

BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Penyakit Alzheimer merupakan penyakit yang dapat ditandai dengan demensia dan diikuti dengan penurunan daya ingat, serta kemampuan dalam mengidentifikasi secara perlahan hingga menjadi semakin parah diakibatkan oleh gangguan di dalam otak yang sifatnya progresif sehingga penderita menjadi tidak mampu mengingat dan mengidentifikasi sesuatu (Nisa dan Sinuarya, 2017). Penyakit ini berkaitan erat dengan penurunan fungsi pada otak bagian *hippocampus* dan korteks yang berfungsi dalam ingatan, pembelajaran, kemudian atrofi mempengaruhi seluruh otak (Disouky dan Lazarov, 2020).

Angka kejadian demensia pada tahun 2020, lebih dari 50 juta orang di seluruh dunia serta dalam kurun waktu 20 tahun akan meningkat menjadi 2 kali lipat, diperkirakan pada tahun 2030 akan mencapai 82 juta dan pada 2050 mencapai 152 juta penderita (Kasprata dan Harahap, 2023). Hal ini akan berdampak pada perekonomian secara tidak langsung hingga 1,3 miliar Dollar Amerika dan akan meningkat hingga 2,8 miliar Dollar Amerika pada tahun 2030 (ADI). Di Indonesia sendiri, diperkirakan ada sekitar 1.2 juta orang dengan demensia pada tahun 2016, yang akan meningkat menjadi 2 juta di 2030 dan 4 juta orang pada tahun 2050 (ALZI).

Beberapa dekade terakhir terdapat banyak penelitian mengenai penyakit Alzheimer menggunakan hewan model (Benedikz et al., 2009). Diketahui 40% studi menggunakan hewan mencit sebagai hewan model (Mutiarahmi et al., 2020). Pada penelitian terkait dengan Alzheimer telah mengembangkan berbagai metode bergantung pada kondisi untuk mendapatkan kondisi serupa (Vitek et al., 2020). Semua perubahan baik efek dan gejala diamati secara mendetail. Pada penelitian penyakit neurodegeneratif menggunakan hewan coba telah banyak berkontribusi dalam memaparkan konsep biologis, terapis, hingga prognosis (Pakaya dan Susilowati, 2020).

Penggunaan hewan coba harus memperhatikan aspek kesejahteraan hewan (*animal welfare*) yang di dalamnya mencakup *replacement*, *reduction*, dan *refinement* (Yurista et al., 2016). Aspek *replacement* berupa penggunaan hewan coba sebagai upaya yang sebelumnya tidak dapat digantikan oleh makhluk hidup lain. Menurut Kasiyanti dan Tana (2020), Aspek *replacement* dapat berupa penggunaan hewan sebagai pendonor organ, jaringan, dan sel dan juga dapat dimanfaatkan sebagai *cell line*. Pada aspek *reduction* menurut Yurista et al. (2016) mencakup pengurangan jumlah hewan coba yang digunakan tanpa menyebabkan pengurangan informasi yang berguna dengan cara mengurangi jumlah variabel. Aspek *refinement* mencakup perlakuan yang berpotensi untuk menimbulkan rasa sakit serta stres jangka panjang. Menurut Kasiyanti dan Tana (2020), perlakuan yang dimaksud berupa perlakuan secara manusiawi terhadap hewan coba dimulai dari pemeliharaan dengan memastikan meminimalisir rasa sakit hingga akhir penelitian.

Ikan medaka (*Oryzias celebensis*) merupakan salah satu jenis ikan endemik di provinsi Sulawesi Selatan (Sari et al., 2018). Ikan ini hidup pada air tawar perairan Sulawesi dengan jumlah variasi spesies dari genus *Oryzias* yang beragam (Hasanah et al., 2022). Spesies ikan medaka telah banyak digunakan

sebagai hewan coba dalam penelitian pada bidang biologi, perilaku ikan dan toksikologi (Sulfitriatullah et al., 2022). Keunggulan ikan ini adalah memiliki genom yang kecil dan mempunyai konstruksi transgenik (Sari et al., 2018). Adapun genom yang dimiliki ikan medaka sekitar 800 Mb yang setara dengan sepertiga ukuran manusia dan kurang dari 100 juta genom dan keberadaan *strain inbred* yang sangat polimorfik membuat ikan ini cocok untuk skrining mutagenesis serta pemetaan genetik. (Matsui et al., 2012). Keunggulan lain dari ikan ini yaitu mudah dalam pembibitan, siklus reproduksinya relatif pendek, embrionya transparan, dan waktu generasinya pendek (Sari et al., 2018).

