



# HISTOLOGI JARINGAN TULANG HEWAN MODEL IKAN MEDAKA SULAWESI *Oryzias celebensis* PASCA PERLAKUAN FRAKTUR (STUDI KASUS PADA REMODELING TULANG)



**RAHMAWATI**

**H041 20 1008**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

**HISTOLOGI JARINGAN TULANG HEWAN MODEL IKAN MEDAKA  
SULAWESI *Oryzias celebensis* PASCA PERLAKUAN FRAKTUR  
(STUDI KASUS PADA REMODELING TULANG)**

**RAHMAWATI  
H041 20 1008**



Optimization Software:  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

**HISTOLOGI JARINGAN TULANG HEWAN MODEL IKAN MEDAKA  
SULAWESI *Oryzias celebensis* PASCA PERLAKUAN FRAKTUR  
(STUDI KASUS PADA REMODELING TULANG)**

**RAHMAWATI  
H041 20 1008**

Skripsi

*Diajukan sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana*

Program Studi Biologi

Pada



**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
DEPARTEMEN BIOLOGI  
MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

**SKRIPSI****HISTOLOGI JARINGAN TULANG HEWAN MODEL IKAN MEDAKA  
SULAWESI *Oryzias celebensis* PASCA PERLAKUAN FRAKTUR  
(STUDI KASUS PADA REMODELING TULANG)****RAHMAWATI**  
**H041201008**

Skripsi,

Telah Dipertahankan di Depan Panitia Ujian Sidang Biologi Pada 21 Juni 2024  
Dan Dinyatakan Telah Memenuhi Syarat Kelulusan

pada

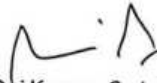
Program Studi Biologi  
Departemen Biologi  
Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Hasanuddin  
Makassar

Mengesahkan:

Pembimbing Utama

Dr. Irma Andriani, S.Pi., M.Si  
NIP. 1971108091999032002

Pembimbing Pertama

Dr. Drh. Dwi Kesuma Sari, Ap. Vet  
NIP. 197392161999032001Mengetahui:  
Ketua Program Studi  
Dr. Magdalena Litaay, M.Sc  
NIP. 196409291989032002

### PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul "Histologi Jaringan Tulang Hewan Model Ikan Medaka Sulawesi *Oryzias Celebensis* Pasca Perlakuan Fraktur (Studi Kasus Pada Remodeling Tulang)" adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing Dr. Irma Andriani, S.Pi., M.Si sebagai Pembimbing Utama, dan Dr. Drh. Dwi Kesuma Sari, Ap. Vet sebagai Pembimbing Pertama. Skripsi ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi manapun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 21 Juni 2024



Optimization Software:  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

## UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji bagi Allah *Subhanahu wa Ta'ala*, Sang pengatur setiap jejak kehidupan, yang telah memberikan karunia dan rahmat-Nya kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan penelitian ini dan menyusun skripsi dengan judul berjudul "Histologi Jaringan Tulang Hewan Model Ikan Medaka Sulawesi *Oryzias Celebensis* Pasca Perlakuan Fraktur (Studi Kasus Pada Remodeling Tulang)" sebagai salah satu syarat dalam menyelesaikan Pendidikan dan memperoleh gelar Sarjana Sains di Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin. Shalawat serta salam senantiasa tetap tercurah kepada Rasulullah SAW, sebagai teladan terbaik dalam kehidupan.

Proses penyelesaian skripsi ini, merupakan suatu rangkaian perjuangan yang cukup panjang bagi penulis. Selama proses penelitian dan penyusunan skripsi ini tidak sedikit kendala yang penulis hadapi, banyak hal serta kendala yang penulis harus lewati. Berkat usaha dan do'a yang disertai motivasi, bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak akhirnya penelitian dan penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan oleh penulis. Oleh karena itu, penulis merasa sangat bersyukur dan mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada semua pihak yang telah banyak membantu dalam proses penyelesaian skripsi ini.

Penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada keluarga besar terkhusus kedua orang tua, Ayahanda Bambang Julianto dan Ibunda Rahmatia atas dukungan baik secara materil serta lantunan do'a, dan cinta kasih yang telah diberikan kepada penulis. Terima kasih karena telah banyak memberikan nasehat dan teladan selama penulis menempuh Pendidikan dari tingkat dasar hingga tingkat tinggi.

Penulis menyampaikan penghargaan setinggi-tingginya dan terima kasih kepada Ibu Dr. Irma Andriani, S.Pi., M.Si selaku pembimbing utama dan Ibu Dr. Drh. Dwi Kesuma Sari, Ap. Vet selaku pembimbing pertama atas kesediannya meluangkan banyak waktu, tenaga dan pikiran dalam memberikan bimbingan dan motivasi kepada penulis, mulai dari awal penyusunan sampai penyelesaian skripsi ini. Penulis juga mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Si., selaku rektor Universitas Hasanuddin beserta jajarannya.
2. Bapak Dr. Eng Amiruddin, M.Sc., selaku dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin beserta seluruh staf yang telah membantu penulis dalam hal akademik dan administrasi.
3. Ibu Dr. Magdalena Litaay, M.Sc., selaku Ketua Departemen Biologi, Fakultas

dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin. Penulis mengucapkan terima kasih atas ilmu, masukan, saran dan dukungannya.

Tuwo, S.Si., S.Pd, M.Sc. dan Rosana Agus, S.Si., M.Si selaku pembimbing, terima kasih atas segala arahan dan saran serta motivasi yang diberikan kepada penulis demi kesempurnaan skripsi ini.



5. Bapak/Ibu Dosen Departemen Biologi yang telah membimbing dan memberikan ilmunya kepada penulis, baik pada waktu mengikuti perkuliahan maupun pada saat penelitian dan penyelesaian skripsi ini.
6. Nur Indah Agustin selaku partner penelitian, dan teman perjuangan semasa kuliah, yang selalu menemani dan memotivasi mulai dari awal masa studi, hingga saat ini.
7. Sahabat-sahabat Penulis, terima kasih atas dukungan, bantuan do'a, dan kebersamaannya selama proses penelitian hingga penyusunan skripsi ini terkhusus kepada Nurul Amalia, Melati Reski Wulandari, Hasnawati, Rivaldi Pratama, Dodi Setiawan, Ariani. A, Diah Muchlisah Yuliandini, Nur Ainul dan Nadila Nurchalisa.
8. Sahabat-sahabat KKN penulis, terima kasih atas dukungan dan do'a serta kebersamaannya selama proses penyusunan skripsi ini terkhusus kepada Yazid Farras, Rivaldo Tandi Bungin, Raudiah Magfirah Dahlan, Ahmad Alwan Puja Andi Pampang, Muh. Jabal Nur, dan Nur Khalis Anwar.
9. Teman-teman Biologi Angkatan 2020, terima kasih atas do'a, dan kebersamaannya selama perkuliahan, terkhusus kepada Yusniar.
10. Seluruh pihak yang telah membantu dan memberikan dukungan yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis berharap semoga segala kebaikan yang diberikan kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini dapat bernilai ibadah di sisi Allah SWT. Akhir kata, penulis memohon maaf atas kesalahan yang disengaja maupun tidak disengaja dalam rangkaian penyusunan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca.

