



PENGARUH FUCOIDAN TERHADAP STRUKTUR HEPAR IKAN ZEBRA (*Danio rerio*, Hamilton 1822) YANG DIBERI PARASETAMOL DOSIS TINGGI

EFFECT OF FUCOIDAN ON HEPAR STRUCTURE OF ZEBRAFISH

(*Danio rerio*, Hamilton 1822) TREATED WITH HIGH DOSAGE PARACETAMOL

Nur Indah Septriani^{1*}, Eben Ezer Simanungkalit¹, Olvita Mayani¹, Indah Nur Fauziah¹, Desy Amelia Saputri¹, Anggi Rehulina Sitepu¹, Raafi Nur Ali¹, Ascarti Adaninggar¹, Raden Roro Risang Ayu Dewayani¹, Anita Restu Puji Raharjeng², Raharjeng^{1,2}, Bambang Retnoaji¹, Ardaning Nuriliani¹, Hendry T.S.S.G. Saragih¹, Zuliyati Rohmah¹, Fajar Sofyantoro¹, Slamet Widiyanto¹, Nastiti Wijayanti¹

¹Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada

²Prodi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Raden Fatah Palembang

*Corresponding author: nurindahseptriani@ugm.ac.id

Naskah Diterima: 18 Juli 2022; Direvisi: 17 Maret 2023; Disetujui: 1 April 2023

Abstrak

N-asetil-p-aminophenol atau parasetamol merupakan analgesik dan antipiretik yang mudah didapat tanpa resep. Penyalahgunaan dan kesalahan dosis konsumsi dapat menyebabkan kerusakan hepar. Fucoidan memiliki aktivitas hepatoprotektif yang dapat menstimulasi regenerasi hepatosit. Studi ini bertujuan untuk mengamati struktur histologis hepar ikan zebra (*Danio rerio*, Hamilton 1822) dewasa yang telah diberi perlakuan parasetamol dan fucoidan. Desain penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan ikan zebra dibagi menjadi empat kelompok perlakuan yaitu kontrol (K) selama 10 hari, parasetamol 5 mM (P) selama 3 hari dilanjutkan air RO selama 7 hari, parasetamol 5 mM selama 3 hari dilanjutkan fucoidan 100 µg/mL (P + F 100) selama 7 hari dan parasetamol 5 mM selama 3 hari dilanjutkan fucoidan 500 µg/mL (P + F 500) dengan ulangan setiap kelompok 6 ekor ikan. Studi berlangsung selama 10 hari, parameter yang diamati adalah histopatologis hepar, berat badan ikan, keaktifan berenang, dan nafsu makan. Pada semua kelompok perlakuan, hasil menunjukkan bahwa struktur histologis hepar ikan zebra mengalami kerusakan jaringan berupa hemoragi, dan kerusakan sel berupa vakuolisasi, piknosis dan nekrosis. Terdapat penurunan aktivitas berenang dan nafsu makan setelah perlakuan parasetamol. Kelompok yang diberi fucoidan mengalami pemulihan aktivitas renang dan nafsu makan. Terdapat perbedaan nyata ($P < 0,05$) kerusakan hepar antara perlakuan kontrol, parasetamol dan pemberian fucoidan. Kelompok P + F 100 dan P + F 500 mengalami pemulihan hepatosit setelah paparan parasetamol. Kelompok P + F 500 memiliki perbaikan yang lebih baik dibandingkan kelompok P + F 100. Hasil pada penelitian ini adalah fucoidan dapat digunakan sebagai agen protektif hepar setelah paparan parasetamol dosis tinggi.

Kata Kunci: Aktivitas renang; Fucoidan; Histopatologis hepar; Ikan zebra; Parasetamol

