

**APLIKASI PAKAN KAYA NUTRISI DENGAN SUPLEMENTASI DAGING IKAN GABUS (*Channa striata*) DAN PERANNYA DALAM PERBAIKAN STRUKTUR DUODENUM: KAJIAN *IN VIVO* PADA TIKUS WISTAR YANG DIBERI PERLAKUAN STRES**

**Sunarno<sup>1)</sup>, Rudy Juandi Goeltoem<sup>1)</sup>, Siti Muflichatun Mardiaty<sup>1)</sup>**

<sup>1</sup>Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro  
e-mail: sunzen07@gmail.com

**FEED APPLICATIONS WITH RICH NUTRITION SUPPLEMENTATION MEAT FISH CORK (*Channa striata*) IMPROVEMENT IN THE STRUCTURE AND ROLE DUODENUM: IN VIVO STUDY IN RATS WISTAR GIVEN THE TREATMENT OF STRESS**

**ABSTRACT**

This research was conducted to obtain histological duodenum, which include diameter, length of villi, and a thick layer of mucous after feeding with supplementation of fish meat cork on Wistar rats from the time after stress. The treatment in this study consisted of P0: control, test animals were conditioned stress followed six days of feeding without supplementation with fish meat cork; P1, P2, P3, and P4 is a stress test animals that were conditioned for 6 days and fed with fish meat cork supplementation for 14 days, respectively 5%, 10%, 15%, and 20% of the time after stress. This study used a completely randomized design (CRD). The parameters measured diameter, villous length and thickness of the mucosal lining of the duodenum of the small intestine. Data were analyzed using Analysis of Variance (ANOVA) followed by Duncan test with 95% significance level. The conclusion from this study is that the supplemental feeding with fish meat cork with a concentration of 15% giving effect to increase in diameter, villous length and thickness of the mucosal lining of the duodenum, respectively 2520  $\mu\text{m}$ , 576.34  $\mu\text{m}$ , and 506  $\mu\text{m}$ , respectively higher 23.43%, 46.37% and 45.26% compared to the controls.

Keywords : diameter, villous length and thickness of the mucosal lining of the duodenum, fish meat cork, supplement

**ABSTRAK**

Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh gambaran histologis duodenum, yang meliputi diameter, panjang vili, dan tebal lapisan mukosa setelah pemberian pakan dengan suplementasi daging ikan gabus pada tikus Wistar dari waktu pasca stres. Perlakuan pada penelitian ini terdiri atas P0: kontrol, hewan uji yang dikondisikan stres 6 hari yang diikuti pemberian pakan tanpa suplementasi daging ikan gabus; P1, P2, P3, dan P4 adalah hewan uji yang dikondisikan stres selama 6 hari dan diberi pakan dengan suplementasi daging ikan gabus selama 14 hari, berturut-turut 5%, 10%, 15%, dan 20% dari waktu pasca stres. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL).

Parameter yang diukur pada penelitian ini adalah diameter, panjang vili, dan ketebalan lapisan mukosa duodenum usus halus. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan Analysis of Variance (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji Duncan dengan taraf signifikansi 95%. Kesimpulan dari penelitian ini adalah bahwa pemberian pakan dengan suplementasi daging ikan gabus dengan konsentrasi 15% memberi pengaruh pada peningkatan diameter, panjang vili, dan ketebalan lapisan mukosa duodenum, berturut-turut 2520  $\mu\text{m}$ , 576,34  $\mu\text{m}$ , dan 506  $\mu\text{m}$ , masing-masing lebih tinggi 23,43%, 46,37%, dan 45,26% dibanding kontrol.

Kata kunci: daging ikan gabus, diameter vili, panjang vili, ketebalan lapisan mukosa duodenum dan suplemen

## **PENDAHULUAN**

Stres merupakan suatu respon adaptif terhadap situasi yang diterima hewan sebagai suatu tantangan atau ancaman. Nseabasi *et al.* (2013) menyatakan, stres adalah kondisi fisiologis yang tidak normal yang disebabkan oleh gangguan struktur, fungsi jaringan, organ, atau sistem organ yang dipicu oleh tekanan internal atau eksternal. Stres fisiologis akibat kekurangan pakan atau defisiensi nutrisi yang diikuti oleh aktivitas berlebihan merupakan faktor pemicu terjadinya gangguan fungsi jaringan atau organ tubuh, salah satunya di duodenum. Stres dapat memicu ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dengan kandungan antioksidan di dalam tubuh. Terdapat tiga macam bentuk gangguan pada hewan ketika mengalami stres, meliputi gangguan fisik, kognisi, sistem dan fungsi pencernaan (Baratawidjaja, 2009).