Makassar, 21 juni 2024

Rahmawati



## ABSTRAK

RAHMAWATI Histologi Jaringan Tulang Hewan Model Ikan Medaka Sulawesi *Oryzias Celebensis* Pasca Perlakuan Fraktur (Studi Kasus Pada Remodeling Tulang) (dibimbing oleh Irma Andriani dan Dwi Kesuma Sari)

**Latar belakang.** Perubahan histologi jaringan tulang pada hewan model *Oryzias celebnecis* pasca fraktur yang merupakan cedera yang sering terjadi pada tulang belakang, termasuk ikan. Namun, proses remodeling tulang pada spesies ini belum sepenuhnya dipahami. **Tujuan.** Penelitian dilakukan untuk mengetahui perubahan histologi jaringan tulang pada hewan model *Oryzias celebnecis* setelah mengalami perlakuan fraktur. **Metode.** Sampel yang telah di fraktur melalui tahap pengawetan organ, dehidrasi, clearing, embedding, cutting, pewarnaan HE dan diamati menggunakan mikroskop. **Hasil.** Berdasarkan penelitian, menunjukkan bahwa kelompok perlakuan 1 (P1) ikan medaka yang memiliki ukuran 2 cm menunjukkan bahwa proses remodeling tulangnya berlangsung lebih cepat dari pengamatan hari ke-0, 10, 20 dan 30. Sedangkan Kelompok perlakuan 2 (P2 ) yang memiliki ukuran 3 cm menunjukkan bahwa proses remodeling tulangnya berlangsung lebih lambat dibandingkan perlakuan P1 dari pengamatan hari ke-0, 10, 20 dan 30. **Kesimpulan.** Sampel ikan medaka (*Oryzias celebensis*) yang menunjukkan proses remodeling tulang pasca fraktur. Remodeling tulang pada kelompok P1 dengan ukuran tubuh 2 cm, menunjukkan bahwa proses remodeling tulangnya berlangsung lebih cepat dari hari pengamatan ke-0 hingga hari ke-30, sementara kelompok P2 dengan ukuran tubuh 3 cm, menunjukkan proses remodeling yang lebih lambat dalam rentang waktu yang sama.

**Kata kunci:** Ikan medaka *Oryzias celebensis*, Fraktur, Remodeling Tulang, Histologi.





## ABSTRACT

RAHMAWATI Histology of Bone Tissue in Medaka Fish (*Oryzias celebensis*) from Sulawesi After Fracture Treatment (Case Study on Bone Remodeling) (Supervised by Irma Andriani and Dwi Kesuma Sari)

**Background.** Histological changes in bone tissue in the animal model *Oryzias celebensis* after fracture, a common injury in the vertebral column, including in fish.

However, the bone remodeling process in this species is not yet fully understood.

**Objective.** The research was conducted to determine the histological changes in bone tissue in the animal model *Oryzias celebensis* after experiencing a fracture.

**Methods.** Samples that had undergone fractures went through stages of organ preservation, dehydration, clearing, embedding, cutting, HE staining, and observation using a microscope.

**Results.** The research indicated that treatment group 1 (P1) of medaka fish, with a size of 2 cm, showed that the bone remodeling process occurred more rapidly from observations on days 0, 10, 20, and 30. In contrast, treatment group 2 (P2) with a size of 3 cm showed that the bone remodeling process occurred more slowly compared to P1 from observations on days 0, 10, 20, and 30.

**Conclusion.** Medaka fish (*Oryzias celebensis*) samples showed the process of bone remodeling after fracture. Bone remodeling in group P1 with a body size of 2 cm occurred more quickly from day 0 to day 30 of observation, while group P2 with a body size of 3 cm showed a slower remodeling process over the same period.

**Keywords:** Medaka fish *Oryzias celebensis*, Fracture, Bone Remodeling, Histology.



## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PENGESAHAN .....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA.....	iii
UCAPAN TERIMA KASIH .....	iv
ABSTRAK .....	vii
<i>ABSTRACT</i> .....	viii
DAFTAR ISI .....	ix
DAFTAR TABEL .....	xi
DAFTAR GAMBAR .....	xii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xii
BAB 1 PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Teori .....	2
1.2.1 Ikan Medaka <i>Oryzias celebensis</i> .....	2
1.2.2 Tulang .....	4
1.2.3 Luka .....	7
1.3 Rumusan Masalah .....	11
1.4 Tujuan Penelitian .....	12
1.5 Waktu dan Tempat .....	12
BAB 2 METODE PENELITIAN .....	13
2.1 Alat dan Bahan .....	13
2.1.1 Alat .....	13
2.1.2 Bahan .....	13
2.2 Metode Penelitian .....	13
2.2.1 Rancangan Penelitian.....	14
2.2.2 Pelaksanaan Penelitian.....	14
2.2.3 Pengamatan.....	16
2.2.4 Pembahasan .....	17
2.2.5 Kesimpulan.....	17
2.2.6 Daftar Pustaka.....	24



BAB 4 KESIMPULAN DAN SARAN .....	29
4.1 Kesimpulan .....	29
4.2 Saran .....	29
DAFTAR PUSTAKA .....	30
LAMPIRAN .....	35



## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Prosedur <i>tissue processor</i> dan pengaturan waktu.....	15
2. Tahap Pewarnaan Mayers <i>Hematoxylin Eosin</i> .....	15
3. Aktivitas remodeling tulang ekor ikan medaka Sulawesi ( <i>Oryzias celebensis</i> ) pasca fraktur dengan ukuran 2 cm dan 3 cm, berdasarkan parameter dan aktivitas sel tulang .....	23



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Medaka <i>Oryzias celebensis</i> .....	2
2. Gambaran umum kolom tulang belakang dan sirip di medaka dan gambar <i>close-up</i> pada kerangka kompleks ekor .....	5
3. Histologi Sirip Proksimal Ikan Zebra Yang Tidak Terluka .....	6
4. Penyembuhan primer.....	9
5. Tahap awal tahap fibroplastik pembentukan tulang dan tahap akhir tahap fibroplastik pembentukan tulang .....	10
6. Histologi tulang ekor ikan normal dengan penggunaan kaca mikroskop pembesaran skala bar 25 $\mu\text{m}$ .....	17
7. Histologi tulang ekor ikan ukuran 2 cm dengan penggunaan kaca mikroskop pembesaran skala bar 25 $\mu\text{m}$ .....	20
8. Histologi tulang ekor ikan ukuran 3 cm dengan penggunaan kaca mikroskop pembesaran skala bar 25 $\mu\text{m}$ .....	23



## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Tubuh manusia memiliki mekanisme perlindungan yang beragam untuk mempertahankan kesehatan dan keselamatan tubuh. Salah satu contohnya adalah melalui kerangka dan tulang, yang berfungsi sebagai benteng pelindung yang kokoh bagi organ-organ krusial seperti jantung, paru-paru, dan otak, menjaga agar tidak terkena cedera fisik serta memberikan struktur dan dukungan yang vital pada tubuh. Tulang adalah jaringan keras yang membentuk dasar struktural tubuh manusia. Selain itu, tulang juga memiliki kemampuan untuk melakukan regenerasi ketika mengalami trauma/fraktur. Kemampuan regenerasi ini memungkinkan tubuh untuk memperbaiki diri dan pulih dari cedera, mendukung proses penyembuhan yang optimal (Bahney dkk., 2019).

Luka adalah keadaan di mana jaringan tubuh mengalami kerusakan atau gangguan pada integritasnya (Bawotong dkk., 2020). Luka pada jaringan keras dapat terjadi akibat trauma yang mendadak, melebihi batas kekuatan jaringan keras, sehingga menyebabkan kehilangan kontinuitas, seperti fraktur tulang atau keadaan patologis (Bahney dkk., 2019). fraktur adalah kondisi ketika terjadi terputusnya kontinuitas atau keutuhan tulang, dan jenis serta tingkat keparahannya dapat bervariasi (Kondi dan Gowda, 2023). Penanganan luka pada jaringan keras, terutama fraktur, melibatkan evaluasi medis, diagnosis yang tepat, dan perawatan yang sesuai. Penting juga mengelola kondisi patologis yang bisa memicu luka pada jaringan keras agar menghindari komplikasi (Eiff dan Hatch, 2011).