Abstract

N-acetyl-p-aminophenol or paracetamol is an analgesic and antipyretics which can be obtained easily without a prescription. Consumption misuse and wrong dosage intake can lead to liver damage. Fucoidan has hepatoprotective activity that can stimulate hepatocyte regeneration. The aim of this study was to observe the histological liver structure of adult zebrafish that had been treated with paracetamol and fucoidan. The research design used was a completely randomized design (CRD) with zebrafish divided into four treatment groups; control (K) for 10 days, paracetamol 5 mM (P) for 3 days followed by RO water for 7 days, Paracetamol 5 mM for 3 days followed by fucoidan 100 g/mL (P + F 100) for 7 days and Paracetamol 5 mM for 3 days followed by fucoidan 500 g/mL (P + F 500) with replicates for each group of 6 fish. The study lasted for 10 days, data on liver histopathology was evaluated, fish body weight, swimming activity, and appetite was also evaluated. In all treatment groups, the results showed that the histological structure of the zebrafish liver experienced tissue damage in the form of hemorrhage, and cell damage in the form of vacuolization, pyknosis and necrosis. There was a decrease in swimming activity and appetite after paracetamol treatment, the group given fucoidan experienced a recovery in swimming activity and appetite. There was a significant difference ($P < 0.05$) in liver damage between the control, paracetamol and the fucoidan treated groups. The P + F 100 and P + F 500 exhibited hepatocyte recovery after exposure to paracetamol. The P + F 500 group had better improvement than the P + F100 group. The result of this research showed that fucoidan can be used as a protective liver agent after paracetamol high dosage exposure.

Keywords: Fucoidan; Histopathological liver; Paracetamol; Swimming activity; Zebrafish

Permalink/DOI: <http://dx.doi.org/10.15408/kauniyah.v17i2.27185>

PENDAHULUAN

Sebagai salah satu analgesik dan antipiretik yang mudah dibeli tanpa resep dokter, N-asetil-p-aminophenol atau parasetamol berpotensi memberikan efek negatif pada hepar apabila dosis yang digunakan tidak sesuai (Larsen & Wendon, 2014). Parasetamol bekerja dengan menghambat sintesis prostaglandin pada sistem saraf pusat dan menghambat impuls rasa sakit (Cedron et al., 2020). Metabolisme parasetamol terjadi di hepar dan diekskresikan dalam urin (Larsen & Wendon, 2014), dengan bioavailabilitas yang tinggi, sekitar 80% dari tiap dosis yang dikonsumsi secara oral akan diserap oleh tubuh (Ameer et al., 1983). Intoksikasi maupun overdosis parasetamol dapat mengakibatkan nekrosis pada hepatosit hepar, perubahan hematologis hingga kematian pada hewan coba (McGregor et al., 2003; Gomaa, 2018; Merdana et al., 2019; Cedron et al., 2020). Parasetamol menyebabkan apoptosis pada dosis rendah dan toksisitas sel-sel hepar pada dosis tinggi (Öksüz, 2020). Penggunaan parasetamol dengan dosis tinggi akan menyebabkan kerusakan yang lebih parah apabila dibandingkan dengan pemberian dosis rendah (Li et al., 2021). Selain itu, pemberian parasetamol dengan tujuan untuk membuat tikus mengalami hepatotoksitas dilakukan dengan pemberian secara oral selama 7 hari (Basu et al., 2020).

Studi mengenai aktivitas hepatoprotektif dari bahan alami dalam menangani kerusakan hepar telah banyak dilakukan, namun belum spesifik terhadap kemampuan fucoidan dalam menangani kerusakan hepar akibat paparan parasetamol. Fucoidan merupakan salah satu bahan aktif yang umum dijumpai pada makroalga cokelat dan beberapa invertebrata laut seperti teripang dan bulu babi (Vieira & Mourão, 1988; Chevolot et al., 1999; Lee et al., 2013). Fucoidan adalah polisakarida kompleks yang memiliki potensi farmakologis sebagai antivirus, antikoagulan, antioksidan, dan anti-inflamasi (Li et al., 2008; Chale-Dzul et al., 2015). Dibandingkan dengan polisakarida yang lain, fucoidan lebih mudah didapat dari berbagai sumber yang cukup murah. Oleh karena itu, potensi fucoidan telah menjadi salah satu topik penting dalam mengembangkan obat dan makanan fungsional (Li et al., 2008). Fucoidan juga memiliki potensi antioksidatif yang dapat mengurangi dampak kerusakan hepar (Hayashi et al., 2008) dan menstimulasi *Hepatocyte Growth Factor* (HGF) yang berperan dalam regenerasi hepatosit (Fukuta & Nakamura, 2008). Hal ini disebabkan fucoidan diketahui memiliki bioaktivitas sebagai antioksidan, anti-inflamasi, antivirus, antikoagulan, dan antitumor (Sinurat & Maulida, 2018).