Gangguan fungsi pencernaan akibat stres, terutama pada duodenum usus halus akibat defisiensi nutrisi dan stres fisik menjadi masalah kesehatan bagi hewan. Duodenum merupakan salah satu bagian usus halus yang bersifat rentan mengalami gangguan struktur dan fungsi akibat stres. Duodenum merupakan salah satu bagian dari usus halus yang merupakan tempat berlangsungnya proses pencernaan, baik ekstraseluler atau intraseluler. Struktur duodenum terdiri atas empat lapisan, yang meliputi lapisan mukosa, submukosa, muskularis, dan serosa atau adventisia. Selain itu, duodenum terdiri atas sel-sel spesifik yang berbentuk silindris yang berperan dalam proses absorpsi, dan sel-sel globlet yang berperan dalam menghasilkan mukus untuk

menunjang proses pencernaan. Sirkulasi darah yang kaya oksigen ke bagian duodenum berpotensi sel-sel di bagian ini bersifat rentan terhadap stres (Brown, 1992).

Gangguan fungsi duodenum akibat defisiensi nutrisi dapat terjadi karena kurangnya jumlah pakan atau komposisi nutrisi dalam pakan yang dikonsumsi. Kondisi ini dapat menyebabkan penurunan produksi dan aktivitas enzim-enzim pencernaan, penurunan sistem pertahanan seluler pada sel-sel duodenum, disfungsi atau degenerasi sel, penurunan kemampuan fisiologis, bahkan dapat berakibat pada kematian sel (Winarsi, 2007). Gangguan fisik melalui aktivitas berlebihan dapat memicu terjadinya gangguan proses pencernaan, penurunan produksi dan sekresi enzim-enzim pencernaan, gangguan absorpsi dan terhambatnya sirkulasi nutrisi yang dibutuhkan oleh sel-sel tubuh. Berbagai macam gangguan dan kerusakan tersebut dalam waktu yang lama dapat menyebabkan kematian sel dan penurunan fungsi duodenum (Gayton, 2008).

Stres berupa kekurangan atau defisiensi nutrisi dan aktivitas berlebihan dapat memicu terjadinya peningkatan radikal bebas di dalam tubuh. Radikal bebas dapat memicu terjadinya rantai reaksi radikal bebas yang menyebabkan kerusakan komponen organik sel, penurunan aktivitas enzim-enzim intraseluler dan ekstraseluler, dan memperantarai penurunan kandungan antioksidan dalam tubuh yang berdampak pada penurunan sistem pertahanan tubuh. Kondisi ini berdampak pada gangguan struktur dan fungsi sel, terutama sel-sel yang rentan terhadap stres, seperti villi, sel-sel epitel kolumnar silindris dan sel Goblet pada duodenum. Mekanisme kerusakan yang ditimbulkan stres terhadap struktur mukosa duodenum dapat melalui perantara peningkatan produksi asam lambung. Produksi bikarbonat pada kelenjar Brunneri duodenum dan paparan asam lambung dengan jumlah yang berlebihan dalam jangka waktu lama dapat menyebabkan proses inflamasi yang dapat merusak struktur mukosa duodenum (Brown, 1992).

Saat ini banyak terdapat kasus yang berkaitan dengan gangguan struktur dan fungsi pencernaan akibat stres, baik karena faktor kekurangan pakan, defisiensi nutrisi maupun aktivitas fisik yang berlebihan. Moore (1997) menyatakan bahwa nutrisi terutama protein dan asam-asam amino mempunyai peran penting selama periode

hipermetabolisme akibat stres dan berperan dalam menunjang perbaikan fungsi jaringan tubuh. Ketersediaan protein dan asam-asam amino pada kondisi gangguan struktur dan fungsi jaringan tubuh berfungsi sebagai katalisator, molekul karier, molekul signal biologis, dan menstimulasi pembentukan komponen struktural. Lebih lanjut dinyatakan bahwa peningkatan kandungan nutrisi pakan, terutama protein dan asam-asam amino sangat diperlukan untuk mempercepat perbaikan struktur dan fungsi jaringan tubuh akibat stres, seperti di duodenum (Rusjiyanto, 2009).

