

BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Alzheimer adalah kelainan berupa penimbunan plak atau protein tidak normal dalam otak sehingga menyebabkan hilangnya sel neuron. Tergolong penyakit degeneratif, artinya akan semakin memburuk seiring berjalannya waktu. Penyakit ini dimulai dengan kehilangan ingatan yang diikuti hilangnya kemampuan untuk melakukan komunikasi ataupun merespons lingkungan sekitarnya dan bahkan bisa menyebabkan kematian (Kasprata dan Harahap, 2023). Menurut *website* yayasan *Alzheimer* Indonesia data penderita *Alzheimer* di seluruh dunia meningkat dengan cepat dan saat ini diperkirakan mendekati 46,8 atau 50 juta orang yang didiagnosis dengan demensia di dunia, 20,9 juta di Asia Pasifik (*Alzheimer's Disease International. World Health Organization. 2017*). Di Indonesia sendiri, diperkirakan terjadi sekitar 1.2 juta orang dengan *Alzheimer* pada tahun 2016, yang akan meningkat menjadi 2 juta di 2030 dan 4 juta orang pada tahun 2050.

Health Harvard Edu menyatakan Wanita lebih rentan terkena penyakit *Alzheimer* dibandingkan pria karena ada beberapa faktor seperti Wanita lebih dapat hidup dengan umur Panjang, karena semakin bertambah umur maka lebih besar kesempatan untuk mendapatkan *Alzheimer*. Plak amiloid yang menyebabkan penyakit *Alzheimer* mungkin merupakan bagian dari sistem kekebalan otak untuk melawan infeksi. Wanita memiliki sistem kekebalan tubuh yang lebih kuat daripada pria. Sebagai bagian dari sistem kekebalan tubuh yang lebih kuat, wanita mungkin memiliki lebih banyak plak amiloid daripada pria. Karena mereka mungkin memiliki lebih banyak plak amiloid daripada pria, ini kemungkinan mengapa wanita akhirnya memiliki resiko lebih besar terkena penyakit *Alzheimer*.

Penggunaan hewan coba pada studi kesehatan, telah lama menjadi topik perdebatan hangat. Di satu pihak, penggunaan hewan coba untuk kepentingan manusia dinilai salah menurut moral. Pada sisi lain, dengan menghapus hewan secara keseluruhan dari laboratorium akan menghalangi pemahaman kita tentang kesehatan dan penyakit. Peraturan tentang perlakuan hewan coba harus diperhatikan untuk memastikan studi tersebut dilaksanakan dengan prosedur manusiawi. Sejalan dengan menaikkan jumlah penggunaan hewan coba di studi fundamental dan terapan. Russell dan Burch memopulerkan prinsip 3R yang terdiri atas *Replacement, Reduction and Refinement* (Yurista et al., 2016).

Mengutip dari buku *The Principles of Humane Experimental Technique* yang dipublikasi tahun 1959, Russell dan Brunch mengusulkan bahwa semua studi yang menyertakan hewan coba mesti dievaluasi untuk mengetahui apakah prinsip 3R dapat diaplikasikan. *Replacement* diartikan sebagai penggunaan sistem tidak-hidup (mati) sebagai substitusi pengganti, seperti penggantian vertebrata menjadi invertebrata. Ini juga mencakup penggunaan kultur sel dan jaringan. *Reduction* artinya menurunkan jumlah hewan coba yang digunakan tanpa menurunkan data yang berguna. Hal ini mungkin diperoleh dengan mengecilkan jumlah variabel melalui desain eksperimental yang berguna, dan memastikan bahwa kondisi eksperimen terkontrol dengan baik. *Refinement* didefinisikan sebagai peralihan dalam sebagian aspek perlakuan yang bisa saja menimbulkan rasa sakit atau stres dalam waktu lama, memperlakukan hewan coba secara manusiawi.

Ikan Medaka Sulawesi (*Oryzias celebensis*) Ikan medaka merupakan kelompok ikan Teleostei berukuran kecil yang menghuni perairan tawar hingga payau, banyak mendiami kolam-kolam kecil, selokan dan daerah persawahan sehingga lebih dikenal juga dengan sebutan ikan padi (*ricefish*). Karena ciri khusus ikan medaka adalah memiliki mata di atas posisi hidung dengan ukuran yang cukup besar. Hal ini dapat dilihat dengan

jelas pada saat malam hari atau pada saat stadia juvenil, keberadaan kedua mata pada ikan medaka terlihat sangat dominan (Fahmi et al., 2015).

