektif yaitu 0,0148 ml/hari.

4.3 Hasil Anova Pengaruh Ekstrak Ikan Gabus Terhadap HAI Hati Mencit (*Mus musculus*) Hiperglikemik.

Untuk mengetahui nilai kerusakan histologi hati mencit berdasarkan nilai HAI yang telah dilakukan uji anova dapat dilihat pada tabel 4.1.

Tabel 4.1. Hasil uji anova terhadap penilaian kerusakan histologi hati mencit (*Mus musculus*) berdasarkan HAI.

n	Nilai Kerusakan Histologi Hati				
	Kontrol (-)	Kontrol (+)	Dosis Bawah	Dosis Tengah	Dosis Atas
1	1,33	11,74	8,47	5,67	2,07
2	1,27	12,2	8,2	6,2	2,34
3	1,33	11,67	8,33	6,47	2,34
4	0,94	12,13	8,47	6,3	2,34
5	1,2	11,73	8,33	6,2	2,47
Mean	1,214 ^E	11,894 ^A	8,360 ^B	6,168 ^C	2,312 ^D

Berdasarkan tabel 4.1 di atas, bahwa nilai kerusakan histologi hati mencit pada kontrol negatif (normal) didapatkan nilai kerusakan 1,214 dengan tingkat kerusakan dikategorikan sedikit dan untuk kontrol positif (hiperglikemik) didapatkan nilai kerusakan 11,894 dengan tingkat kerusakan dikategorikan sedang. Pada kelompok terapi dosis bawah nilai kerusakan histologi hati mencit yaitu 8,360 dengan tingkat kerusakan dikategorikan sedang. Dibandingkan dengan nilai kerusakan histologi hati mencit pada kelompok terapi dosis atas dan tengah yang lebih kecil yakni 2,312 dengan tingkat kerusakan dikategorikan sedikit dan 6,168 dengan tingkat kerusakan dikategorikan ringan. Hal ini menunjukkan semakin tinggi dosis terapi ekstrak ikan gabus (*Channa striata*) yang diberikan, membuktikan semakin berkurang kerusakan histologi hati akibat hiperglikemik.

Hal ini didukung dengan adanya hasil uji anova yang menunjukkan bahwa terapi menggunakan ekstrak ikan gabus tersebut berpengaruh terhadap nilai kerusakan histologi hati mencit hiperglikemik dengan p-value sebesar 0,000 dengan didapatkan taraf kepercayaan 99,73%. Maka dikatakan signifikan, karena $p < 0,05$ maka H_0 ditolak atau faktor berpengaruh. Kemudian dilakukan uji tuckey, menunjukkan kesignifikansi terhadap hasil dengan taraf kepercayaan 99,28%. Untuk

persentase perbaikan nilai kerusakan hati antara kelompok kontrol (+) dengan kelompok dosis atas sebesar 80,56%. Sedangkan persentase perbaikan nilai kerusakan hati dari kelompok kontrol positif dengan kelompok terapi ekstrak dosis bawah dan dosis tengah berturut-turut adalah 29,72% dan 48,15%.

Hal ini dikarenakan, sifat ekstrak ikan gabus sebagai antioksidan eksogen yang mengandung 70% protein yaitu penyusun utama suatu sel dan 21% di antaranya adalah albumin sehingga mampu meregenerasi sel yang rusak (Sediaoetama, 2004). Proses regenerasi hati pada kelompok perlakuan dosis atas belum mendekati kondisi hati normal seperti pada kelompok kontrol negatif (normal) karena pada lama waktu 14 hari diterapi dengan ekstrak ikan gabus, masih perlu waktu penyembuhan yang lebih lama untuk semakin mendekati kondisi hati normal.

Antioksidan eksogen berfungsi sebagai pemecah rantai (antioksidan non enzimatik). Antioksidan eksogen juga dapat bertindak sebagai penampung yang baik radikal hidroksil dan superoksida sehingga asam lemak tak jenuh terlindungi, dan dengan demikian melindungi lipid membran hati terhadap reaksi yang merusak (Jawi, 2007). Antioksidan eksogen menghentikan tahap awal reaksi dengan membebaskan 1 atom hidrogen dari gugus hidroksilnya yang kemudian berikatan dengan 1 radikal bebas. Dengan ikatan ini maka akan menstabilkan radikal peroksi yang membuat energi aktivasi berkurang, dan selanjutnya akan menghambat atau menghalangi reaksi oksidasi (Andriani, 2006).