Penggunaan suatu bahan yang memiliki kandungan nutrisi lengkap menjadi alternatif baru untuk mengatasi dan memperbaiki gangguan struktur dan fungsi duodenum, seperti protein, asam-asam amino, vitamin, dan mikromineral. Nutrisi tersebut selain dimanfaatkan oleh sel-sel di duodenum, juga dapat meningkatkan kandungan antioksidan untuk pertahanan tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas yang diproduksi pada kondisi stres. Salah satu bahan yang memenuhi kriteria tersebut adalah daging ikan gabus. Ansar (2010), menyatakan bahwa daging ikan gabus yang mengandung bahan bioaktif yang dapat digunakan untuk memperbaiki struktur dan fungsi duodenum akibat defisiensi nutrisi dan stres, karena bahan ini berfungsi sebagai penyedia protein dan asam-asam amino penting, serta seperti albumin, glutamin, sistein, glisin dan mineral. Albumin, glutamin, sistein, glisin merupakan asam amino kondisional yang sangat dibutuhkan oleh tubuh dalam kondisi stres. Asam amino, seperti glutamin melalui proses metabolisme menghasilkan asam glutamat yang merupakan prekursor untuk sintesis asam nukleat dan antioksidan glutathion (Chambell and Perkins, 2006). Pemberian asam amino ini dapat memperantarai peningkatan energi selular, melindungi struktur dan fungsi mitokondria, granula-granula sitoplasma, retikulum endoplasma, dan menurunkan produksi radikal bebas (Jun *et al.*, 2006). Adapun, asam amino sistein dan glisin merupakan substrat yang mempunyai peran penting dalam pembentukan senyawa perantara (intermidiet) dalam sintesis dan atau resintesis antioksidan glutathion (Dringen *et al.*, 2000). Antioksidan berfungsi dalam sistem pertahanan tubuh dan melindungi sel dari kerusakan akibat radikal bebas pada kondisi stres.

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. Beberapa asam amino yang terkandung dalam daging ikan gabus, meliputi fenilalanin (7,5%), isoleusin (8,34%), leusin (14,98%), metionin (0,81%), valin (8,66%), treonin (8,34%), lisin (17,02%), histidin (4,16%), asam aspartat (17,02%), asam glutamat (30,93%), alanin (10,07%), prolin (5,19%), serin (11,02%), glisin (6,99%), sistein (0,16%), dan tirosin (7,49%). 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). Rata-rata kebutuhan protein untuk memelihara status kesehatan umum dan fisiologi dewasa pada hewan ditetapkan sama untuk orang dewasa sehat dari segala usia yaitu 0,8 g protein/kg berat badan/hari 5 (Rosenbloom, 2009; Deutz *et al.* 2014). Sementara itu, suplemen protein dalam pakan berkontribusi sebesar 17,5% dari keseluruhan konsumsi protein untuk menunjang kebutuhan gizi optimal (Nabella, 2011).

Bukti-bukti tersebut menunjukkan bahwa kandungan nutrisi dalam daging ikan gabus dapat memperantarai perbaikan struktur dan fungsi jaringan atau organ tubuh yang mengalami gangguan akibat stres. Pemberian daging ikan gabus sebagai suplemen pakan menarik untuk diteliti sebagai upaya untuk mendapatkan informasi penting antara kadar pemberian daging ikan gabus dalam pakan dengan perbaikan struktur dan fungsi duodenum akibat stres. Perbaikan struktur duodenum dapat diketahui dari berbagai macam indikator, yang meliputi panjang vili, diameter duodenum, dan ketebalan lapisan mukosa pada duodenum usus halus.

## **MATERIAL DAN METODE**

### ***Tempat dan Waktu Penelitian***

Penelitian dilakukan di laboratorium selama 28 hari.

### ***Subyek Penelitian***

Hewan uji yang digunakan adalah tikus Wistar jantan berjumlah 20 ekor dan berumur 4 bulan dengan berat  $\pm 250$  g yang dibagi ke dalam 5 kelompok perlakuan dengan 4 ulangan.