Proses regenerasi tulang, yang dikenal sebagai "penyembuhan tulang" atau "*bone healing*" (Schlundt dkk., 2021). Prosedur restorasi tulang memiliki tiga fase yang saling bersinggungan mulai dari peradangan, produksi tulang, dan remodeling tulang (Ansari, 2019). Selama siklus hidup, proses remodeling tulang terus berlanjut karena penting dalam penyembuhan tulang setelah cedera seperti fraktur, dan juga berperan penting untuk mempertahankan kesehatan, kekuatan, dan integritas tulang sepanjang waktu (Rowe dkk., 2018).

Ikan Medaka dijadikan sebagai hewan model dalam penelitian ini. Tahapan penyembuhan luka pada ikan medaka bermanfaat sebagai hewan model karena tahapannya memiliki kesamaan dengan tahapan penyembuhan luka pada mamalia, termasuk manusia (Chowdhury dkk., 2022). Selain itu, ikan Medaka memiliki siklus hidup yang lebih cepat, lebih banyak kemampuan reproduksi, dan biaya pemeliharaan yang relatif rendah, menjadikannya pilihan yang menarik untuk studi



Berdasarkan hasil penelusuran peneliti di Indonesia belum banyak penelitian terkait penyembuhan luka jaringan keras dengan menggunakan hewan model ikan Medaka. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian ini untuk memahami proses penyembuhan luka yaitu remodeling tulang jaringan keras.

## 1.2 Teori

### 1.2.1 Ikan Medaka

Ikan medaka Sulawesi, *Oryzias celebensis*, merupakan salah satu ikan kelas Actinopterygii yang asli Sulawesi Selatan (Serdiati dkk., 2023). Pada tahun 2009, 32 spesies ikan *Oryzias* sp. diidentifikasi di Asia, 14 di antaranya hanya ditemukan di perairan Pulau Sulawesi, sementara enam lainnya ditemukan di danau tertentu di pulau tersebut. *Oryzias* sp. karena sebagian besar spesiesnya dapat ditemukan di sawah, ikan ini juga sering disebut sebagai "ikan padi". Meskipun banyak spesies ikan lain yang menghuni berbagai jenis perairan, nama genus *Oryzias* diambil dari nama ilmiah tanaman padi yaitu *Oryza* akibatnya, spesies *Oryzias* dianggap sebagai ikan air tawar (Murata dkk., 2019).

Klasifikasi ikan medaka celebes (*Oryzias celebensis*) dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Class	: Pisces
Subclass	: Teleostei
Ordo	: Belontiiformes
Family	: Adrianichthyidae
Genus	: <i>Oryzias</i>
Spesies	: <i>Oryzias celebensis</i>



an Medaka *Oryzias celebensis* (Said dan Hidayat, 2015).

asa, kata “medaka” berarti “mata di atas” (me = mata, daka =  
cu pada ciri khas ikan ini yaitu mempunyai mata yang terletak  
ni paling jelas terlihat pada malam hari, saat kedua mata ikan  
p dominan. Nama “ricefish” mengacu pada fakta bahwa ikan ini

berukuran kecil, menghuni banyak kolam kecil, parit, dan sawah, serta ditemukan di perairan tawar hingga payau (Fahmi dkk., 2015).

#### 1.2.1.1 Ciri-ciri Ikan Medaka

Ikan Medaka memiliki sejumlah ciri yang sama satu sama lain, termasuk siklus hidup yang singkat, embrio dan korion yang transparan, reproduksi yang cepat, telur menetas 7 hari setelah pembuahan, dan benih yang baru menetas berkembang dan matang secara seksual selama 3 bulan (Zhu dkk., 2018). Setiap hari, ikan medaka betina biasanya akan bertelur dalam jumlah banyak dan jumlah telur yang dihasilkan dapat bervariasi tergantung pada usia dan kondisi fisik individu betina. Selain itu, Ikan *Oryzias celebensis* merupakan organisme yang bersifat *euryhaline* yaitu memiliki kemampuan dalam menoleransi tingkat salinitas dengan jangkauan yang luas (Myosho dkk., 2018).

Bagian belakang, samping, dan kepala *Oryzias celebensis* semuanya bernuansa kuning pucat. Pangkal sirip dubur berwarna emas pucat, dengan selaput sirip punggung bening. Selaput sirip perut berwarna kuning pucat, bagian submarginal sirip punggung dan sirip ekor perut berwarna oranye keemasan. Panjang moncong 5,4 mm (3,2 mm-7,5 mm), panjang kepala 4,0 mm, kepala kurang rapat dibandingkan badan, bagian depan kepala berbentuk seperti kompresi, moncong lebih pendek dari diameter mata. Ukuran mata: 2.3mm (kisaran: 2.2mm–2.4mm). Mulutnya hampir berbentuk horizontal. Daerah perut mulai dari kepala hingga sirip dubur agak cembung. Pada bagian memanjang antara 29 dan 33 milimeter, tubuhnya dilapisi sisik sikloid (Magtoon dan Termvidchakorn, 2009).

#### 1.2.1.2 Pemanfaatan Ikan Medaka

Model hewan sering digunakan dalam penelitian biologi untuk menilai suatu sistem atau model. Hasil dari model hewan ini diyakini dapat diterapkan pada skala yang lebih luas. Hewan model biasanya berukuran kecil, memiliki siklus reproduksi singkat, dan dapat disimpan di laboratorium atau dalam kondisi terkendali (Fahmi dkk., 2015). Berasal dari Asia, ikan medaka (*Oryzias* sp.), sering dikenal sebagai "ikan nasi" atau piring nasi, digunakan sebagai ikan estetika atau sebagai ikan non-makanan. Selain itu, ini adalah salah satu model hewan paling terkenal yang digunakan para ilmuwan untuk menyelidiki berbagai topik ilmiah, khususnya biologi dan kedokteran, dan berfungsi sebagai alternatif dari Ikan Zebra, yang diciptakan sebagai model hewan. Penyakit Parkinson yang disebabkan oleh faktor keturunan dan lingkungan dapat dipelajari dengan menggunakan ikan medaka sebagai hewan model. Untuk menguji potensi pengobatan diabetes, kanker, khususnya kanker kulit, dan penyakit degeneratif lainnya, beberapa jenis ikan medaka mutan telah dikembangkan (Sari, 2021).



Optimization Software:  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

biologi, ikan medaka memiliki sejumlah keunggulan yang er sebagai ikan model. Keunggulan tersebut antara lain ukuran tar 4-5 cm), daya tahan tubuh yang relatif kuat, kemampuan i wadah dan lingkungan penelitian, kemampuan membedakanya berdasarkan morfologi atau bentuk sirip, kecenderungan ang hari, dan telur yang relatif besar dan transparan sehingga aan (Fahmi dkk., 2015).



### 1.2.2 Tulang

Tulang adalah sejenis jaringan ikat yang berfungsi sebagai penghubung struktural dan pelindung serta terdiri dari sel, serat, dan bahan dasar. Tulang berfungsi sebagai penghubung tubuh dan memberikan perlindungan pada otot, tendon, dan persendian. Tulang mempunyai ciri fisik yang kuat, agak elastis dan tahan terhadap tekanan, serta merupakan zat yang relatif ringan. Kombinasi kekuatan, tahan tekanan, dan kemampuan regenerasi membuatnya menjadi jaringan yang sangat penting untuk kesehatan dan fungsi tubuh manusia. Selain itu, tulang sangat rentan terhadap faktor endokrin, nutrisi, dan metabolisme. Tulang adalah material hidup dinamis yang terus diperbarui dan direkonstruksi sepanjang hidup, terlepas dari kekuatan dan kekerasannya (Ping dkk., 2022). Sistem organ kerangka yang dikenal sebagai tulang memberikan bentuk tubuh, dukungan mekanis, perlindungan, dan kemudahan pergerakan. Selain itu, tulang mempunyai peran dalam homeostasis mineral tubuh dan menurut penemuan baru, terlibat dalam kontrol endokrin metabolisme energi (Su dkk., 2019).