Albumin merupakan salah satu senyawa dalam darah yang mempunyai peranan terkait dengan aktivitas antioksidan serum. Albumin mempunyai ikatan sulfhidril yang dapat berfungsi sebagai pengikat radikal bebas, sehingga membuat albumin dapat berperan sebagai antioksidan (Sunatrio, 2003). Albumin berperan sebagai antioksidan eksogen diharapkan dapat menstabilkan radikal bebas yakni molekul yang mempunyai sekelompok atom dengan elektron yang tidak berpasangan. Jika radikal bebas tidak diinaktivasi, reaktivitasnya dapat merusak seluruh tipe makromolekul seluler, termasuk karbohidrat, protein, lipid dan

asam nukleat (Inoue, 2001). Radikal bebas tersebut ditimbulkan dari zat diabetogenik induksi hiperglikemik. Albumin diketahui sebagai antioksidan kuat dalam plasma.

Adanya antioksidan alami pada ekstrak ikan gabus yang berupa albumin menjadikan radikal bebas menjadi molekul yang stabil dan tidak dapat mengganggu membran lipid sel. Jika radikal bebas berlebihan dalam tubuh sudah dapat ditangkap oleh antioksidan, maka sel-sel yang telah rusak oleh radikal bebas memperoleh kesempatan untuk memperbaiki diri. Oleh karena itu, dapat dikatakan memiliki efek melindungi sel dari radikal bebas yang dalam hal ini adalah jaringan hati sehingga disebut memiliki efek hepatoprotektor (Kumalaningsih, 2007).

Ekstrak ikan gabus juga memiliki aktivitas antioksidan $0,14 \pm 0.003$ mmol/l, atau sebanding dengan 90,93% aktivitas antioksidan vitamin E. Hal ini menunjukkan ekstrak ikan gabus dapat difungsikan sebagai antioksidan. Albumin melimpah akan gugus (-SH) yang berfungsi sebagai pengikat radikal sehingga berperan dalam proses pembersihan dan penangkapan *Reactive Oxygen Species* (Santoso, 2009). Selain itu albumin juga bersinergi dengan mineral Zn yang sangat dibutuhkan untuk perkembangan sel maupun pembentukan jaringan sel baru seperti akibat luka dan penyembuhan luka akibat operasi. Zn membantu sekresi dan metabolisme insulin, serta melindungi efek kerusakan pankreas.

Apabila kondisi pankreas telah kembali normal maka jumlah hormon insulin yang diproduksi oleh sel beta pulau langerhans akan kembali seperti semula. Hormon insulin bersama hormon glukagon akan bekerja secara antagonis untuk mengatur homeostasis glukosa darah. Kadar glukosa darah yang normal akan mencegah munculnya gangguan-gangguan yang dapat memicu kerusakan sel.

Menurut aturan dosis manusia, ekstrak ikan gabus dianjurkan untuk dikonsumsi sebanyak 48 ml/hari. Pada penelitian ini dosis manusia yang dianjurkan tersebut dikonversikan ke dalam dosis mencit dan digunakan sebagai dosis

tengah. Dosis tersebut cukup efektif untuk regenerasi hati pada penderita hiperglikemia, namun dari hasil penelitian diketahui tingkat regenerasi jaringan hati tertinggi dan mendekati kondisi normal didapatkan pada kelompok mencit yang diberi ekstrak ikan gabus dosis atas. Namun tidak menutup kemungkinan bahwa dengan dosis tengah regenerasi sel tidak bisa mencapai kondisi normal. Diduga dengan penambahan waktu terapi akan memungkinkan regenerasi sel hingga kembali ke kondisi normal.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Penelitian ini dapat diambil kesimpulan bahwa ekstrak ikan gabus dapat meregenerasi jaringan hati paling baik pada dosis 0,14846 ml/hari, dengan persentase perbaikan dari kondisi hiperglikemik sebesar 80,56%.