### ***Alat dan Bahan***

Alat : kandang dan perlengkapannya, blender, pisau, grinder, timbangan, ember, nampan, oven, pengukur kadar air , lemari es, alat bedah untuk duodenum, timbangan analitik, thermostat, mikrotom putar, gelas objek, kaca penutup, hot plate, label, fotomikrograf yang terkoneksi dengan komputer dengan bantuan aplikasi *software Mac Biophotonics Image J*.

Bahan : tikus wistar, pelet komersial, air minum, ember tertutup, daging ikan gabus, air hangat, larutan garam fisiologis (NaCl 0,95%), larutan BNF 10%, larutan fiksatif Bouin, parafin, bertingkat (70%, 80%, 90%, 96%, absolut), toluol, pewarna hematoksilin-eosin, akuades, Mayer's albumin, silol, Canada balsam.

### ***Prosedur Penelitian***

Penelitian ini diawali dengan persiapan dan aklimasi hewan uji. Aklimasi tikus Wistar dilakukan selama satu minggu. Selama aklimasi, tikus-tikus diberi pakan dan air minum secara *ad libitum*.

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

## Sunarno, *et al.* Aplikasi Pakan Kaya Nutrisi dengan Suplementasi

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

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

Di akhir penelitian, hewan uji dipuasakan selama 1 hari sebelum dikorbankan. Tikus-tikus Wistar kemudian dibedah dan dilanjutkan dengan pengambilan duodenum. Bagian usus ini kemudian dimasukkan ke dalam larutan garam fisiologis (NaCl 0,95%), dilanjutkan pematangan dengan ukuran 7 cm, dan kemudian difiksasi dengan menggunakan larutan BNF 10%.

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

dicuci dengan alkohol 70% secara berulang sampai duodenum bersih dari larutan fiksatif Bouin.

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

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

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

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

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

#### ***Analisis Dan Interpretasi Data***

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

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Hasil penelitian tentang respons histologi duodenum, yang meliputi diameter, panjang vili, dan tebal lapisan mukosa dianalisis menggunakan ANOVA (*analysis of variance*) dengan signifikansi 95%. Suplementasi daging ikan gabus dalam pakan yang diberikan pada hewan uji dari hari ke-8 sampai 21 berpengaruh nyata terhadap perbaikan histologi duodenum. Hal tersebut ditunjukkan oleh nilai rata-rata dari beberapa parameter histologi duodenum pada perlakuan yang lebih besar dibanding kontrol (Tabel 1).

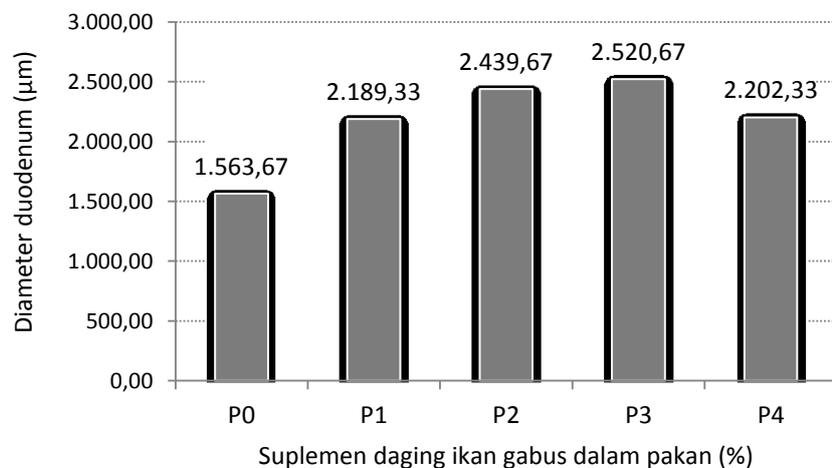
Tabel 1. Hasil analisis rata-rata diameter, panjang vili, dan tebal lapisan mukosa duodenum setelah perlakuan pakan dengan suplementasi daging ikan gabus (*Channa striata*).