Potensi fucoidan dalam menstimulasi HGF menjadi dasar dalam penelitian ini. Ikan zebra dipilih menjadi hewan model karena memiliki bentuk sistem imun yang sangat mirip dengan sistem imun mamalia (Trede et al., 2001). Selain itu, ikan zebra merupakan hewan model populer yang digunakan dalam studi biologi perkembangan, embriologi, dan toksikologi (Cedron et al., 2020; Raharjeng et al., 2021). Keunggulan lain dalam menggunakan ikan zebra sebagai hewan model adalah karena kemudahan perawatan dan perkembangbiakan, perkembangan yang relatif cepat, sekuens genom yang lengkap, hingga memiliki tingkat homologi gen yang tinggi dengan mamalia (Ducharme et al., 2015). Hepar ikan zebra memiliki tipe sel utama yang mirip dengan hepar mamalia dan menunjukkan respon patogenik akibat stres lingkungan dan mutasi genetik (Pham et al., 2017). Penggunaan ikan zebra dipilih dalam berbagai penelitian perkembangan, toksikologi, neurologi, hingga kardiologi karena kemudahan dalam perawatan dan hasil yang mudah didapat dalam pengamatan toksisitas (Zhang et al., 2022a). Selain itu, alasan penggunaan ikan zebra adalah karena kesamaan gen, sistem saluran pencernaan, jaringan adiposa, dan sistem *musculoskeletal* antara ikan zebra dan manusia (Yuniarto et al., 2017). Salah satu tantangan dalam studi toksikologi adalah bagaimana memprediksi potensi senyawa hepatotoksik melalui studi yang meminimalisir penggunaan *rodent* secara *in vivo* (Driessen et al., 2022). Penggunaan ikan zebra juga memenuhi prinsip *replacement*, *reduction*, dan *refinement* (3R) dalam etika penggunaan hewan coba, yakni mengurangi penggunaan hewan uji golongan *rodent* dan menggunakan hewan yang lebih rendah golongan ordonya (Indriyanti, 2020). Pada penelitian ini, paparan parasetamol dosis tinggi akan memberikan stres pada ikan zebra sehingga struktur hepar pada ikan zebra yang diberi fucoidan dapat diamati. Oleh karena itu, tujuan penelitian ini adalah mempelajari pengaruh fucoidan terhadap struktur histopatologis, tingkat kerusakan hepar, serta pertumbuhan dan perilaku renang ikan zebra yang diberi perlakuan parasetamol dosis tinggi. Penelitian ini dapat memberikan informasi

pemanfaatan fucoidan sebagai obat herbal yang dapat memperbaiki struktur dan fungsi hepar akibat konsumsi parasetamol dosis tinggi.

MATERIAL DAN METODE

Peralatan yang digunakan meliputi akuarium ukuran 20 x 20 x 30 cm, aerator, *glove*, *tissue processor*, timbangan digital, gelas objek, mikroskop, dan *staining jar*. Bahan-bahan yang digunakan adalah ikan zebra (*Danio rerio*) umur 1 tahun, berat badan rata-rata 0,64 g dengan jenis kelamin jantan dan betina masing-masing berjumlah 12 ekor. Ikan zebra diperoleh dari hasil pemijahan dan pemeliharaan di Laboratorium Struktur Perkembangan Hewan, Fakultas Biologi UGM; pakan ikan @Takari (komposisinya adalah tepung ikan, tepung udang, tepung kedelai, vitamin, mineral, pencerah warna, antioksidan dan lainnya. Kandungan nutrisinya adalah protein 30%, lemak 3%, serat 4%, abu 12%, kadar air 12%, vitamin A, D3, E, B1, B6, B12, *niacin*, biotin, *panthotenic*, dan *choline*), air *Reverse Osmosis* (RO), parasetamol *generic* produksi PT PIM Pharmaceuticals, pewarna Hematoksin-Eosin, fiksatif *Neutral Buffered Formalin* (NBF) 10%, larutan dekalsifikasi (asam nitrat 3% dalam etanol 70%), dan fucoidan. Fucoidan pada penelitian ini merupakan fucoidan komersial dengan merek @Colidan kapsul (PT. Pharos Indonesia). Setiap kapsul mengandung ekstrak fucoidan 50 mg.