5.2 Saran

Dari penelitian yang telah dilakukan, dapat disarankan bahwa dosis dan waktu terapi yang diberikan perlu ditingkatkan supaya perbaikan jaringan hati semakin mendekati kondisi normal.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

2	10,290	10,680	11,070			
(*)						
3	6,756	7,146	7,536			(*)
4	4,564	4,954	5,344			(*)
5	0,708	1,098	1,488		(*)	
-----+-----+-----+-----						
12,0				-6,0	0,0	6,0

perlakuan = 2 subtracted from:

perlakuan	Lower	Center	Upper	-----+-----+-----+-----		
---	---	---	---	---		
3	-3,924	-3,534	-3,144		(*)	
4	-6,116	-5,726	-5,336		(*)	
5	-9,972	-9,582	-9,192	(*)		
-----+-----+-----+-----						
12,0				-6,0	0,0	6,0

perlakuan = 3 subtracted from:

perlakuan	Lower	Center	Upper	-----+-----+-----+-----		
---	---	---	---	---		
4	-2,582	-2,192	-1,802		(*)	
5	-6,438	-6,048	-5,658		(*)	
-----+-----+-----+-----						
12,0				-6,0	0,0	6,0

perlakuan = 4 subtracted from:

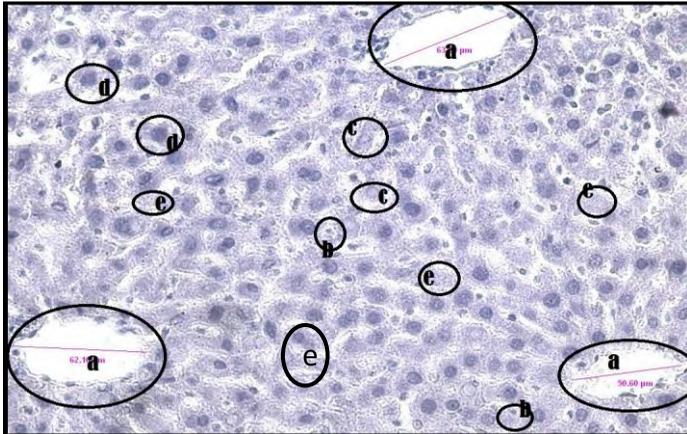
perlakuan	Lower	Center	Upper	-----+-----+-----+-----		
---	---	---	---	---		
5	-4,246	-3,856	-3,466		(*)	
-----+-----+-----+-----						
12,0				-6,0	0,0	6,0

Lampiran 2: Data hasil pengukuran kadar glukosa darah mencit (*Mus musculus*).

Hari ke	Perlakuan	Kadar Glukosa Darah Tiap Ulangan (mg/dL)					rata-rata
		1	2	3	4	5	
ke 15	K(-)	140.0	148.0	147.0	122.0	138.0	139.0
	K(+)	148.0	142.0	137.0	128.0	135.0	138.0
	HB	143.0	127.0	142.0	148.0	140.0	140.0
	HT	118.0	164.0	142.0	172.0	149.0	149.0
	HA	134.0	173.0	157.0	181.0	130.0	155.0
ke 19	K(-)	166.0	170.0	186.0	193.0	156.5	174.3
	K(+)	201.5	324.0	274.0	241.0	211.0	250.3
	HB	509.5	273.5	209.5	243.5	600.0	367.2
	HT	600.0	600.0	197.5	599.0	194.5	438.2
	HA	464.0	600.0	199.0	282.5	600.0	429.1
ke 34	K(-)	160.0	139.0	135.0	111.0	131.5	135.3
	K(+)	146.5	158.5	163.0	136.0	146.5	150.1
	HB	154.5	148.5	112.5	129.5	253.0	159.6
	HT	147.5	101.0	111.5	141.0	62.5	112.7
	HA	122.5	118.5	73.0	88.5	129.0	106.3

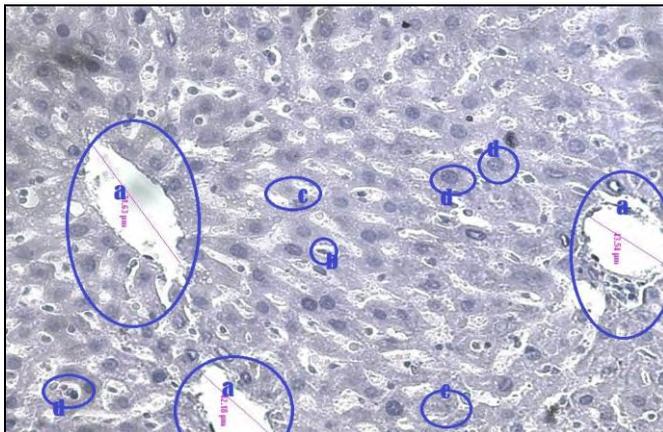
“Halaman ini sengaja dikosongkan”

Lampiran 3: Dokumentasi pengamatan jaringan hati mencit (kelompok kontrol negatif).