Parameter	Perlakuan				
	P0	P1	P2	P3	P4
Ø duodenum	1563,7 <sup>a</sup> ±377,4	2189,3 <sup>b</sup> ±151,6	2439,7 <sup>b</sup> ±158,3	2520,7 <sup>b</sup> ±265,9	2202,3 <sup>b</sup> ±280,8
Panjang vili	211,3 <sup>a</sup> ±7,5	340,7 <sup>ab</sup> ±54,9	445,4 <sup>bc</sup> ±66,1	576,6 <sup>c</sup> ±113,2	435,0 <sup>bc</sup> ±162,8
Tebal mukosa	190,7 <sup>a</sup> ±21,6	250,0 <sup>ab</sup> ±95,5	359,6 <sup>b</sup> ±54,9	506,0 <sup>c</sup> ±72,9	323,6 <sup>ab</sup> ±99,2

Keterangan:

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

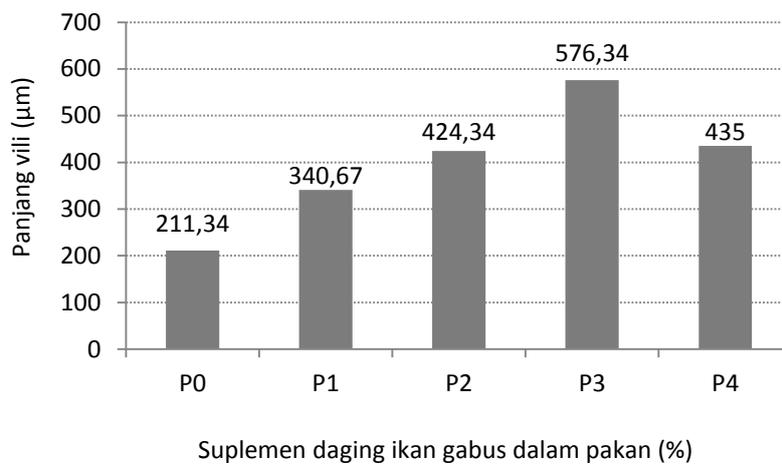
Hasil penelitian ini memberi bukti bahwa suplementasi daging gabus dalam pakan yang diberikan selama 14 hari dari waktu setelah hewan uji mengalami pengondisian stres mampu memperbaiki diameter vili, panjang vili, dan tebal lapisan mukosa duodenum, lebih baik dibanding kontrol. Daging ikan gabus diketahui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



Gambar 1. Diameter duodenum pada tikus Wistar setelah 14 hari diberi pakan dengan suplementasi daging ikan gabus dari waktu pasca stres

Hasil penelitian seperti pada Gambar 1 menunjukkan bahwa P1, P2, P3, dan P4 memberi pengaruh terhadap respons diameter duodenum lebih lebar dibanding P0 (kontrol). P3 dengan konsentrasi 15% memberi pengaruh terhadap respons diameter duodenum paling optimal dibanding perlakuan lainnya, yaitu sebesar 2.520,67 $\mu$ m. Hasil analisis statistik dengan uji Duncan pada signifikansi 95% menunjukkan bahwa respons diameter duodenum pada P3 berbeda nyata dengan kontrol, namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan lainnya (P1, P2, P4).

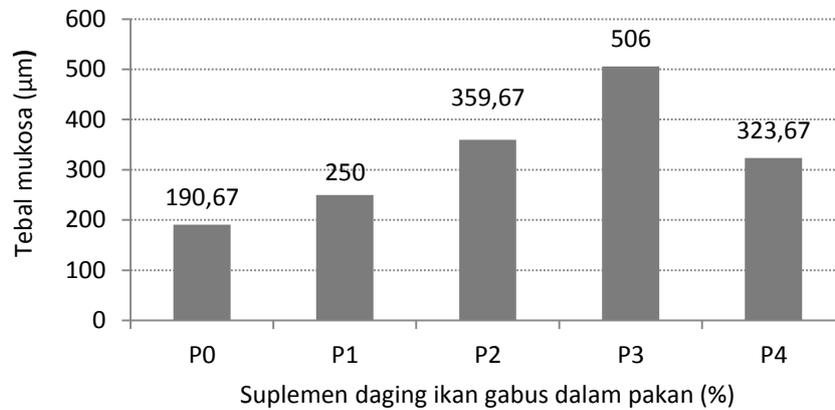
Pemberian pakan dengan suplementasi daging ikan gabus dalam pakan pada tikus Wistar selama 14 hari setelah pengondisian stres selama 6 hari juga berpengaruh terhadap panjang villi duodenum. Respons panjang villi duodenum ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Panjang villi duodenum pada tikus Wistar setelah pengondisian stres yang diikuti pemberian suplementasi daging ikan gabus dalam pakan