Pada penelitian ini dosis parasetamol yang digunakan adalah 5 mM, sesuai dengan acuan Cedron et al. (2020), sedangkan untuk dosis fucoidan yang digunakan adalah 100 µg/mL dan 500 µg/mL (Ikeda-Ohtsubo et al., 2020). Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Ikan dibagi menjadi 4 kelompok, masing-masing kelompok diletakkan pada media dengan volume 2 L, sebagai berikut; kontrol (K) adalah air RO selama 10 hari, parasetamol (P) adalah larutan parasetamol selama tiga hari kemudian dilanjutkan air RO selama tujuh hari; parasetamol dilanjutkan fucoidan 100 µg/mL (P + F 100) adalah larutan parasetamol tiga hari dilanjutkan larutan fucoidan 100 µg/mL selama tujuh hari dan parasetamol dilanjutkan fucoidan 500 µg/mL (P + F 500) adalah larutan parasetamol tiga hari dilanjutkan fucoidan 500 µg/mL selama tujuh hari, dengan ulangan setiap kelompok terdiri dari 6 ekor. Penentuan jumlah ulangan dihitung menggunakan rumus Federer $\{(t-1)(n-1) \geq 15, t = \text{jumlah perlakuan; } n = \text{jumlah ulangan}\}$.

Pengumpulan data perilaku renang dilakukan dengan cara mengamati langsung perilaku berenang ikan dengan kategori sebagai berikut; sangat aktif (berenang di segala arah dengan gerakan cepat), aktif (berenang ke segala arah dengan gerakan sedang) atau tidak aktif (berenang hanya pada area tertentu, dan sedikit bergerak) yang diamati dalam waktu 5 menit, pada hari ke-1, 3, 6, 9, dan 10 setelah pemberian pakan pada pagi hari. Pemberian pakan sebanyak 3% dari bobot tubuh dalam sehari. Pengamatan nafsu makan dilakukan dengan mengamati secara langsung setelah ikan diberi pakan pada pagi hari. Nafsu makan ikan digolongkan menjadi 3, yaitu pakan habis dalam waktu kurang dari 5 menit, pakan habis dalam waktu 5–10 menit dan pakan habis dalam waktu lebih dari 10 menit. Pengamatan dilakukan pada hari ke-1, 3, 6, 9, dan 10.

Pembuatan Preparat Histologis Hepar

Euthanasi ikan zebra dilakukan dengan cara dimasukkan ke dalam *freezer* selama 15 menit, kemudian bagian kepala dan ekor dipotong, sehingga tersisa bagian badan yang digunakan untuk membuat preparat. Sampel badan ikan zebra tersebut dicuci dengan menggunakan NaCl 0,9% dan dilanjutkan dengan memfiksasi sampel di dalam NBF 10% selama 72 jam. *Washing* dengan menggunakan alkohol 70% selama 72 jam, *dehydration* dilakukan menggunakan alkohol bertingkat dimulai dari alkohol 70, 80, 90%, dan alkohol absolut, serta *clearing* dilakukan menggunakan xylol. Preparat histologis hepar dibuat dengan ketebalan irisan sekitar 4–5 µm. Pewarnaan dengan metode Harris *Hematoxylin-Eosin* (Santhoskumar et al., 2014).

Pemeriksaan Preparat Histopatologis

Preparat histopatologis diamati di bawah mikroskop cahaya Leica ICC50® (Germany) dengan perbesaran 40 x 10 kali dan dicatat perubahan yang ditemukan pada lima lapang pandang pada tiap kelompok (sehingga 20 *coupes* yang diamati). Perubahan yang diamati adalah hemoragi, piknosis, nekrosis, dan vakuolisasi. Perhitungan jumlah sel hepatosit normal, maupun yang

mengalami piknosis, nekrosis, dan vakuolisasi dilakukan menggunakan *software Image-J* (dikembangkan oleh *National Institute of Health and the Laboratory for Optical and Computational Instrumentation (LOCI, University of Wisconsin)*). Analisis tingkat kerusakan mengacu pada Tabel 1.