Keunikan ikan ini karena mudah manipulasi genetika yang memudahkan berkembang menjadi berbagai jenis spesies baru, dengan ukuran genom relatif kecil. Kehamilan pun terhitung pendek dengan masa masa reproduksi produktif, yang membuat mudah dikembangkan di laboratorium penelitian.

Otak ikan terbagi menjadi beberapa bagian utama yang masing-masing memiliki fungsi spesifik. Bagian depan (*telencephalons*) bertugas memproses sinyal penciuman, terutama pada ikan yang sangat bergantung pada indera penciuman seperti hiu dan ikan lele. Bagian ini terhubung dengan *telencephalon* yang juga terkait dengan fungsi penciuman. Otak depan terhubung ke otak tengah melalui *diencephalon*, yang mengatur hormon dan keseimbangan tubuh (*homeostasis*). Otak tengah (*mesencephalon*) mengendalikan penglihatan, sementara otak belakang (*metencephalon*) bertanggung jawab atas kemampuan berenang dan keseimbangan. Batang otak (*myelencephalon*) berperan dalam pengendalian otot, organ, pernapasan, dan osmoregulasi.

Berdasarkan penjelasan di atas, maka penulis mengangkat judul “Studi Awal Pengembangan Hewan Model Alzheimer Menggunakan Ikan Medaka (*Oryzias celebensis*) Dengan Pendekatan Morfologi dan Morfometrik Otak”.

1.2 Kajian Pustaka

1.2.1 Penyakit Alzheimer

Alzheimer merupakan penyakit berupa penimbunan plak atau protein secara abnormal dalam otak sehingga mengakibatkan hilangnya sel neuron. *Alzheimer* salah satu penyakit hilangnya ingatan yang diikuti kehilangan kemampuan untuk melakukan komunikasi ataupun merespons lingkungan sekitarnya. *Alzheimer* tergolong penyakit degeneratif, artinya akan semakin memburuk seiring berjalannya waktu. Penyakit ini dimulai dengan kehilangan ingatan yang diikuti hilangnya kemampuan untuk melakukan komunikasi ataupun merespons lingkungan sekitarnya dan bahkan bisa menyebabkan kematian. Apabila sel saraf yang terlibat pada bagian otak dengan fungsi untuk berpikir, memori atau kognitif rusak dapat menimbulkan gejala *Alzheimer* yang membuat penderitanya kesulitan melakukan hal-hal sederhana sekalipun (Kasprata dan Harahap, 2023).

Diperkirakan sekitar 44 juta orang di seluruh dunia pada tahun 2015 memiliki penyakit *Alzheimer*. Pada tahap akhir penderita *Alzheimer* memerlukan perawatan yang intensif karena penyakit tersebut dapat berakibat fatal yang berujung kematian dan merupakan penyebab utama kematian peringkat ke 7 di negara berpenghasilan tinggi (Wildah et al., 2020). Secara biologis, penyebab *Alzheimer* bermula ketika protein dalam otak gagal berfungsi seperti biasanya sehingga mengganggu kinerja sel-sel otak (neuron). Neuron menjadi rusak dan kehilangan koneksi satu sama lain sehingga akhirnya mati dan tidak berfungsi.

1.2.2. Ikan Medaka (*Oryzias celebensis*)

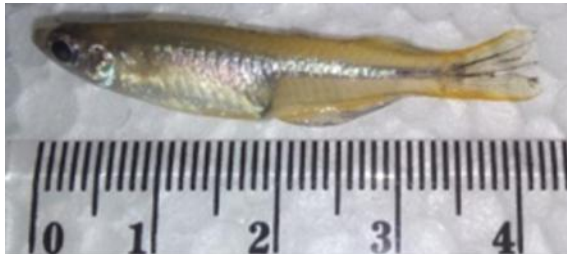
Ikan Medaka Sulawesi (*Oryzias celebensis*) Ikan medaka merupakan kelompok ikan Teleostae berukuran kecil yang menghuni perairan tawar hingga payau, banyak mendiami kolam-kolam kecil, selokan dan daerah persawahan sehingga lebih dikenal juga dengan sebutan ikan padi (*ricefish*). Karena ciri khusus ikan medaka adalah memiliki mata di atas posisi hidung dengan ukuran yang cukup besar. Hal ini dapat dilihat dengan jelas pada saat malam hari, keberadaan kedua mata pada ikan medaka terlihat sangat dominan (Fahmi et al., 2015). Berikut klasifikasi ikan medaka menurut Sulfitriatullah (2021):

Kingdom: Animalia

Phylum: Chordata

Class: Pisces

Subclass: Teleostae
 Ordo: Beloniformes
 Family: Adrianichthyidae
 Genus: *Oryzias*
 Spesies: *Oryzias celebensis*