Salah satu komponen tubuh ikan adalah tulangnya. konsentrasi kalsium tertinggi karena kalsium, fosfor, dan karbonat merupakan komponen utama tulang ikan. Kalsium fosfat dan kreatin fosfat, dua garam mineral yang terdapat pada tulang, memiliki kemampuan untuk meningkatkan nilai gizi produk makanan. Kalsium (5,63 g/kg) dan fosfor (2,38 g/kg) keduanya terdapat dalam tulang ikan (Trilaksani, Salamah & Nabil, 2006). Tulang ikan membentuk 10% dari total massa tubuh ikan. Salah satu komponen tubuh ikan yang jarang dimanfaatkan adalah struktur tulangnya. Nutrisi mikro dan makro mineral yang penting untuk kesehatan tubuh manusia dapat ditemukan dalam tulang ikan, menjadikannya sumber yang berharga untuk mendukung asupan nutrisi yang seimbang (Ashraf dkk., 2020).

Tulang terdiri dari 92% zat padat organik, anorganik, dan sel tulang dan hanya 8% air. Matriks tulang merupakan zat organik yang mengandung 28% kolagen dan 5% protein yang bukan kolagen. Osteoblas, osteosit, dan osteoklas adalah tiga kategori utama komponen seluler tulang (Nanda dkk., 2022).

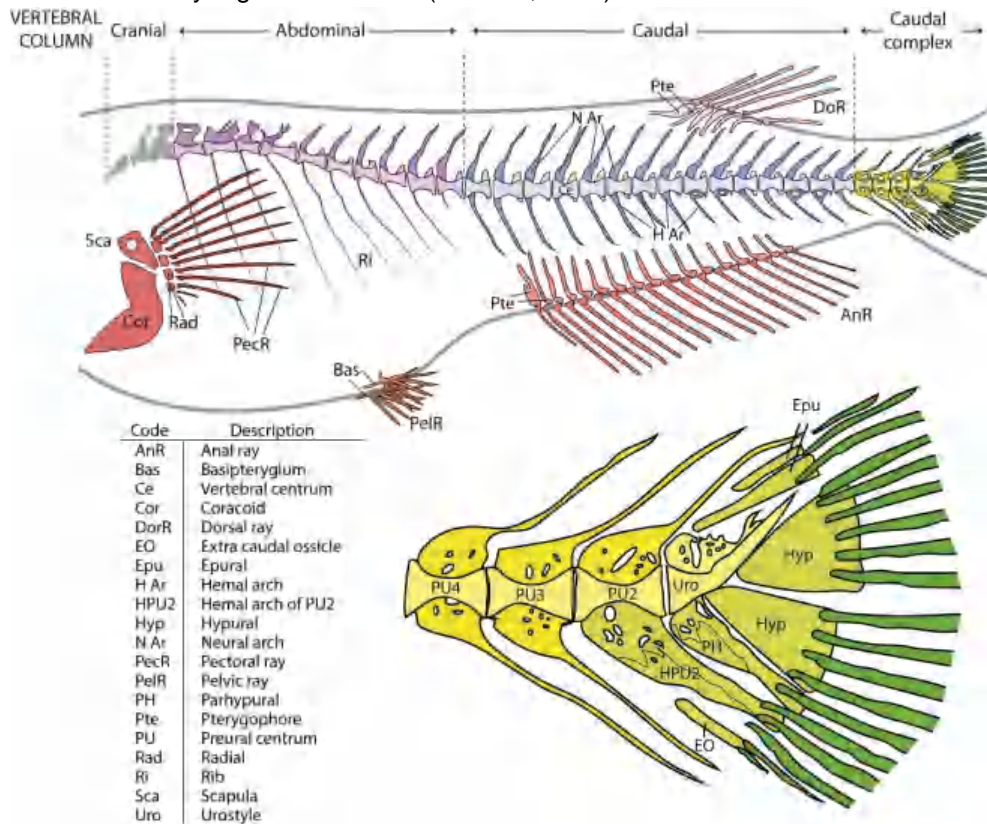
Osteoblas bekerja untuk menciptakan matriks tulang, yang penting untuk perkembangan, pemeliharaan, dan renovasi tulang. Osteoblas berkembang dari sel mesenkim yang telah mengalami diferensiasi atau dari sel yang terletak di lapisan dalam periosteum. Dari osteoblas yang terkurung dalam matriks tulang yang terkalsifikasi, osteosit berkembang. Sel-sel ini berkontribusi pada nutrisi tulang dengan mentransfer oksigen, metabolit, dan kalsium. Sel tulang yang disebut osteoklas melakukan proses penyerapan tulang. Enzim seperti lisozim fosfat hadir dalam sel-sel ini (Clarke, 2008).

membentuk kerangka tubuh kita, memiliki peran penting dalam dan melindungi organ-organ vital. Fraktur dapat mengganggu yang dapat menyebabkan rasa sakit, ketidakmampuan bergerak, ra. Oleh karena itu, pemahaman tentang fraktur, proses serta cara penanganan yang tepat sangat penting dalam bidang (2019).



### 1.2.2.1 Anatomi Tulang Ikan Medaka

Ikan teleost, seperti medaka, mengembangkan tulang melalui osifikasi kondral dan intramembran. Gen-gen yang terlibat dalam pembentukan tulang menunjukkan tingkat konservasi asam amino (aa) yang tinggi dan tingkat ekspresi antara teleost dan mamalia (Bergen dkk., 2019). Pada ikan medaka, selain ikan zebra, tulangnya aseluler dan tidak memiliki osteosit (Ofer dkk., 2019). Kerangka aksial medaka terdiri dari tulang intramembrane dan berkembang tanpa pembentukan perancah tulang rawan. Sebaliknya, itu dibentuk dalam secara tersegmentasi dari posisi anterior (kepala) ke posterior (ekor) di sekitar selubung notokord yang termineralisasi, dengan ligament intervertebralis yang memisahkan badan vertebra yang bersebelahan (Mo dkk., 2020).

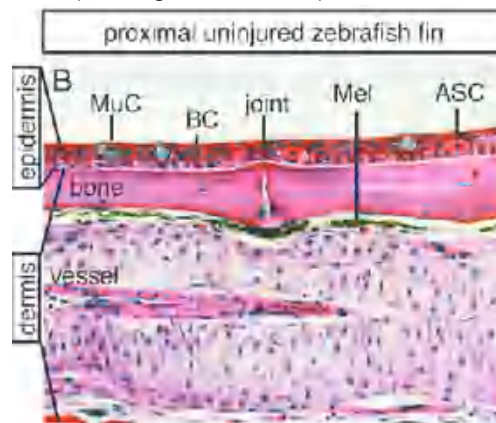


**Gambar 2.** Gambaran umum kolom tulang belakang dan sirip di medaka dan gambar *close-up* pada kerangka kompleks ekor (Di Biagio dkk., 2022).

Medaka memiliki dua sirip berpasangan (sirip dada: merah; sirip perut: ungu-abu) dan dua sirip tidak berpasangan (sirip dubur: merah muda tua; sirip ekor: hijau). Kolom vertebral dibagi menjadi 4 bagian (kepala (merah), perut (ungu), ekor (biru), dan kompleks ekor (hijau)). Vertebra ditampilkan dengan warna yang lebih terang, lengkungan vertebra dengan warna yang lebih gelap. Demikian pula, penopang bagian berpasangan dan tidak berpasangan (radial, skapula, dan coracoid pada



sirip dada, basipterigia pada sirip perut, dan pterigofor pada sirip punggung dan dubur) memiliki warna yang lebih terang, sedangkan sinar sirip kulit memiliki warna yang lebih gelap. Pada gambar bawah, vertebra kompleks ekor (berwarna kuning) terdiri dari 3 vertebra preural (PU). Lengkungan hemal termodifikasi (parhypural, PH) dari urostyle (Uro) dan lengkungan hemal termodifikasi PU2 (HPU2) diklasifikasikan sebagai bagian dari sirip ekor, bersama dengan sinar, epural (Epu), hypural (Hyp), dan sirip ekor. tulang ekor ekstra (EO). PH dan HPU2 telah dimodifikasi untuk meningkatkan kekakuan sirip dan mendukung sinar ekor (hijau tua). Tabel tersebut mewakili gambaran umum yang komprehensif dari semua elemen kerangka yang diselidiki, memberikan informasi yang relevan dan mendetail tentang struktur dan fungsi setiap elemen tersebut (Di Biagio dkk., 2022).