Gambar 2 menunjukkan bahwa P1, P2, P3, dan P4 memberi pengaruh terhadap panjang villi duodenum dengan rata-rata nilai yang lebih tinggi dibandingkan dengan P0 (kontrol). Perlakuan pakan dengan suplementasi daging ikan gabus sebanyak 15% mampu memperbaiki panjang villi duodenum secara signifikan dibandingkan dengan keempat perlakuan lainnya. Hal tersebut dapat ditunjukkan dengan P3 yang memberi pengaruh terhadap villi duodenum dengan panjang 576,34 $\mu$ m, lebih panjang dibanding pengaruh perlakuan lainnya. Hasil analisis statistik dengan uji Duncan pada signifikansi

95% menunjukkan bahwa panjang vili duodenum P3 berbeda nyata dengan P0 dan P1, namun tidak berbeda nyata dengan P2 dan P4 (Tabel 1).



Gambar 3. Tebal mukosa duodenum pada tikus Wistar setelah pengondisian stres yang diikuti pemberian suplementasi daging ikan gabus dalam pakan

Suplementasi daging ikan gabus dalam pakan selain meningkatkan kandungan nutrisi pakan juga menjamin ketersediaan bahan baku metabolisme yang digunakan untuk produksi energi dan biosintesis. Hal tersebut memberi kontribusi penting bagi perbaikan jaringan tubuh setelah pengondisian stres. Bukti tentang pengaruh suplementasi daging ikan gabus tampak pada lapisan mukosa duodenum. Respons lapisan mukosa pada perlakuan lebih baik dibanding kontrol. Perlakuan P1, P2, P3, dan P4 memberi pengaruh terhadap respons lapisan mukosa yang lebih tebal dibanding dengan P0 (kontrol). Perlakuan P3 dengan konsentrasi daging ikan gabus dalam pakan sebanyak 15% mampu memberi pengaruh nyata terhadap ketebalan lapisan mukosa duodenum dan paling optimal dengan rata-rata nilai sebesar 506 µm. Uji lanjut Duncan dengan signifikansi 95% menunjukkan bahwa respons ketebalan lapisan mukosa duodenum dari P3 berbeda nyata dengan kontrol dan perlakuan lainnya, P2 berbeda nyata dengan kontrol namun tidak berbeda nyata dengan P1 dan P4 (Tabel 1).

Perbaikan beberapa parameter histologis duodenum memiliki keterkaitan erat dengan kandungan nutrisi dalam daging ikan gabus yang digunakan sebagai suplemen. Daging ikan gabus selain mengandung banyak vitamin dan mineral, juga mengandung protein dan berbagai macam asam amino yang dibutuhkan oleh tubuh. Protein dan asam-asam amino merupakan salah satu nutrisi pakan yang mempunyai peran penting

dalam proses metabolisme. Protein merupakan zat pembangun yang berperan penting dalam proses perbaikan jaringan. Adapun asam-asam amino yang terkandung dalam daging ikan gabus, seperti glutamin, glisin, dan sistein berfungsi sebagai bahan baku dalam sintesis antioksidan glutathione (Sediaoetama, 2004). Peran sinergi antara protein, asam-asam amino, vitamin, dan mineral mengakibatkan terjadinya peningkatan pertahanan seluler untuk mencegah kerusakan jaringan akibat radikal bebas sebagai produk pengondisian stres. Disisi lain, seiring dengan peningkatan pertahanan seluler, peran protein melalui proses metabolisme memberi pengaruh pada proses perbaikan jaringan, terutama di duodenum usus halus. Bukti dari penelitian ini menguatkan hasil penelitian tersebut.