Meskipun ikan medaka telah banyak dimanfaatkan sebagai hewan model pada berbagai bidang, termasuk penyakit metabolik seperti diabetes, sebagaimana dilaporkan oleh Akmal et al. (2023) dalam penelitian mengenai histomorfologi jaringan pankreas ikan medaka (*Oryzias javanicus*), namun hingga saat ini belum ditemukan publikasi yang secara khusus mengkaji gambaran histomorfologi otak ikan medaka (*Oryzias celebensis*) dalam konteks pengembangan hewan model penyakit Alzheimer. Sehingga, penelitian mengenai gambaran histomorfologi otak ikan medaka (*Oryzias celebensis*) menjadi penting sebagai pendekatan awal pengembangan hewan model penyakit Alzheimer. Selain itu, penelitian ini diharapkan dapat mendukung potensi penggunaan ikan medaka (*Oryzias celebensis*) sebagai hewan model dengan memberikan data dasar struktur otak ikan medaka yang relevan untuk penelitian lanjutan, termasuk studi molekuler, imunohistokimia, maupun pengujian obat Alzheimer, sekaligus mendukung penerapan prinsip kesejahteraan hewan melalui konsep 3R.

1.2. Teori

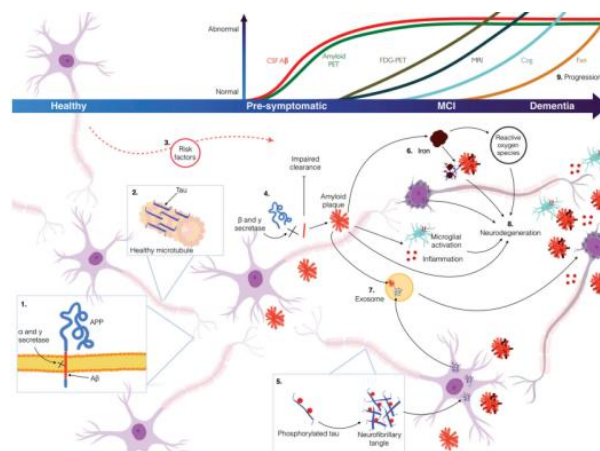
1.2.1. Penyakit Alzheimer

Penyakit Alzheimer adalah penyakit yang ditandai dengan demensia yang diikuti dengan penurunan daya ingat dan kemampuan dalam mengidentifikasi secara perlahan hingga menjadi semakin parah diakibatkan oleh gangguan di dalam otak yang sifatnya progresif sehingga penderita menjadi tidak mampu mengingat dan mengidentifikasi sesuatu. Tanda-tanda lain dari penyakit ini termasuk kebingungan, penilaian yang buruk, gangguan berbicara, agitasi, penarikan diri, dan halusinasi. Penyakit Alzheimer memiliki kaitan yang erat dengan kerusakan dan kematian neuron pada daerah otak khususnya *hippocampus* yang terlibat dalam fungsi ingatan dan pembelajaran, kemudian atrofi mempengaruhi seluruh otak (Nisa dan Sinuarya, 2017). Angka kejadian demensia pada tahun 2020, lebih dari 50 juta orang di seluruh dunia serta dalam kurun waktu 20 tahun akan meningkat menjadi 2 kali lipat, diperkirakan pada tahun 2030 akan mencapai 82 juta dan pada 2050 mencapai 152 juta penderita (Kasprata dan Harahap, 2023).