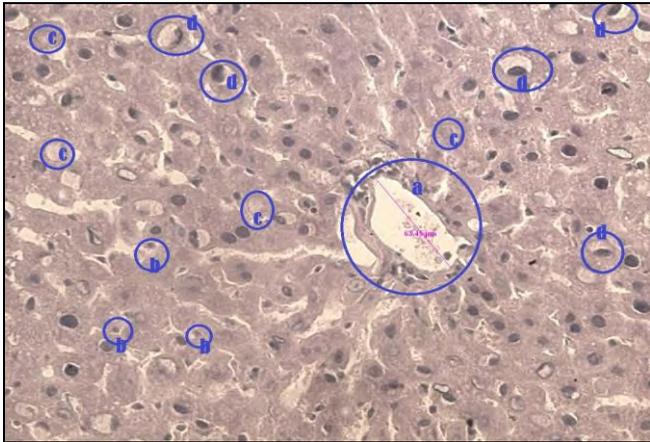
- Perbesaran 400x

- a.Vena sentra normal, b.Piknosis, c.Kariolisis, d.Kariokinesis, e.Hepatosit normal



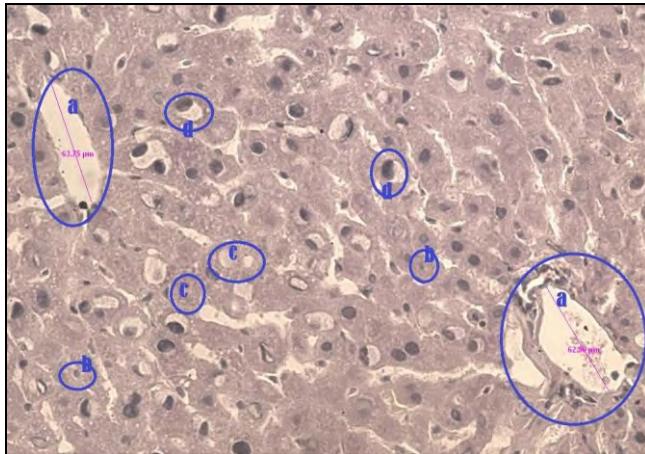
- Perbesaran 400x

- a.Vena sentra normal, b.Piknosis, c.Kariolisis, d.Kariokinesis, e.Hepatosit normal



- Perbesaran 400x

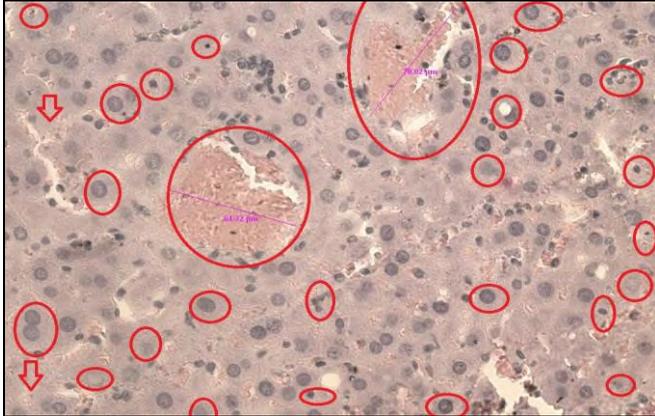
- a.Vena sentra normal, b.Piknosis, c.Kariolisis, d.Kariokinesis, e.Hepatosit normal



- Perbesaran 1000x

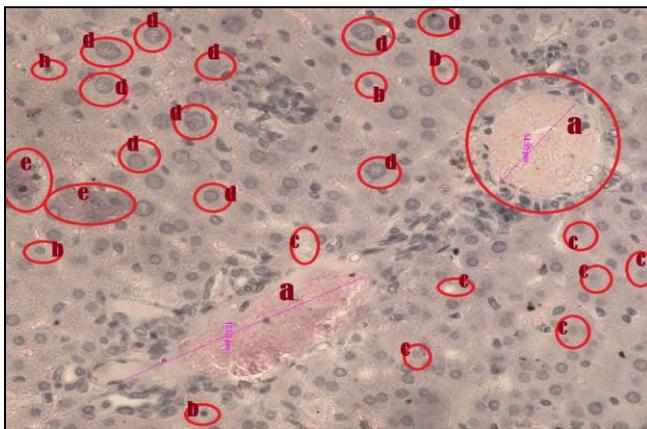
- a.Vena sentra normal, b.Piknosis, c.Kariolisis, d.Kariokinesis, e.Hepatosit normal

Lampiran 5: Dokumentasi pengamatan jaringan hati mencit
(kelompok kontrol positif).