Murray *et al.* (2009) menyatakan bahwa albumin merupakan protein yang berperan dalam meningkatkan laju transportasi berbagai macam nutrisi yang dibutuhkan oleh jaringan tubuh. Albumin diketahui berperan dalam transportasi molekul-molekul kecil melewati plasma dan cairan sel, serta memelihara tekanan osmotik di dalam kapiler. Fungsi albumin sebagai pembawa molekul-molekul kecil memiliki keterkaitan erat dengan bahan metabolisme. Adapun, asam amino glutamin mempunyai peran penting dalam pemeliharaan dan sintesis antioksidan intraseluler, terutama glutathione. Antioksidan ini berfungsi untuk mempertahankan integritas seluler dan mencegah kerusakan jaringan akibat radikal bebas dalam kondisi stres (Schade *et al.*, 2009). Ketersediaan glutamin melalui penambahan suplementasi daging ikan gabus dalam pakan sangat dibutuhkan dalam kondisi stres. Hewan dengan kondisi stres akan mengalami penurunan konsentrasi glutamin dalam tubuh mencapai 50% dibanding kondisi normal, sementara konsentrasi dalam plasma menurun sekitar 20%. Gayton (2008) menyatakan, perlakuan aktivitas yang panjang dan intensif dapat menyebabkan penurunan konsentrasi glutamin plasma dan otot. Hasil penelitian lainnya melaporkan bahwa penurunan konsentrasi glutamin dapat berdampak pada penurunan pertahanan seluler terhadap radikal bebas oksigen (Schade *et al.* 2009). Dalam kondisi tersebut, ketersediaan glutamin sangat esensial dan sangat penting.

Senyawa glutamin dalam daging ikan gabus (*Channa striata*), seperti pada penelitian ini sangat dibutuhkan untuk pemulihan atau perbaikan jaringan dari kondisi

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

Metabolisme glutamin dalam tubuh melibatkan dua jalur utama, yaitu melalui jalur langsung dan asam glutamat. Melalui jalur langsung, glutamin dikonversi menjadi beberapa metabolit turunannya, seperti histidin, triptofan, nukleotida, gula amino, dan glikoprotein. Adapun melalui jalur asam glutamat, glutamin dikonversi menjadi asam glutamat dan  $\alpha$ -ketoglutarat yang selanjutnya melalui siklus Krebs diubah menjadi CO<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>O untuk menghasilkan ATP. Cruzat *et al.* (2007) melaporkan, glutamin dibutuhkan sebagai sumber energi untuk mendukung sintesis nukleotida. Dalam kondisi terjadi penurunan konsentrasi oksigen akibat stres, glutamina berperan sebagai sumber karbon dan penghasil ATP yang memberi kontribusi pada homeostasis glukosa. Transpor amida nitrogen dari glutamin melalui reaksi amidotransferase berperan dalam biosintesis purin dan pirimidin, sintesis DNA, dan RNA (Kulkarni *et al.* 2005; Melis 2008).

Demikian pula asam amino glisin memiliki peran penting dalam biosintesis heme dan hemoglobin (Murray *et al.*, 2009). Perbaikan histologi duodenum pada semua perlakuan, utamanya pada pemberian konsentrasi optimal juga dipengaruhi oleh adanya asam amino glisin dan sistein. Glisin dan sistein berfungsi untuk meningkatkan kandungan antioksidan, membantu tubuh mendetoksifikasi zat-zat kimia dan logam berat, melindungi sel-sel dari kerusakan akibat radikal bebas (Jun *et al.* 2006). Penjelasan ini menguatkan bukti tentang pengaruh suplementasi daging ikan gabus dengan berbagai macam kandungan nutrisinya terhadap perbaikan beberapa parameter histologis duodenum.

## **Sunarno, *et al.* Aplikasi Pakan Kaya Nutrisi dengan Suplementasi**

Hasil dari Uji Duncan dengan signifikansi 95% (Tabel 2) secara umum menunjukkan bahwa respons histologis duodenum oleh suplementasi daging ikan gabus ada perbedaan antara kelompok perlakuan dengan kontrol atau perlakuan yang satu dengan lainnya. Suplementasi daging dalam pakan yang paling optimal adalah perlakuan dengan konsentrasi 15%. Hasil penelitian Nabella (2011) melaporkan bahwa suplemen protein dalam pakan berkontribusi sebesar 17,5% dari keseluruhan konsumsi protein untuk menunjang kebutuhan gizi optimal. Suplementasi daging ikan gabus 15% mampu meningkatkan rata-rata diameter, panjang vili, dan tebal lapisan mukosa duodenum, berurut-turut 23,43%, 46,37%, dan 45,26%, lebih tinggi dibanding kontrol (Tabel 1).