Penyakit Alzheimer dapat terjadi akibat dari dua penyebab utama yaitu *plaques* dan *tangles*. Hal ini dimulai dari membran sel di dalam neuron pada otak. Membran sel pada otak ini memiliki *amyloid precursor protein* (APP). APP terdiri dari dua bagian sel yang terdapat pada bagian dalam dan luar sel. APP memiliki fungsi untuk membantu neuron bertumbuh dan beregenerasi. APP bersifat sama dengan protein lain dan akan mengalami apoptosis. APP mengalami pemrosesan dibantu dengan dua enzim yaitu α -secretase dan diikuti dengan secretase yang mengalami pemecahan secara normal. Dalam pemrosesan amiloidogenik dengan kondisi abnormal, APP diproses oleh secretase dan diikuti

dengan γ -secretase sehingga menghasilkan fragmen A β khususnya A β 42. Kenaikan dari akumulasi tersebut diiringi oleh gangguan pembersihan yang menghasilkan agregasi yang disebut “*plaques*” di bagian ekstraseluler dari neuron. *Plaques* ini berada di antara neuron yang akan menyebabkan gangguan penghantaran sinyal ke neuron yang lain sehingga menyebabkan gangguan fungsi pada otak. *Plaques* juga menyebabkan terpicunya respon imun dan menghasilkan inflamasi, akibatnya akan terjadi kerusakan pada neuron di sekitarnya (Kasprata dan Harahap, 2023).

Tangles ditemukan pada sel neuron itu sendiri. Pada sel neuron mempunyai protein yang memiliki fungsi sebagai penstabil untuk menunjang pengantaran nutrisi serta molekul di dalam sel yang disebut *cytoskeleton* atau protein tau. Pada kondisi abnormal, protein tau akan mengalami hiperfosforilasi yang mengakibatkan destabilisasi mikrotubulus serta pembentukan *neurofibrillary tangle* (NFT) pada badan saraf. Terbukti bahwa disregulasi besi dan akumulasi besi pada penyakit Alzheimer akan berinteraksi dengan A β dan tau. Hal ini menghasilkan oksigen reaktif dan kerusakan oksidatif yang mendorong degenerasi saraf. Terbukti juga bahwa akumulasi mikrovesikel eksosom mengambil peran dalam pengangkutan *plaques* dan *tangles* prionoid sehingga dapat menyebar pada daerah otak yang lain. Protein patogen dan radikal bebas yang terakumulasi akan menghasilkan aktivasi mikroglial, peradangan, kerusakan mitokondria, stres oksidatif, defisit neurotransmitter, disfungsi sinaptik, dan akan terjadi kematian neuron (Kasprata dan Harahap, 2023).



Gambar 1. Patofisiologi penyakit Alzheimer (Kasprata dan Harahap, 2023).

1.2.2. Ikan Medaka (*Oryzias celebensis*)

Ikan medaka merupakan ikan endemik Sulawesi Selatan. Ikan ini hidup di air tawar, payau, dan asin dan tergolong vertebrata yang memiliki variasi spesies yang banyak (Sulfitriatullah et al., 2022). Spesies ikan medaka yang terkenal endemik di Sulawesi Selatan adalah *Oryzias celebensis*. Beberapa variasi ikan medaka seperti *Oryzias marmoratus*, *Oryzias matanensis*, dan *Oryzias profundicola* digolongkan dalam grup spesies *celebensis*. Ikan medaka sering disebut ikan binishi oleh warga lokal Sulawesi Selatan dan merupakan komoditi ikan hias (Hasanah et al., 2022).



Gambar 2. Ikan Medaka (*Oryzias latipes*) (Hasanah et al., 2022)

Ikan medaka termasuk dalam famili Adrianichthyidae dengan distribusi yang luas dari India hingga Jepang serta sepanjang pulau-pulau Indo-Australia pada garis Wallacea termasuk Timor dan Sulawesi (Sari et al., 2018). Pulau Sulawesi merupakan bagian dari kawasan Wallacea, yang pada perairan tawar kawasan tersebut adalah habitat bagi ikan endemik yang belum pernah dijumpai dibelahan dunia lainnya (Hasanah et al., 2022). Diketahui ikan medaka adalah ikan yang memiliki beberapa keunggulan sebagai hewan percobaan yang mudah dipelisasi, siklus reproduksinya pendek (pematangan awal 2 bulan), embrio transparan, waktu generasinya pendek, ukuran genomnya kecil dan telah memiliki konstruksi transgenik (Sari et al., 2018).