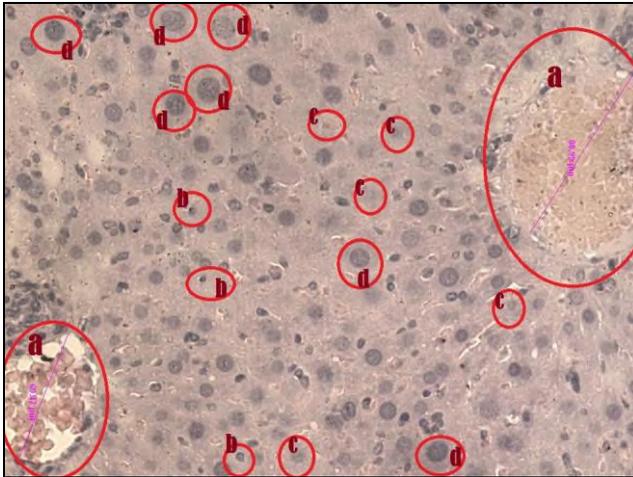
- Perbesaran 400x

a.Vena sentra fokal nekrosis, b.Piknosis, c.Kariolisis,
d.Kariokinesis.



- Perbesaran 400x

- a.Vena sentra fokal nekrosis, b.Piknosis, c.Kariolisis,
d.Kariokinesis.



- Perbesaran 400x

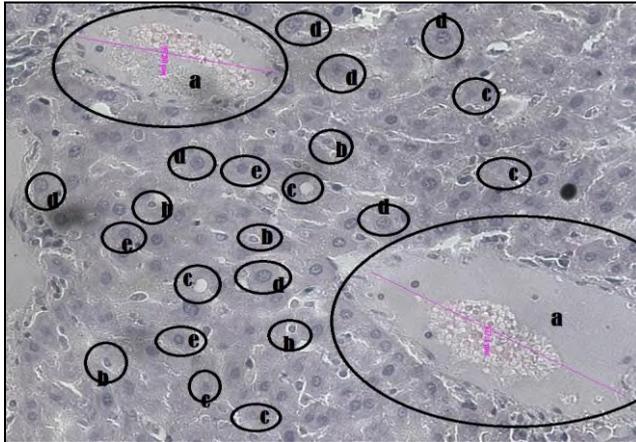
- a.Vena sentra fokal nekrosis, b.Piknosis, c.Kariolisis, d.Kariokinesis.



- Perbesaran 400x

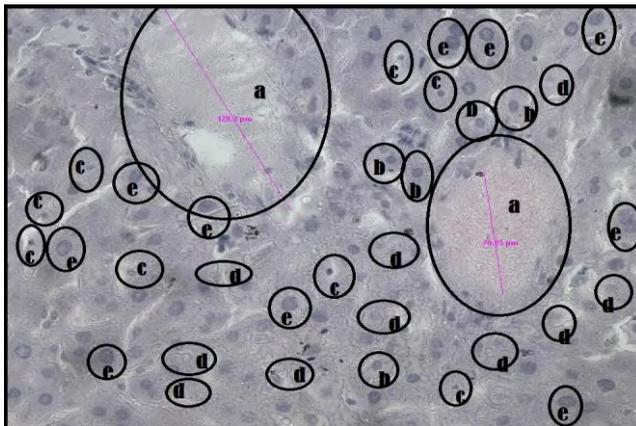
- a.Vena sentra fokal nekrosis, b.Piknosis, c.Kariolisis, d.Kariokinesis.

Lampiran 6: Dokumentasi pengamatan jaringan hati mencit (kelompok terapi ekstrak dosis bawah).