Gambar 1 Ikan Medaka (*Oryzias Celebensis*)

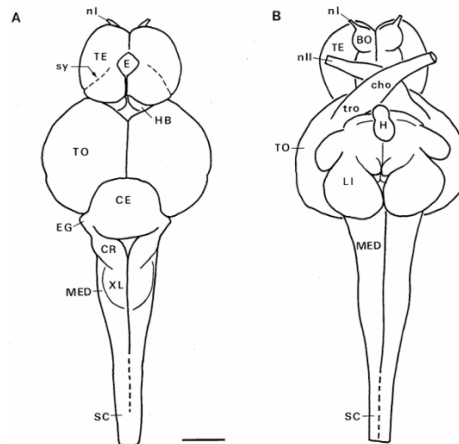
Dari sudut pandang biologi, yang menarik dari ikan medaka ialah pemijahan yang terjadi secara oviparus, ukuran telur besar dan pemijahan terjadi berlangsung sehari-hari. Ikan ini memiliki proporsi Panjang 2 - 4,5 cm. mereka memiliki mulut terminal, sepasang sirip dada (*Pinnae pectoralis*), sepasang sirip perut (*Pinnae abdominalis*) yang pendek, serta sirip punggung (*Pinna dorsalis*) yang jauh lebih pendek dibanding sirip anal (*Pinna analis*) yang terletak dekat dengan sirip ekor (*Pinna caudalis*). Pada bagian tepi sirip ekor (*Pinna caudalis*) *Oryzias celebensis* ini berwarna oranye kekuningan dengan garis hitam pada bagian ekor. (Risnawati et al., 2015).

Ikan medaka hidup pada habitat mulai dari sungai kecil, sungai besar, kolam, air terjun, kolam, danau, sawah hingga sungai mulut. Seringkali ikan medaka ditemukan dalam ukuran kecil sungai yang mengalir deras dengan substrat berbatu. Ikan medaka juga banyak ditemukan hidup di sungai yang tenang dengan substrat berlumpur dan mengandung banyak sampah tumbuhan yang tenggelam di dasar perairan. Jenis ikan Medaka di Sulawesi Selatan berpusat di sekitar Karst Maros-Pangkep kawasan (Sari et al., 2018).

1.2.3. Otak Ikan

Otak ikan terbagi menjadi beberapa bagian utama. Pada bagian *rostral* terdapat *telencephalon* yang berisi *cerebrum* dan *olfactory lobes*, struktur yang bertugas menerima dan memproses sinyal dari lubang hidung melalui dua saraf olfaktori. Bagian ini sangat berkembang pada ikan yang mengandalkan penciuman, seperti hiu, hagfish, dan ikan lele. *Olfactory lobes* ini juga memiliki dua *telencephalon*, struktur yang mirip dengan otak besar (*cerebrum*). Pada ikan, *telencephalon* berperan besar dalam penciuman, dan bersama-sama membentuk otak depan (Achyani, 2011).

Otak depan terhubung dengan otak tengah melalui *diencephalon*, yang terletak di bawah *optic lobes*. Bagian ini berfungsi dalam pengaturan hormon dan menjaga keseimbangan internal tubuh (*homeostasis*). Di bawah *diencephalon* terdapat struktur berbentuk kerucut yang berfungsi mendeteksi cahaya. Otak tengah atau *mesencephalon* terdiri dari dua *optic lobes* yang mengatur penglihatan. Sementara itu, otak belakang atau *metencephalon* bertanggung jawab atas kemampuan berenang dan menjaga keseimbangan tubuh. Bagian paling akhir dari otak, yaitu *myelencephalon* atau batang otak, mengontrol otot, organ tubuh, pernapasan, dan osmoregulasi (Achyani, 2011).



Gambar 2 . A. Dorsal dan B. Ventral (Ishikawa et al. 2022).

Dengan keterangan sebagai berikut BO *olfactory bulb*, CE *cerebellum*, CR *crista cerebellaris*, EG *eminentia granularis*, H *hypophysis*, HB *habenula*, LI *inferior lobe*, MED *medulla oblongata*, OT *optic tectum*, P *pineal body*, SC *spinal cord*, sy *sulcus ypsiloniformis*, TE *telencephalon*, TLa *torus lateralis*, XL *vagal lobe*.

Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini dirumuskan dengan hipotesis bahwa pendekatan morfologi dan morfometrik otak dapat digunakan sebagai studi awal (*baseline*) dalam pengembangan hewan coba penyakit Alzheimer menggunakan ikan medaka (*Oryzias celebensis*). Sejauh penelusuran pustaka yang dilakukan oleh penulis, publikasi penelitian mengenai “*Pengembangan Hewan Model Alzheimer Menggunakan Ikan Medaka (Oryzias celebensis) dengan Pendekatan Morfologi dan Morfometrik Otak*” belum pernah dilaporkan sebelumnya. Penelitian terdahulu yang berkaitan dengan topik ini adalah studi oleh Newman et al., (2011) berjudul “*Zebrafish as a Tool in Alzheimer’s Disease Research*”, yang merupakan penelitian berbasis studi literatur dan menggunakan ikan zebra (*Danio rerio*), sehingga penelitian ini memiliki unsur kebaruan dari segi spesies model dan pendekatan morfologi–morfometrik sebagai studi awal komparatif otak.

1.3 Tujuan dan Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi ilmiah serta menambah wawasan dan pengetahuan peneliti dan akademisi mengenai pengembangan hewan model penyakit Alzheimer menggunakan ikan medaka (*Oryzias celebensis*) melalui pendekatan morfologi dan morfometrik otak, serta sebagai studi awal/*baseline* dalam kajian komparatif struktur otak ikan sebagai dasar pengembangan penelitian lanjutan di bidang neurodegeneratif.

BAB II METODE PENELITIAN

2.1. Tempat dan Waktu

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

2.2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah akuarium, cawan petri, mikroskop stereo, pisau bedah, wadah anestesi. Bahan yang digunakan adalah buffer fosfat, Alkohol 80%, 90%, 95%, Asam Pikrat Jenuh, Asam Asetat Glasial dan formalin.

2.3. Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan studi deskriptif dan kuantitatif morfometrik yang menyajikan gambaran morfologi otak ikan medaka (*Oryzias celebensis*) sebagai data dasar (*baseline*) dan studi awal komparatif dalam pengembangan hewan model penyakit Alzheimer.

2.4. Pelaksanaan Penelitian

2.4.1. Pengambilan sampel dan *Euthanasia* Ikan

Sampel ikan medaka diperoleh dari Sungai Kampung Karst Rammang-Rammang, Kabupaten Maros, Sulawesi Selatan, dengan jumlah total sebanyak 15 ekor. Proses pengambilan dan koleksi ikan medaka dilakukan sesuai dengan pedoman etika penggunaan hewan coba serta telah mendapatkan persetujuan etik nomor 033/UN4.1.RSHUH/B/PP36/2025 dari Komisi Etik Hewan dan Penelitian Rumah Sakit Hewan Universitas Hasanuddin. Setelah itu ikan dibius ke dalam air yang dipelihara dengan suhu 0 hingga 4 °C namun tidak akan langsung bersentuhan dengan es. Pasca difiksasi dalam formalin dan alkohol 70% Ikan yang telah di *euthanasia* otaknya dikeluarkan dari tengkorak. (Ishikawa et al., 1999).

2.4.2. Pengamatan Preparat

Pengamatan preparat diperiksa di bawah mikroskop stereo dengan Pengamatan SEM (*Scanning electron microscope*), dan melihat bagian bagian otak yang telah dikeluarkan. Dimulai dengan persiapan berupa pemotongan, fiksasi, dehidrasi dengan alkohol bertahap hingga 100%, pengeringan menggunakan *Critical Point Drying* (CPD) dan pelapisan material konduktif menggunakan *sputtering*. Sampel yang telah dipersiapkan ditempatkan di atas sample stage dengan *conductive tape* untuk mencegah efek charging selama pengamatan (Adhika et al., 2018).

2.4.3. Perhitungan Morfometrik otak

Perhitungan Morfometrik otak dilakukan dengan Pengamatan SEM (*Scanning electron microscope*) dengan menghitung LOC (*Length of Cerebrum*) Panjang total otak besar dari anterior hingga belakang posterior. LOB (*Length of Brainstem*) Panjang batang otak dari batas otak besar hingga ujung bawah batang otak. LOCR (*Length of Cerebellum and Brainstem*) Panjang gabungan otak kecil dan batang otak dari bagian atas cerebellum hingga bagian bawah batang otak. DOB (*Diameter of Brainstem*) Lebar maksimum batang otak yang diukur secara horizontal. DOCR (*Diameter of Cerebellum and Brainstem*) Diameter maksimum otak kecil dan batang otak diukur secara horizontal (Olopade et al., 2005).

2.5. Analisis Data

Perhitungan dilakukan dengan menggunakan SEM. Data yang diperoleh ditabulasi melalui Microsoft Excel, kemudian divisualisasikan menggunakan perangkat lunak ImageJ. Selanjutnya, data dianalisis secara statistik dengan bantuan rumus STDEV serta dilakukan pula analisis kualitatif.



Gambar 3 Alur Penelitian.