1.2.3. Otak Ikan

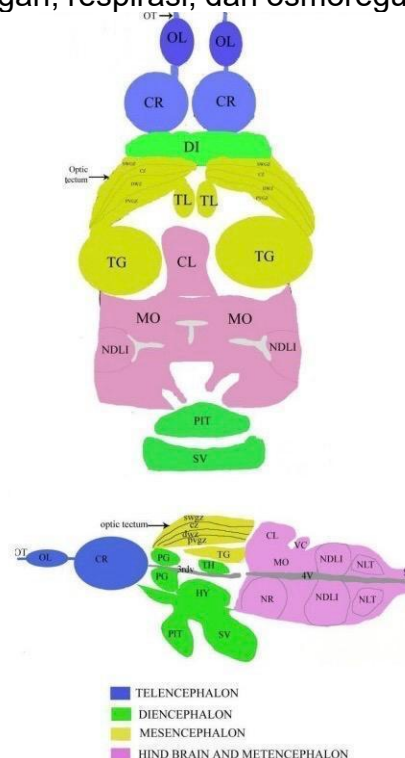
Ikan memiliki sistem saraf pusat yang terdiri dari *telencephalon* yang terdiri dari *olfactory bulb* yang memiliki badan sel saraf penciuman yang memiliki fungsi sebagai pusat utama dari indera penciuman (Mokhtar, 2022). *Olfactory bulb* terdiri dari empat lapisan yaitu lapisan serabut saraf *olfactory*, lapisan *glomerular*, lapisan *plexiform*, dan lapisan sel *granul*. Diketahui badan sel pada bagian *ventromedial* dari *olfactory bulb* merupakan sel ganglion dari saraf terminal yang berfungsi dalam sintesis hormon dan pelepasan gonadotropin. Selain itu *cerebrum* memiliki satu lapisan sel (Hussein dan Cao, 2018).

Pada *diencephalon* disusun oleh epitalamus, talamus, dan hipotalamus. Epitalamus diketahui terdiri dari sel ganglion habenular yang juga terhubung oleh ujung saraf dari *telencephalon*. Talamus berada di bagian tengah di antara hipotalamus dan tegmentum yang berfungsi sebagai pusat saraf otonom (Mokhtar, 2020). Diketahui bahwa talamus tersusun atas *thalamus proper*, habenula, dan pretalamus (Hussein dan Cao, 2018). Hipotalamus merupakan dasar dari *diencephalon* yang terdiri dari *lobus inferior* dan daerah *infundibular* yang berfungsi mengatur kelenjar hipofisis. Di bagian anterior dari hipotalamus terdiri dari area preoptik. Pada *diencephalon* terdapat *saccus vasculosus* yang kaya akan vaskularisasi dan terdiri dari sel epitel kuboid dan stroma fibrovaskular (Mokhtar, 2022).

Pada *mesencephalon* terdapat *optic tectum dorsal* dan *ventral* (Dhakar, 2022). *Optic tectum* terdiri dari bagian *superficial white and gray zone*, *central zone*, *deep white zone*, dan *preventricular gray zone*. Secara histologi, *optic tectum* terdiri dari *stratum marginale*, *stratum opticum*, *stratum fibroreticulare*, *stratum griseum centrale*, dan *stratum periventriculare* (Hussein dan Cao, 2018). Selain itu terdapat tegmentum yang pada bagian rostral berbatasan dengan bagian posterior dari tuberculum, pada bagian dorsal berbatasan dengan *valvula cerebelli*, pada bagian lateral berbatasan dengan *optic tectum*, dan pada bagian ventral berbatasan dengan hipotalamus *inferior lobe* (Dhakar, 2022). Torus longitudinalis juga dapat di temukan di *mesencephalon* yang terletak di samping *optic tectum* (Hussein dan Cao, 2018). *Mesencephalon* secara umum memiliki

fungsi untuk mendeteksi cahaya, mengelola ritmis, serta mengontrol perubahan warna (Achyani, 2011).