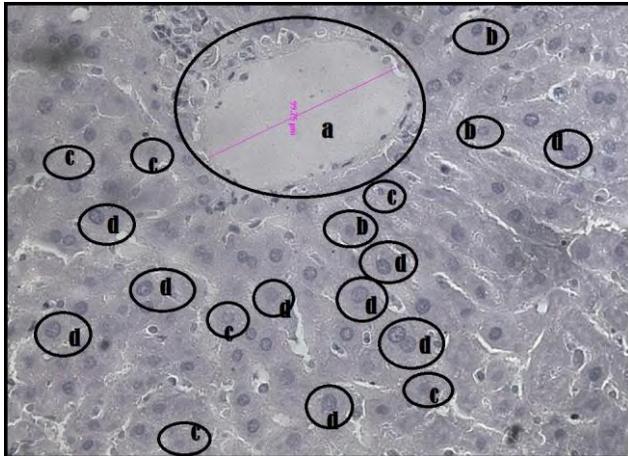
- Perbesaran 400x

a.Vena sentra nekrosis, b.Piknosis, c.Kariolisis, d.Kariokinesis, e.Hepatosit normal.



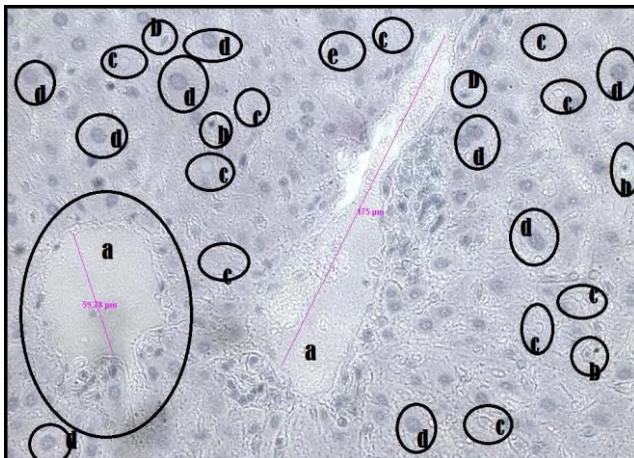
- Perbesaran 400x

a.Vena sentra nekrosis, b.Hepatosit normal c.Piknosis, d.Kariolisis, e.Kariokinesis.



- Perbesaran 400x

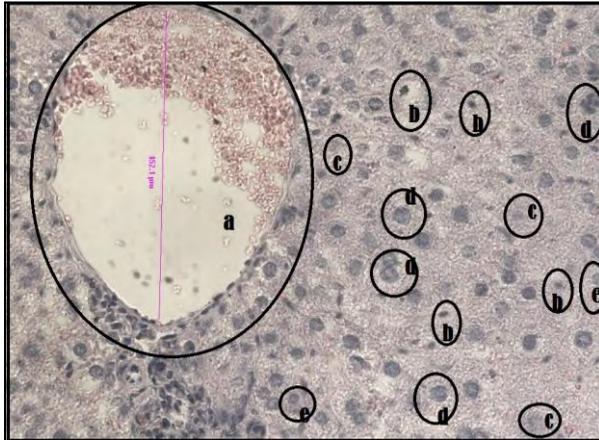
- a.Vena sentra nekrosis, b.Piknosis, c.Kariolisis, d.Kariokinesis, e.Hepatosit normal.



- Perbesaran 400x

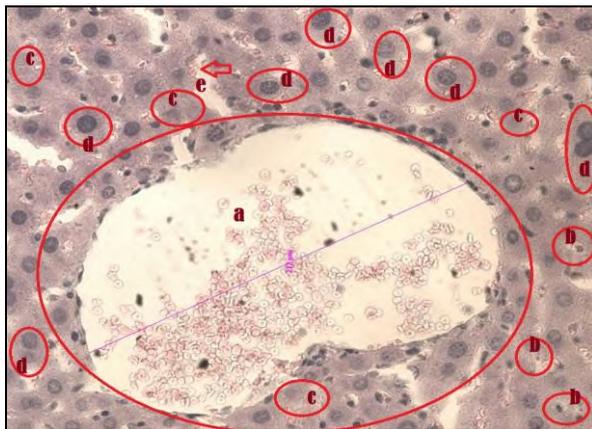
- a.Vena sentra nekrosis, b.Piknosis, c.Kariolisis, d.Kariokinesis, e.Hepatosit normal.

Lampiran 7: Dokumentasi pengamatan jaringan hati mencit (kelompok terapi ekstrak dosis tengah).