**Gambar 3.** Histologi Sirip Proksimal Ikan Zebra Yang Tidak Terluka. Epidermis sirip yang bertingkat hanya terdiri dari beberapa lapisan sel dan tidak memiliki stratum korneum; mengandung lapisan sel basal (BC) dan sel epitel khusus, seperti sel mukosa (MuCs) dan sel zat alarm (ASCs); dermis sinar sirip terdiri dari tulang tersegmentasi yang diproduksi oleh osteoblas dan jaringan mesenkim yang tervascularisasi; Mel, melanosit.

Pada pembesaran skala bar 50  $\mu\text{m}$ , histologi tulang ikan normal menunjukkan struktur epidermis sirip yang bertingkat, terdiri dari beberapa lapisan sel tanpa stratum korneum. Lapisan ini mengandung sel basal (BC) di bagian terdalam, yang berfungsi sebagai lapisan regeneratif. Selain itu, terdapat sel epitel khusus seperti sel mukosa (MuCs), yang berperan dalam sekresi lendir untuk melindungi permukaan sirip, dan sel zat alarm (ASCs), yang berfungsi sebagai mekanisme pertahanan terhadap predator. Dermis sinar sirip terdiri dari tulang yang dihasilkan oleh osteoblas, memperlihatkan aktivitas yang sehat dan berkelanjutan. Jaringan mesenkim di sekitar tulang menunjukkan vaskularisasi yang baik, memastikan suplai nutrisi dan oksigen untuk sel-sel yang terlibat dalam proses remodeling tulang. Melanin (Mel) yang tersebar di dermis memberikan pigmen dan berperan dalam pertahanan terhadap radiasi ultraviolet. Analisis pada pembesaran ini



memberikan pandangan yang mendalam dan terperinci mengenai kesehatan serta fungsi normal dari struktur histologis tulang ikan (Jaźwińska dan Sallin, 2016).

### 1.2.2.2 Persamaan Tulang Ikan Medaka dan Tulang Manusia

Jaringan tulang mengandung tiga jenis sel utama: osteoblas, osteoklas, dan osteosit. Osteoblas dan osteoklas juga terbentuk pada mamalia dan ikan teleost. Baik pada manusia maupun ikan medaka, osteoblas berperan dalam proses osteogenesis, membentuk dan memperbaiki struktur tulang. Sama seperti manusia, ikan medaka juga memiliki osteoklas yang terlibat dalam mengatur keseimbangan antara pembentukan dan penghancuran tulang. Sebaliknya, meskipun rata-rata kerangka manusia dewasa mengandung sekitar 42 miliar osteosit (Buenzli dan Sims, 2015), hanya beberapa spesies teleost (seperti ikan zebra) yang memiliki osteosit, sementara spesies lain tidak memiliki osteosit (seperti medaka). Kesamaan ini mencerminkan prinsip-prinsip dasar dalam biologi tulang dan memberikan dasar yang kuat untuk memahami proses-proses tulang di berbagai spesies, termasuk manusia dan ikan medaka. Meskipun perbedaan mungkin ada, pengertian tentang sel tulang dan peran masing-masing jenis sel ini tetap relevan dalam konteks osteogenesis dan homeostasis tulang (Stein dkk., 2023).

## 1.2.3 Luka

### 1.2.3.1 Definisi luka

Luka merupakan suatu keadaan dimana jaringan tubuh mengalami kerusakan yang disebabkan beberapa faktor seperti kecelakaan atau benturan, gigitan hewan yang dapat menyebabkan cedera dalam bentuk luka atau luka berdarah, goresan benda tajam yang bisa menghasilkan sayatan dalam dan berdarah, serta berbagai situasi lainnya. (Bawotong et al., 2020).

Menurut Wintoko dan Yadika (2020), berdasarkan jaringan yang terkena, luka dapat diklasifikasikan menjadi:

#### 1) Luka Jaringan Lunak

Beberapa Luka jaringan lunak :

##### a) Luka pada kulit

Luka yang paling sering adalah ekskoriasi (lecet), laserasi (robek), maupun punctum (tusukan).

##### b) Luka pada otot/tendon dan ligamen

- (1) Strain adalah luka yang terjadi pada otot dan tendon. Biasanya disebabkan oleh adanya regangan yang berlebihan. Gejala: Nyeri yang terlokalisasi, kekakuan, bengkak, hematoma di sekitar daerah yang cedera.

adalah luka yang disebabkan adanya peregangan yang an sehingga terjadi luka pada ligamen. Gejala nyeri, bengkak, na, tidak dapat menggerakkan sendi, kesulitan untuk nakan ekstremitas yang cedera.

as

da tulang atau sendi. Dapat ditemukan bersama dengan luka

ng termasuk cedera ini:



- a) Fraktur (Patah Tulang) Yaitu diskontinuitas struktur jaringan tulang. Penyebabnya adalah tulang mengalami suatu trauma (ruda paksa) melebihi batas kemampuan yang mampu diterimanya. Bentuk dari patah tulang dapat berupa retakan saja sampai dengan hancur berkeping-keping.

Patah tulang dapat dibagi menjadi 2 macam, yaitu:

- (1) Patah Tulang Tertutup

Dimana patah tulang terjadi tidak diikuti oleh robeknya struktur di sekitarnya. Ini berarti tulang patah tidak menembus kulit dan tidak terlihat dari luar. Patah tulang tertutup dapat terjadi akibat trauma, kecelakaan, atau cedera fisik lainnya.

- (2) Patah Tulang Terbuka

Dimana ujung tulang yang patah menonjol keluar. Jenis fraktur ini lebih berbahaya dari fraktur tertutup, karena dengan terbukanya kulit maka ada bahaya infeksi akibat masuknya kuman-kuman penyakit ke dalam jaringan.

- b) Dislokasi adalah sebuah keadaan dimana posisi tulang pada sendi tidak pada tempat yang semestinya. Biasanya dislokasi akan disertai oleh cedera ligamen (sprain). Ligamen adalah struktur jaringan ikat yang menghubungkan tulang-tulang di sekitar sendi, memberikan dukungan dan stabilitas. Ketika terjadi dislokasi, ligamen dapat meregang atau bahkan robek, menyebabkan sprain.

### 1.2.3.2 Patah Tulang (Fraktur)

Fraktur termasuk dalam kategori luka pada jaringan keras, yang melibatkan berbagai jenis kerusakan atau cedera pada jaringan keras dalam tubuh, termasuk tulang. Fraktur merupakan salah satu varian cedera tulang yang menyebabkan patah atau terputusnya kontinuitas tulang. Patah tulang tergantung pada jenis dan ukuran putusannya kontinuitas tulang tersebut. Jika tulang mengalami tekanan melebihi batas daya tahan mereka, maka dapat terjadi patah tulang (Kondi dan Gowda, 2023). Pada kebanyakan kasus, pemberian tekanan atau kekuatan yang melebihi batas dapat mengakibatkan patah tulang atau fraktur. Proses ini terjadi saat beban yang diterima oleh tulang melebihi kapasitasnya, menyebabkan retakan atau pemutusan, dan mengharuskan tindakan medis untuk pemulihan yang optimal. (Mansjoer, 2000).