Pada *metencephalon* terdapat *cerebelli* yang merupakan bagian terbesar dari otak ikan. Bagian ini memiliki fungsi untuk menerima impuls sensorik untuk ditransfer ke inti motorik. Struktur histologis *cerebelli* terdiri dari *outer molecular*, *purkinje cell*, dan lapisan *inner granular*. Selain itu terdapat *cerebellum* terdiri dari *corpus* dan *valvula cerebella* (Hussein dan Cao, 2018). Pada *myelencephalon* terdiri dari *medulla oblongata* yang di dalamnya terdapat inti sensorik dan motorik dari *trigeminal nerve*, *abducens nerve*, *octaval nerve*, *glossopharyngeal nerve*, dan *vagal nerve*. *Vagal lobes* terletak di bagian dorsal dari *medulla oblongata* (Dhakar, 2022). *Vagal lobes* terdiri dari lapisan sensori, lapisan *fiber*, dan lapisan motorik (Hussein dan Cao, 2018). *Myelencephalon* secara umum berfungsi untuk mengontrol otot, tubuh, organ, respirasi, dan osmoregulasi (Achyani, 2011).



Gambar 3. Otak ikan (Hussein dan Cao, 2018)

Pada penelitian sebelumnya diketahui penggunaan hewan coba berupa ikan zebra telah dilakukan. Kemampuan ikan zebra dalam meregenerasi sel-sel saraf yang memiliki mekanisme yang sama dengan manusia. Ikan zebra memiliki organisasi otak yang mirip dengan struktur anatomi yang sesuai pada otak manusia. Selain itu konservasi arsitektur genetik menghasilkan 72% gen pengkode protein genom manusia yang memiliki ortologi pada ikan zebra mencakup subset 4435 gen pengkode protein terkait penyakit beserta gennya pada tahapan perkembangan otak. Sistem neurotransmitter yang mirip beserta tanda khas yang menyerupai gangguan otak manusia seperti *amyloid-beta* pada penyakit Alzheimer menjadikan ikan zebra dapat menjadi hewan model (Cahayani dan Rahayu, 2023).

Pendekatan histologi untuk mempelajari struktur mikroskopis jaringan dan organ otak pada ikan zebra telah dilakukan sebelumnya khususnya dalam mempelajari konsep pergerakannya. Histologi memiliki fungsi dalam memberi

wawasan mengenai struktur anatomi dan mekanisme seluler yang memiliki peran dalam gerakan. Adapun teknik histologi yang diaplikasikan untuk itu berupa imunohistokimia dengan melibatkan antibodi untuk mempresentasikan protein neuron yang spesifik pada ikan zebra. Teknik ini mempelajari distribusi serta lokalisasi protein yang memiliki peran dalam fungsi lokomotor serta memberikan pengetahuan mengenai proses neural yang dalam fungsi lokomotor. Yang kedua ada hibridasi *in situ* dengan menggunakan probe asam nukleat berupa DNA dan RNA yang berguna dalam visualisasi ekspresi gen spesifik pada sel ikan zebra. *Probe* biasanya ditandai dengan label penanda seperti fluoresen atau isotop radioaktif yang dapat memvisualisasi di bawah mikroskop. Hibridasi *in situ* dapat memberikan informasi mekanisme molekuler pada fungsi lokomotor (Cahayani dan Rahayu, 2023).