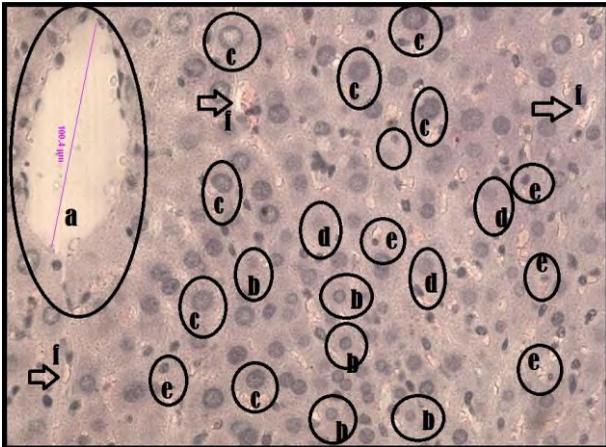
- Perbesaran 400x

a.Vena sentra kongesti, b.Piknosis, c.Kariolisis, d.Kariokinesis, e.Hepatosit normal



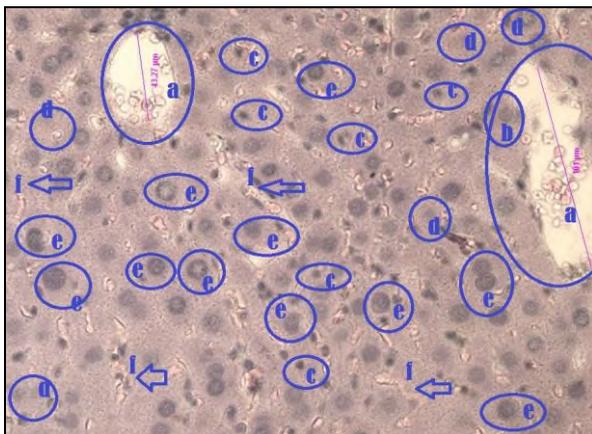
- Perbesaran 400x

.Vena sentra kongesti, b.Piknosis, c.Kariolisis, d.Kariokinesis, e.Hepatosit normal



- Perbesaran 400x

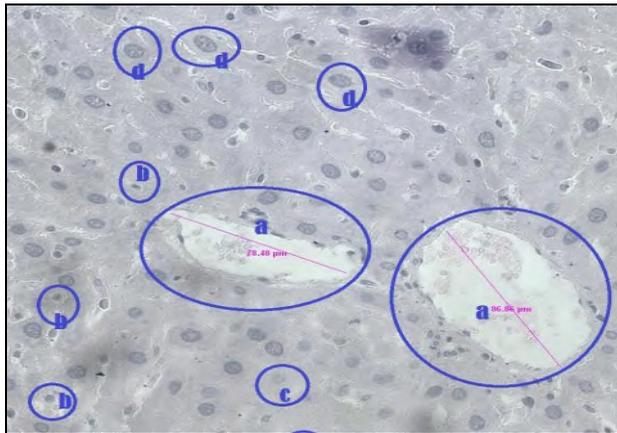
- a.Vena sentra kongesti, b.Hepatosit normal
- c.Kariokinesis, d.Kariolisis, e.Piknosis



- Perbesaran 400x

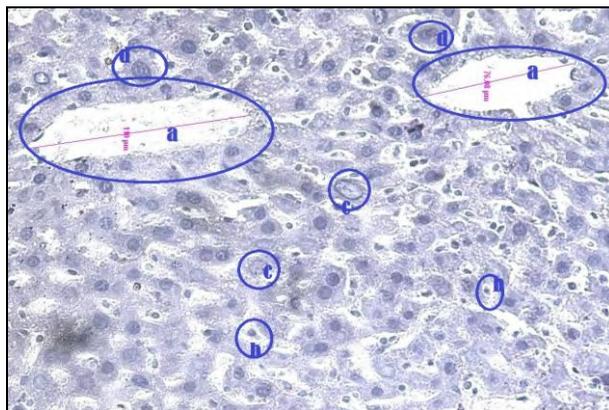
- a.Vena sentra kongesti, b.Hepatosit normal, c.Piknosis,
- d.Kariolisis, e.Kariokinesis

Lampiran 8: Dokumentasi pengamatan jaringan hati mencit (kelompok terapi ekstrak dosis atas).



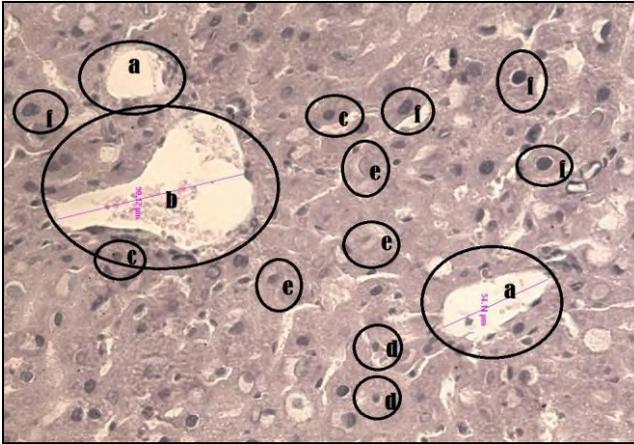
- Perbesaran 400x

- - a.Vena sentra normal, b.Piknosis, c.Kariolisis, d.Kariokinesis, e.Hepatosit normal.