Menurut Platini dkk., (2020), patah tulang adalah terputusnya jaringan tulang yang biasanya disebabkan oleh kekuatan yang tiba-tiba. Ini adalah jenis fraktur di mana tulang terputus menjadi dua atau lebih fragmen. Putusnya atau terputusnya kontinuitas tulang disebut dengan patah tulang (bahasa Latin: *fractura*, bahasa Inggris: *fraktur*) atau pergerakan. Atau putusannya kontinuitas alami tulang akibat terlalu banyak tekanan pada tulang (Luckman & Sorensen, 1993).

dapat diklasifikasikan berdasarkan berbagai karakteristiknya. atau pola pecahan patahannya, patahan dibedakan menjadi *transversal*, dan *kominutif*. Jenis lainnya termasuk fraktur kompresi atau *impaksi*, serta fraktur *greenstick* dan fraktur *avulsi*. Berdasarkan jenis patah tulang yaitu patah tulang *traumatis*, kelelahan, dan menurut sifat patahannya, ada fraktur terbuka dan fraktur tertutup. Fraktur terjadi dalam berbagai tingkatan keparahan. Untuk mengatasi



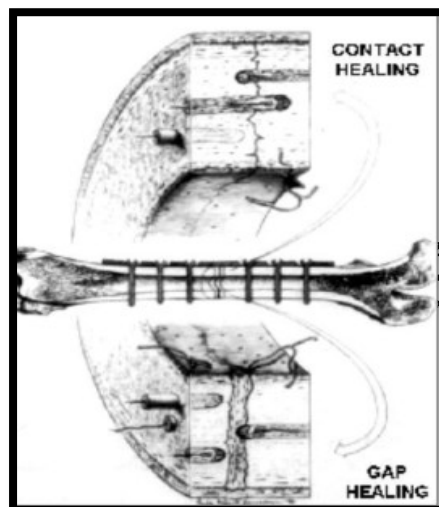
fraktur, tubuh manusia memiliki mekanisme alami yang disebut remodeling tulang, yang berfungsi tidak hanya untuk memperbaiki kerusakan akibat fraktur, tetapi juga untuk memperkuat dan mengembalikan integritas tulang. Proses ini melibatkan resorpsi tulang yang rusak dan pembentukan tulang baru, memastikan penyembuhan yang optimal dan pemulihan fungsi normal tulang (Luo dkk., 1997).

#### 1.2.4 Penyembuhan Jaringan Keras Tulang

Proses penyembuhan fraktur melibatkan peran aktif jaringan keras, yaitu tulang itu sendiri, yang melakukan remodeling untuk memperbaiki kerusakan dan mengembalikan integritas struktural tulang. Ada fase penyembuhan primer dan sekunder ketika patah tulang sembuh. Penyembuhan retakan dan penyembuhan sentuhan terjadi selama penyembuhan primer. Bahkan ketika fragmen fraktur terfiksasi secara stabil selama penyembuhan sumbing, reduksi anatomi penuh jarang tercapai. Lubang kecil mungkin muncul di beberapa area segmen tulang (gambar 2). Dalam beberapa hari setelah patah tulang, proses penyembuhan akan dimulai di area ini. Sel-sel osteoblastik mesenkim akan memasuki celah tersebut melalui arteri darah dari periosteum, endosteum, dan sistem hasversian yang mendepositkan tulang pada fragmen fraktur tanpa membentuk kalus. Tulang pipih akan segera berkembang jika fragmen fraktur berukuran kurang dari 0,3 mm. Meskipun "tulang tenunan" akan mengisi celah 0,5–1,0 mm (Cheal dkk., 1985).

Fraktur fragmen yang tidak melakukan kontak satu sama lain mengalami penyembuhan kontak. Aktivitas osteoklas di lokasi fraktur menciptakan ruang bagi perkembangan dan proliferasi osteoblas untuk menciptakan tulang baru, dan melalui proses inilah proses ini terjadi. Diperlukan waktu hingga enam bulan untuk memperbaiki korteks tulang sepenuhnya (Nanci dkk., 2003).

Tahap penyembuhan primer, kalus kortilogenik, kalus tulang, dan remodeling merupakan bagian dari penyembuhan sekunder (Nanci dkk., 2003).



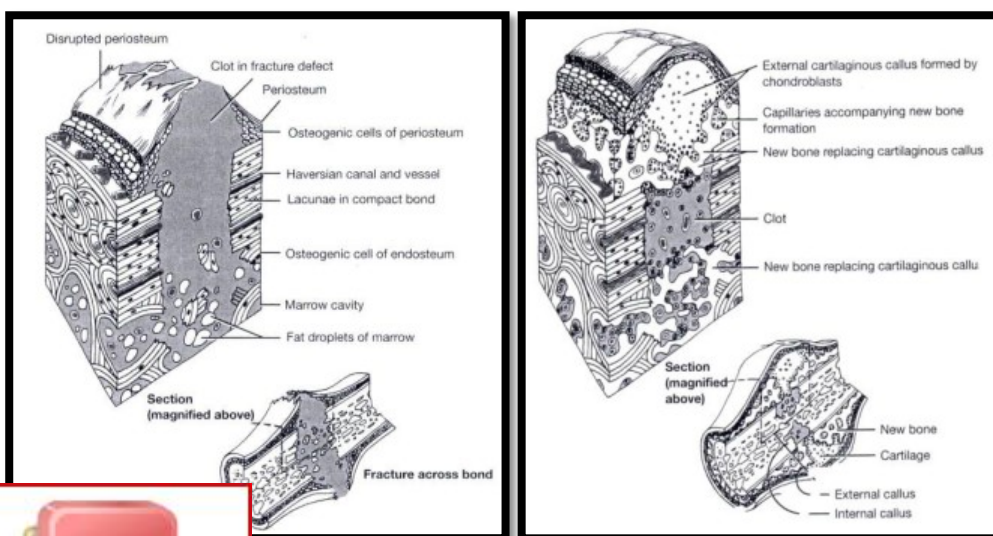
bar 4. Penyembuhan Primer (Cross dan Lewis)



1. Patah tulang pertama-tama akan memicu respons peradangan dan aktivasi mekanisme pertahanan tubuh. Hal ini akan menyebabkan pelepasan beberapa angiogen vasoaktif, yang akan menghasilkan vasodilatasi dan edema dalam beberapa jam. Hematoma disebabkan oleh pendarahan pada pembuluh darah endosteum, periosteum, dan sistem haversian; sel-sel osteoblas dari periosteum menyimpan tulang pada fragmen tulang; dan sumsum tulang mengalami degenerasi lemak. Eritrosit, fibrin, makrofag, limfosit, PMN, mastosit, dan trombosit terdapat pada hematoma yang terbentuk.

Trombosit akan mengalami degranulasi dan melepaskan PDGF (faktor pertumbuhan turunan trombosit) dan FGF (faktor pertumbuhan fibroblastik), yang bersifat chemoattractant dan mitogenik, menyebabkan lapisan luar periosteum berproliferasi dalam waktu 8 hingga 12 jam.

2. Pada hari ketiga hingga kelima tahap kalus tulang rawan (gambar 3), jaringan granulasi memadat membentuk kalus yang berkembang baik secara internal maupun eksternal. Fibroblas bermigrasi dan membentuk kolagen, kemudian berdiferensiasi menjadi kondroblas yang membentuk tulang rawan, yang menyebabkan kalsifikasi tulang rawan, yang menyebabkan kondroblas berubah menjadi kondrosit. Osteoblas berkembang biak dan osteoklas mulai muncul. Kalus yang terbentuk akan memperkuat tulang dengan menstabilkan ujung-ujung fragmen fraktur (gambar 4). Arteri darah di kalus tulang rawan akan meningkatkan tekanan oksigen dan nutrisi, yang akan meningkatkan aktivitas osteoblas.