1.3. Tujuan dan Manfaat

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui gambaran histomorfologi otak ikan medaka (*Oryzias celebensis*) sebagai pendekatan awal dalam pengembangan hewan model penyakit Alzheimer. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi terhadap pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya dalam bidang anatomi dan histologi dengan menyediakan informasi ilmiah mengenai struktur otak ikan medaka (*Oryzias celebensis*) yang dapat digunakan sebagai data dasar dalam penelitian selanjutnya. Selain itu, penelitian ini juga diharapkan dapat memiliki manfaat aplikatif, yaitu melatih kemampuan peneliti dalam melakukan penelitian ilmiah serta menjadi referensi bagi penelitian lanjutan, terutama yang berkaitan dengan pengembangan hewan model penyakit neurodegeneratif dan penerapan prinsip kesejahteraan hewan melalui konsep 3R.

BAB II METODE PENELITIAN

2.1. Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Patologi Rumah Sakit Hewan Pendidikan, Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, pada bulan Desember 2024-Maret 2025.

2.2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah akuarium, *casset*, cawan petri, cetakan *basemold*, *cover glass*, *object glass*, mikrotom, mikroskop stereo, pisau bedah, wadah anestesi. Adapun bahan yang digunakan adalah *2-phenoxyethanol*, aquades *Waterone™*, alkohol bertingkat *Onehealth*, formalin *Zuche Medical Co*, larutan bouin's, parafin, pewarna cresyl violet *Solarbio®* dan hematoksilin-eosin *ScyTeK Laboratories inc*, dan *xylol Supleco®*.

2.3. Metode Penelitian

Penelitian ini termasuk penelitian deskriptif dengan mendeskripsikan gambaran histomorfologi otak ikan medaka (*Oryzias celebensis*) sebagai pendekatan awal pengembangan hewan model penyakit Alzheimer. Penelitian ini juga termasuk dalam penelitian kualitatif dengan memperlihatkan gambaran histomorfologi otak ikan medaka (*Oryzias celebensis*).

2.4. Pelaksanaan Penelitian

2.4.1. Pengambilan Sampel

Sampel ikan medaka diambil dari Sungai Kampung Karst Rammang-Rammang, Maros, Sulawesi Selatan. Sebanyak 15 ekor. Ikan medaka dikoleksi berdasarkan pedoman etik hewan coba dan telah memiliki persetujuan etik 032/UN4.1.RSHUH/B/PP36/2025 dari Komisi Etik Hewan dan Penelitian Rumah Sakit Hewan Universitas Hasanuddin. Akuarium yang telah dicuci bersih dan diisi dengan air dan dilakukan aerasi sehari sebelum pengambilan, setelah pengambilan sampel dilakukan aklimatisasi selama satu minggu. Menurut Sulfitriatullah et al. (2022), tujuan aklimatisasi untuk membuat sampel beradaptasi dengan lingkungan baru sebelum dilakukan pembuatan preparat histologi.



Gambar 4. Lokasi pengambilan sampel ikan medaka

2.4.2. Intervensi

Sampel penelitian yang telah diambil akan dianestesi menggunakan anestesi suhu berupa air bersuhu 0-5°C dan *2-phenoxyethanol* hingga menunjukkan tanda-tanda anestesi seperti pingsan (Akmal et al., 2023). Setelah itu dilakukan nekropsi pada bagian kepala hingga otak terlihat dengan bantuan

mikroskop stereo. Lalu otak diamati dari segi morfologi dengan menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) sebelum diamati dari segi histologi.

Sampel ikan medaka selanjutnya difiksasi untuk mengawetkan jaringan sampel dengan larutan fiksatif *bouin's* selama 24 jam. Menurut Pratiwi dan Manan (2015), larutan fiksatif *bouin's* memiliki daya penetrasi yang cepat, merata, dan sedikit menimbulkan pengerutan jaringan serta apabila jaringan yang direndam terlalu lama dalam larutan fiksatif dapat menyebabkan kerapuhan jaringan sehingga dapat menyebabkan jaringan tidak dapat dipotong menggunakan mikrotom dengan baik.