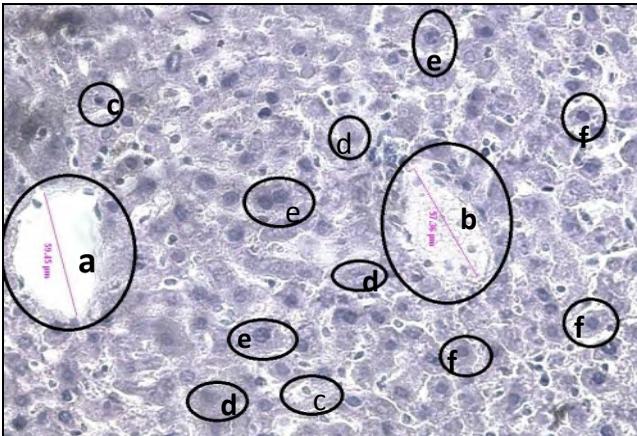
- Perbesaran 400x

- - a.Vena sentra normal, b.Piknosis, c.Kariolisis, d.Kariokinesis, e.Hepatosit normal



- Perbesaran 400x

- a.Vena sentra normal, b. Vena sentra kongesti, c.Piknosis,
d.Kariolisis, e.Kariokinesis, f.Hepatosit normal



- Perbesaran 400x

- a.Vena sentra normal, b. Vena sentra kongesti, c.Piknosis,
d.Kariolisis, e.Kariokinesis, f.Hepatosit normal

BIODATA PENULIS



Penulis dilahirkan di Lumajang, 15 Januari 1992. Memulai pendidikan dasar di SD Islam Tompokersan Unggulan Lumajang (1998-2004), pendidikan menengah pertama di SMP Negeri 1 Sukodono-Lumajang (2004-2007), pendidikan menengah atas di SMA Negeri 1 Lumajang (2007-2010) dan menjadi mahasiswi Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Surabaya angkatan tahun 2010 melalui Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Sejak mengenyam pendidikan dasar, penulis memiliki kemampuan akademik yang menonjol pada bidang sains terutama Biologi. Wanita penyayang binatang ini, mempunyai ketertarikan yang tinggi pada bidang sosial serta interaksi dan kepedulian dengan masyarakat sekitar, sehingga menjadikan penulis untuk masuk menjabat sebagai staf Departemen Sosial Masyarakat (SOSMAS) kepengurusan 2011-2012, kemudian diangkat menjadi Ketua Departemen Sosial Masyarakat (SOSMAS) kepengurusan 2012-2013 di Himpunan Mahasiswa Biologi Institut Teknologi Sepuluh Nopember (HIMABITS) yang berhasil mendapat penghargaan “Kampung binaan terbaik dari ITS Mengajar dan Progam Kerja SOSMAS Terbaik dan Terfavorit dari BEM ITS”, serta menjabat sebagai pengurus lembaga dakwah jurusan biologi di Forum Kajian Islam Qur’an (FKIQ) di Departemen pembinaan.

Keseriusannya dalam belajar di Biologi ITS, diwujudkan dengan kecenderungannya yang terus mengambil fokus bidang Zoologi selama mengenyam pendidikan perguruan tinggi hingga

pada akhirnya penulis mendedikasikan bidang zoologi tersebut dengan menjadi asisten laboratorium zoologi pada berbagai mata kuliah, diantaranya: struktur hewan, perkembangan hewan, biologi perikanan, dan fisiologi hewan, serta melaksanakan Kerja Praktek di Balai Budidaya Air Payau (BBAP) Situbondo dengan mengambil judul “Teknik Budidaya Ikan Kerapu Tikus dan Ikan Kerapu Macan di BBAP Situbondo-Jawa Timur”. Kemudian pada Tugas Akhirnya dengan mengambil judul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Ikan Gabus (*Channa striata*) terhadap Struktur Histologi Hati Mencit (*Mus musculus*) Hiperglikemik”.