A. Tahap awal tahap fibroplastik pembentukan tulang, B. Tahap akhir tahap fibroplastik pembentukan tulang.

(Cross dan Lewis)



3. Prosesnya memakan waktu 3–4 minggu untuk mencapai tahap kalus tulang. Pada tulang rawan yang mengalami kalsifikasi, osteoblas akan menyimpan osteoid, yang akan mengalami kalsifikasi menjadi tulang yang tersusun secara acak (tulang tenunan) dan selanjutnya berubah menjadi tulang lamela selama tahap remodeling. 1-3 Urutan produksinya meliputi penjangkaran kalus, penjembatanan kalus, penyegelan kalus, penjembatanan kalus, dan penggabungan kalus. Ada berbagai jenis kalus tulang primer yang menutupi tergantung lokasi atau fungsinya.
4. Osteoklas dan osteoblas adalah sel yang penting untuk remodeling tulang sepanjang tahap remodeling. Selain pelepasan protein morfogenetik tulang mitogenetik, yang mendorong diferensiasi sel mesenkim menjadi osteoblas untuk produksi tulang, resorpsi tulang oleh osteoklas akan terjadi selama remodeling.

#### 1.2.4.1 Proses Penyembuhan fraktur Pada Ikan dan Mamalia

Proses penyembuhan patah tulang pada ikan dan mamalia memiliki beberapa kesamaan dasar, tetapi juga perbedaan yang signifikan karena perbedaan dalam biologi antara kedua kelompok hewan ini. Pada kedua kelompok, penyembuhan patah tulang dimulai dengan pembentukan kalus tulang di sekitar area patah tulang sebagai upaya untuk menggabungkan fragmen tulang yang terpisah. Sel-sel osteoblas, yang bertanggung jawab untuk membentuk tulang baru, berperan kunci dalam proses ini (Oryan dkk., 2015).

Namun, perbedaan utama terletak pada tingkat kemampuan regenerasi tulang. Ikan memiliki kemampuan unik untuk meregenerasi tulang dengan cepat, yang memungkinkan penyembuhan yang sangat efisien. Sel-sel osteoblas ikan tumbuh dengan cepat di sekitar area patah tulang, dan proses kalsifikasi dan remodeling tulang berlangsung dengan efisien. Sebagai hasilnya, ikan dapat pulih dari patah tulang dengan cepat (Gao dkk., 2023).

Sementara itu, mamalia, termasuk manusia, cenderung memiliki proses penyembuhan yang lebih lambat dan lebih kompleks. Meskipun prinsip-prinsip dasarnya sama, sel-sel osteoblas juga berperan penting dalam merangsang pembentukan kalus tulang. Namun, proses penyembuhan pada mamalia cenderung memakan waktu lebih lama, sering berlangsung selama beberapa bulan hingga tahun, tergantung pada tingkat keparahan fraktur. Selain itu, remodeling tulang juga merupakan bagian penting dari proses penyembuhan pada mamalia, yang melibatkan peran sel-sel osteoklas dalam menghilangkan jaringan tulang yang tidak diperlukan dan sel-sel osteoblas dalam membangun tulang baru yang kuat. Dalam kedua kelompok ini, pemahaman tentang mekanisme penyembuhan patah tulang dalam bidang kedokteran dan ortopedi untuk merencanakan perawatan dan pemulihan yang optimal (Gao dkk., 2023).





tulang pada spesies ini belum sepenuhnya dipahami. Oleh karena itu, rumusan masalah utama dalam penelitian ini adalah bagaimana perubahan histologi jaringan tulang pada *Oryzias celebnecis* setelah mengalami fraktur, apakah terjadi proses penyembuhan dan proses remodeling tulang pada hewan ini?

#### **1.4 Tujuan Penelitian**

Tujuan utama penelitian adalah untuk mengetahui perubahan histologi jaringan tulang pada hewan model *Oryzias celebensis* setelah mengalami perlakuan fraktur.

#### **1.5 Waktu dan Tempat**

Penelitian ini berlangsung pada Bulan Februari-April tahun 2024. Lokasi penelitian bertempat di Sungai Rammang-rammang, Bantimurung, Kabupaten Maros, dimana lokasi ini merupakan habitat bagi ikan medaka sulawesi (*Oryzias celebensis*) tempat pengambilan sampel dan Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Hasanuddin (LPPM UNHAS) dimana penelitian ini berlangsung, serta Laboratorium Histopatologi Klinik Hewan Pendidikan Universitas Hasanuddin sebagai lokasi pembuatan preparat histologi sekaligus pembacaan sampel.



## BAB 2 METODE PENELITIAN

### 2.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat pemeliharaan ikan medaka (4 set akuarium meliputi aerasi, mesin pompa celup, box filter dan selang), mikroskop, penggaris, kamera, botol sampel, kertas label, tisu, seperangkat alat untuk pewarnaan HE, kuas kecil, *tcover glass*, *incubator*, *tissue cassette*, cetakan jaringan, kaset pink mikrotom, pisau mikrotom, dan peralatan histoteknik, *object glass*, petridisk, spuit 3 cc untuk anestesi, spuit 10 cc untuk irigasi, larutan irigasi (larutan fisiologis), mikromotor, scalpel, blade 15, isolasi tahan air, kapas dan kassa, sarung tangan, masker, gunting, dan botol steril.

Adapun bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan medaka Sulawesi (*Oryzias celebensis*), minyak cengkeh, betadin solution, eter, alkohol seri (70%, 80%, 90%, 95%, 100%), *xylol*, parafin, *aquades*, *hematoxylin* dan eosin, dan formalin 10%.

### 2.2 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif yang dilakukan untuk melihat gambaran histopatologi tulang ikan medaka (*Oryzias celebensis*) pasca fraktur. Metode dalam pengambilan sampel adalah *simple random sampling* dengan jumlah sampel sebanyak 8 sampel.

### 2.3 Prosedur Kerja

Prosedur penelitian dibagi menjadi lima tahapan yaitu tahapan pengambilan sampel, tahapan persiapan wadah dan adaptasi ikan, tahapan pemberian luka (fraktur), pembuatan preparat histologi, dan pengamatan mikroskopik.

#### 2.3.1 Pengambilan Sampel

Ikan medaka Sulawesi ditangkap secara langsung dengan menggunakan alat perangkap ikan (*trap*) di Sungai Rammang-rammang, Bantimurung, Kabupaten Maros. Sampel diambil dengan cara menangkap secara langsung dengan terlebih dahulu melakukan observasi. Sungai tersebut terletak dekat dengan pemukiman warga setempat. ciri-ciri ukuran ikan yaitu sekitar 2-3 cm dengan jumlah sampel sebanyak 8 sampel dengan 30 hari pengamatan. Sampel yang diambil disimpan dalam wadah plastik dengan tetap memberinya oksigen untuk mempertahankan kehidupannya, sehingga diharapkan pada saat di lokasi pemeliharaan ikan dapat tetap hidup.



#### Wadah dan Adaptasi Ikan Uji

Wadah yang digunakan dalam pemeliharaan ikan uji adalah akuarium. Wadah pemeliharaan dicuci terlebih dahulu. Sabun digunakan untuk meminimalisasi atau membunuh mikroba patogen yang mengganggu pada proses pemeliharaan. Wadah dikeringkan dengan sinar matahari. Selanjutnya, wadah diisi air lalu dipasang aerasi yang dapat menambah kadar oksigen dalam air. Ikan medaka Sulawesi yang telah

ditangkap kemudian dipindahkan ke wadah yang telah disiapkan. Proses adaptasi ikan terhadap lingkungan barunya (aklimatisasi) berlangsung selama 7 hari sebelum pemberian luka (fraktur). Pemberian pakan dilakukan setiap hari. Pakan yang digunakan adalah pakan ikan komersial.