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

Sediaoetama (2004) menyatakan bahwa produk metabolisme protein, seperti ammonia dan urea yang banyak dapat memperberat fungsi hati dan ginjal dan secara otomatis akan mengganggu pemeliharaan atau perbaikan jaringan. Konsentrasi protein yang tinggi di dalam tubuh juga dapat memicu gangguan keseimbangan elektrolit, mineral-mineral penting seperti potassium, kalium, dan magnesium akan dieliminasi melalui urin. Selain itu, metabolisme protein bersifat kurang efisien karena

membutuhkan energi yang cukup besar. Hal ini akan berdampak pada energi yang dibutuhkan untuk pemulihan atau perbaikan jaringan tubuh akan menurun. Penjelasan ini sangat erat kaitannya dengan bukti pada penelitian ini.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan membuktikan bahwa pemberian pakan dengan suplementasi daging ikan gabus (*Channa striata*) selama 14 hari pada hewan uji dari waktu pasca stres dapat memperbaiki diameter, panjang vili, dan lapisan mukosa duodenum. Perlakuan pakan dengan suplementasi daging ikan gabus konsentrasi 15% memberi pengaruh pada peningkatan ukuran diameter, panjang vili, dan ketebalan lapisan mukosa duodenum. Berdasarkan hal tersebut, penggunaan daging ikan gabus sebagai suplemen makanan sangat penting untuk menunjang regenerasi jaringan tubuh yang mengalami perubahan struktur dan penurunan fungsi akibat stres, khususnya duodenum.

### KESIMPULAN

Pemberian pakan dengan suplementasi daging ikan gabus dengan konsentrasi 15% mampu memperbaiki secara optimal struktur histologis duodenum usus halus akibat stres, yang ditandai dengan peningkatan lebar diameter, panjang vili, dan ketebalan lapisan mukosa duodenum.

### DAFTAR PUSTAKA

- Ansar. 2010. *Pengolahan dan Pemanfaatan Ikan Gabus*. Jakarta: Kementrian Pendidikan Nasional Direktorat Jenderal Pendidikan Nonformal dan Informal Direktorat Pendidikan Kesetaraan. ISBN.
- Baratawidjaja, K. G dan I. Rengganis. 2009. *Imunologi Dasar*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.
- Brown, D. 1992. *Buku teks Histologi Veteriner Edisi III*. Jakarta: UI Press
- Champbell, K. J and N. D. Perkins. 2006. Regulation of NF-kappaB Function. *Biochem Soc Symp.* 73 : 165 – 180.
- Cruzat, V. F., M. M. Rogero, M. C. Borges and J. Tirapegui. 2007. Current Aspects About Oxidative Stress, Physical Exercise and Supplementation. *Rev Bras Med Esporte*, 13(5):304e-310e.

## Sunarno, *et al.* Aplikasi Pakan Kaya Nutrisi dengan Suplementasi

- 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.
- Guyton 2008. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran . Edisi 11. Jakarta : EGC.
- 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.
- Kulkarni C, Kulkarni KS, Hamsa BR. 2005. L-Glutamic acid and glutamine: exciting molecules of clinical interest. *Indian J Pharmacol*, 37(3): 148-154.
- Melis GCL. 2008. The metabolic pathway of (alanyl-) glutamine into citrulline and arginine in surgical patients (*Thesis*). The Netherlands: Vrije Universiteit.
- Moore, M. C. 1997. *Buku Pedoman Terapi Diet dan Nutrisi*. Jakarta: Hipokrates.
- Murray, R.K., D. A. Bender, K. M. Botham, P. J. Kennelly, V.W. Rodwell and P.A. Weil. 2009. *Harper's Illustrated Biochemistry 28<sup>th</sup> Edition*. USA: The McGraw-Hill Companies.
- Nabella, H. 2011. Hubungan Asupan Protein dengan Kadar Ureum dan Kreatinin pada *Bodybuilder*. *Artikel Penelitian*. Semarang: Program Studi Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro,.
- Nseabasi NE, E. E. A. Offiong, G. D. Eyoh and M. D. Udo. 2013. Stress and Animal Welfare: An Uneasy Relationship. *European Journal of Advanced and Research in Biological and Life Sciences*, 1 (1): 9-16.
- 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.

- Sediaoetama. 2004. *Ilmu Gizi untuk Mahasiswa dan Profesi Jilid 1*. Jakarta : Dian Rakyat.
- 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.
- Winarsi. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas dan Aplikasinya dalam Kesehatan*. Yogyakarta: Kanisius..