2.4.3. Pembuatan Preparat

Jaringan yang telah terfiksasi akan masuk ke tahap *trimming* dengan memotong jaringan menggunakan pisau bedah yang tajam dan steril. Preparat yang telah dipotong dimasukkan ke dalam *tissue cassette* dan direndam dengan menggunakan aquades. Setelah perendaman, dilakukan dehidrasi jaringan untuk menghilangkan cairan fiksasi menggunakan alkohol bertingkat dan juga dilakukan *clearing* menggunakan *xylo*. Menurut Pratiwi dan Manan (2015), penggunaan pisau bedah tajam dan steril agar tidak jadi kerusakan jaringan pada saat pengerjaans. Jaringan direndam dengan aquades bertujuan menghindari pengerutan jaringan karena terlalu lama di udara. Tujuan dehidrasi agar preparat dapat diberi parafin dikarenakan parafin tidak dapat bercampur dengan air. Menurut Lamsudiansyah et al. (2023), *xylo* bisa menghilangkan alkohol dalam sediaan jaringan dengan cepat sehingga jaringan yang akan diamati dapat terlihat lebih jernih.

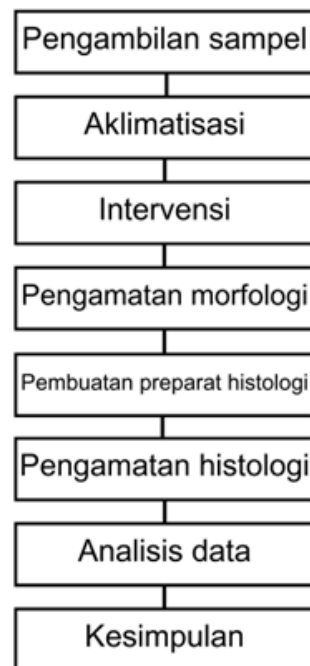
Pembuatan blok jaringan dilakukan dengan menggunakan cetakan *basemold* untuk membuat blok parafin dengan parafin cair bersuhu 70°C. Setelah pembuatan blok jaringan akan dilakukan pemotongan blok jaringan menggunakan mikrotom yang akan menghasilkan pita tipis. Pita tipis tersebut akan diberikan pewarnaan dengan menggunakan hematoksin-eosin (HE) untuk memulas inti dan sitoplasma beserta dengan jaringan penyambungannya. Menurut Pratiwi dan Manan (2015), pembuatan blok jaringan berguna untuk menjaga bagian jaringan tidak berubah dari awal proses pemotongan. Pemotongan tipis blok jaringan membantu ketetapan dalam mendiagnosa dengan bantuan pewarnaan menggunakan hematoksin-eosin (HE) yang berfungsi memulas inti sel dengan memberikan warna biru (basofilik) oleh hematoksin dan eosin merupakan *counterstaining* dari hematoksin dengan memulas sitoplasma sel dan jaringan penyambung dengan memberikan warna merah muda (asidofilik). Selain itu, pewarnaan juga dilakukan dengan menggunakan pewarnaan *cresyl violet* yang pewarnaan ini digunakan untuk mewarnai selubung mielin dan juga sel saraf. Menurut Meystre et al. (2024), pewarnaan *cresyl violet* merupakan sebuah pewarna yang secara khusus menargetkan badan sel, termasuk retikulum endoplasma, juga dikenal sebagai zat Nissl atau badan Nissl.

Preparat yang telah dibuat akan diamati di bawah mikroskop. Adapun mikroskop yang digunakan berupa mikroskop stereo dengan jaringan yang di amati yaitu otak ikan medaka. Perbesaran yang digunakan adalah 10x dan 40x untuk melihat histologi dari bagian-bagian otak yang akan diamati.

2.5. Pengamatan dan Pengukuran

Pengamatan gambar histomorfologi dianalisis secara deskriptif dengan menjelaskan gambaran histomorfologi otak ikan medaka (*Oryzias celebensis*). Pengamatan histomorfologi juga dianalisis secara kualitatif dengan melihat

gambaran histomorfologi otak ikan medaka (*Oryzias celebensis*) sebagai pendekatan awal pengembangan hewan model penyakit Alzheimer menggunakan *ImageJ*.



Gambar 5. Alur penelitian