### 2.3.3 Tahap Pemberian Luka (Fraktur)

Proses pemberian fraktur pada tulang pangkal ekor ikan medaka merupakan suatu prosedur eksperimental yang dilakukan dalam penelitian ilmiah untuk memahami proses penyembuhan tulang. Pada tahap awal eksperimen, ikan medaka disiapkan dan dianestesi menggunakan minyak cengkeh sebanyak 4% agar dapat dilakukan manipulasi tanpa menimbulkan stres berlebihan pada hewan. Setelah ikan medaka dalam keadaan teranestesi, fraktur sengaja diberikan pada tulang ekor dengan penggunaan perangkat khusus yaitu *scalpel*. Fraktur ini dapat menciptakan kerusakan pada struktur tulang dan memicu respons inflamasi serta proses penyembuhan. Selanjutnya, ikan medaka yang telah mengalami fraktur dipantau selama periode pemulihan.

### 2.3.4 Pembuatan Preparat Histologi

Menurut standarisasi pembuatan preparat histokteknik dari Balai Besar Veteriner Maros memiliki beberapa tahapan, dimulai dengan tahap pengawetan organ, proses histologi, dan tahap pewarnaan HE. Spesimen untuk pemeriksaan histologi dimasukkan dalam larutan fiksasi (antara lain Buffer Neutral Formalin 10%) dan disimpan terlebih dahulu sekitar 2 hari sebelum dilakukan pemotongan untuk dilanjutkan ke pengujian histologi. Setelah itu, dilakukan proses dekalsifikasi yang diperlukan untuk menghilangkan mineral-mineral sehingga tulang dapat diiris dengan lebih mudah dengan menggunakan larutan dekalsifikasi seperti asam format atau asam nitrat. Kemudian masuk ketahap pemotongan Spesimen yang dipilih untuk pemeriksaan, dipotong setebal 0,5-1 cm. Potongan spesimen dimasukkan dalam keranjang pemrosesan dengan disertai dengan label nomor spesimen yang ditulis dengan pensil. Sisa spesimen dengan Buffered Neutral Formalin (BNF) disimpan dalam botol tertutup rapat. Selanjutnya botol ini disimpan berurutan dan dibuang apabila telah melebihi 3 bulan dan ditulis dalam formulir pemusnahan sampel. Setelah itu masuk ke tahapan *embedding*, *Embedding cassette* yang telah diisi spesimen jaringan dimasukkan ke dalam *tissue processor* dengan pengaturan waktu seperti pada tabel 1.

*Embedding cassette* dikeluarkan dari *tissue processor* dan masukkan ke dalam wadah yang telah tersedia pada alat *embedding center*. Keluarkan contoh spesimen dari keranjang tissue untuk di blok oleh paraffin satu-persatu (agar tidak tertukar no. contoh spesimen). Tempatkan cetakkan dan keranjang pada sisi kanan paraffin. Contoh spesimen diletakkan diatas cetakkan lalu diisi dengan menekan tombol hitam yang telah tersedia pada alat. Cetakkan diberi nomer sesuai nomer contoh spesimen yang keranjang yang berisi contoh spesimen. Pindahkan cetakan pada lemari es beku pisahkan cetakan dengan keranjang. setelah terpisah siapkan untuk dilakukan pemotongan dengan mikrotom. Ambil blok jaringan dipotong dengan mikrotome.



kasar sehingga didapatkan permukaan yang rata. Gunakan pisau mikrotom yang masih tajam, ketebalan potongan 5-6 mikron. Pilih potongan jaringan terbaik dari pita yang terbentuk. Potongan yang terpilih direntangkan pada floating out yang bersuhu sekitar 40°C yang terlebih. Suhu yang ideal akan mengakibatkan potongan jaringan merentang sempurna, tidak berkerut. Taburkan gelatin powder sebanyak 5 gram untuk 100 cc akuades dan biarkan larut sempurna. Potongan yang bagus, tidak tergores, tidak mengkerut dipilih dan diambil dengan gelas slide yang sudah bernomer sesuai dengan nomor epi/patologi. Slide yang berisi tempelan potongan jaringan ditempatkan diatas pelat pemanas slide, minimal dua jam.

**Tabel 1.** Prosedur *tissue processor* dan pengaturan waktu.

No	Proses	Reagensia	waktu
1	Fiksasi	Buffer formalin	10%
2	Fiksasi	Buffer formalin	10%
3	Dehidrasi	Alkohol 70%	1 jam
4	Dehidrasi	Alkohol 90%	1 jam
5	Dehidrasi	Alkohol 100%	1 jam
6	Dehidrasi	Alkohol 100%	2 jam
7	Dehidrasi	Alkohol 100%	2 jam
8	Clearing	Toluen	1 jam
9	Clearing	Toluen	1.5 jam
10	Clearing	Toluen	1.5 jam
11	Impregnasi	Paraffin	2 jam
12	Impregnasi	Paraffin	2 jam
Total waktu			20 jam

Sebelum pewarnaan dilakukan, semua bahan pewarna harus diperiksa kejernihannya dan disesuaikan dengan jadwal penggantian yang tersedia (3 kali penggunaan setiap pemakaian). Berikut merupakan tabel proses pewarnaan:

**Tabel 2.** Tahap Pewarnaan Mayers *Hematoxylin Eosin*

No	Reagensia	Waktu
1	Xylol I	2 menit
2	Xylol II	2 menit
3	Alkohol 100% I	1 menit
4	Alkohol 100% II	1 menit
5	Alkohol 95% I	1 menit
6	Alkohol 95% II	1 menit
7	Mayer's Haematoxylin	15 menit
8	Rendam dalam Tap Water	20 menit
9	Masukkan dalam Eosin	15 detik – 2 menit
10	Alkohol 95% III	2 menit
	Alkohol 95% IV	2 menit
	Alkohol 100% III	2 menit
	Alkohol 100% IV	2 menit
	Alkohol 100% V	2 menit
	Xylol III	2 menit
	Xylol IV	2 menit
	Xylol V	2 menit



Setelah selesai pewarnaan dilakukan coverslipping, siapkan coverslips secukupnya sesuai dengan jumlah preparat yang baru saja diwarnai lalu teteskan 1-2 tetes entellan pada tiap coverslip. balik dan tutupkan pada slide preparat yang baru saja diwarnai, cegah jangan sampai terbentuk gelembung udara, biarkan preparat yang sudah tertutup dengan coverslip lalu dibiarkan sampai mengering sempurna. Bersihkan slide glass dengan xylol lalu berilah nomor sesuai dengan nomor yang ada dietiket slide glass tersebut dan siap untuk diperiksa di bawah mikroskop cahaya.

### 3.3.5 Pengamatan Mikroskopik

Pengamatan kemudian dilakukan di bawah mikroskop dengan perbesaran lensa subjektif 10x dan lensa objektif 4x, 10x, dan 40x. Kemudian setelah itu dilakukan pengambilan gambar dengan menggunakan kamera mikroskop *optilab advanced*. Hasil pemeriksaan kemudian dicatat dan diidentifikasi untuk diberikan hasil definitif.

## 2.4 Analisis Data

Pada metode ini akan dijelaskan mengenai analisis mikroanatomi dari tulang ikan Medaka Sulawesi. Untuk menganalisis perubahan tulang pasca fraktur yang terjadi, analisa data yang digunakan adalah analisis data deskriptif kualitatif. Tingkat kerusakan dan aktivitas sel osteoblas menjadi parameter utama yang dapat digunakan sebagai penanda aktivitas sel dalam proses remodeling tulang. Analisis dilakukan secara manual pada saat pengamatan menggunakan mikroskop optilab advanced dengan ciri-ciri sel:

- a. Osteoblas: sel berbentuk kubus atau kolumnar dalam keadaan aktif, dan berbentuk pipih jika dalam keadaan tidak aktif.
- b. Masenkim: jaringan ikat yang memberikan dukungan struktural, dengan distribusi yang homogen dan kepadatan yang konsisten.