Tabel 1. Acuan tingkat kerusakan pada pengamatan histopatologis hepar (Gibson-Corley et al., 2013) dengan modifikasi

Tingkat kerusakan	Keterangan	Skor
Normal	Normal, inti jelas, bentuk bulat	0
Ringan	Hemoragi +, piknosis +, nekrosis +, vakuolisasi +	1
Sedang	Hemoragi ++, piknosis ++, nekrosis ++, vakuolisasi ++	2
Berat	Hemoragi +++, piknosis +++, nekrosis +++, vakuolisasi +++	3

Keterangan: -= normal; += kerusakan sel mencapai 25% dalam lima lapang pandang; ++= kerusakan sel mencapai 50% dalam lima lapang pandang; +++= kerusakan sel mencapai 75% dalam lima lapang pandang

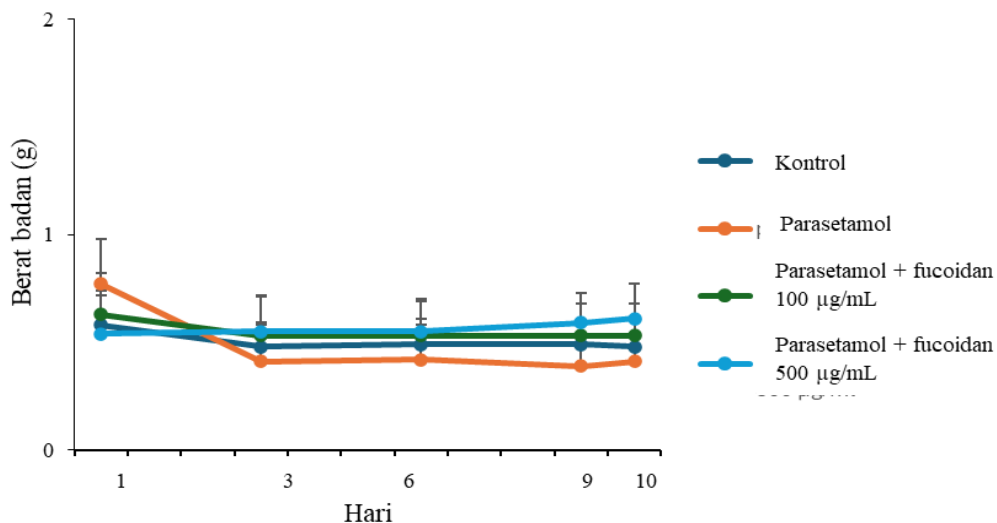
Analisa Data

Data hasil skoring histopatologis hepar dianalisis secara deskriptif komparatif menggunakan uji *Kruskal Wallis*. Data yang berbeda nyata dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Data berat badan dihitung rata-rata dan disajikan dalam bentuk grafik.

HASIL

Pertumbuhan dan Perilaku Ikan Zebra

Hasil menunjukkan bahwa berat badan ikan zebra yang dihitung sejak sebelum diberi perlakuan parasetamol pada hari ke-1, sesudah diberi perlakuan parasetamol pada hari ke-3 dan sesudah diberi perlakuan fucoidan pada hari ke-6, 9, dan 10, maka terdapat perubahan rata-rata berat badan (Gambar 1). Pada ke-4 kelompok perlakuan mengalami penurunan rata-rata berat badan yang teramati pada hari ke-3. Bahkan pada kelompok parasetamol terdapat 1 ekor ikan yang mati. Kemudian setelah diberi fucoidan terjadi peningkatan rata-rata berat badan. Peningkatan rata-rata berat badan pada kelompok P + F 500 merupakan peningkatan rata-rata berat badan tertinggi dibandingkan kelompok lainnya. Kenaikan berat badan mulai teramati pada hari keenam setelah diberi fucoidan.



Gambar 1. Parasetamol menyebabkan penurunan berat badan pada ikan zebra. Fucoidan membantu pemulihan efek parasetamol terhadap berat badan

Berdasarkan hasil pengamatan diketahui adanya penurunan keaktifan berenang dan nafsu makan pada ikan zebra setelah diberi perlakuan parasetamol (Tabel 2). Ikan zebra yang diberi perlakuan fucoidan juga mengalami penurunan keaktifan dan nafsu makan setelah diberi parasetamol. Namun setelah diberi perlakuan fucoidan 100 µg/mL dan 500 µg/mL, keaktifan dan

nafsu makan kembali pulih. Pada ikan zebra kontrol tidak mengalami penurunan keaktifan berenang dan nafsu makan.

Tabel 2. Perilaku renang dan makan ikan zebra selama perlakuan

Perlakuan	Keaktifan berenang					Nafsu makan				
	1	3	6	9	10	1	3	6	9	10
K	+++	+++	+++	+++	+++	***	***	***	***	***
P	+++	+	+	+	+	***	*	*	*	*
P + F 100	+++	+	+	++	++	***	*	*	**	**
P + F 500	+++	+	+	++	++	***	*	*	**	**

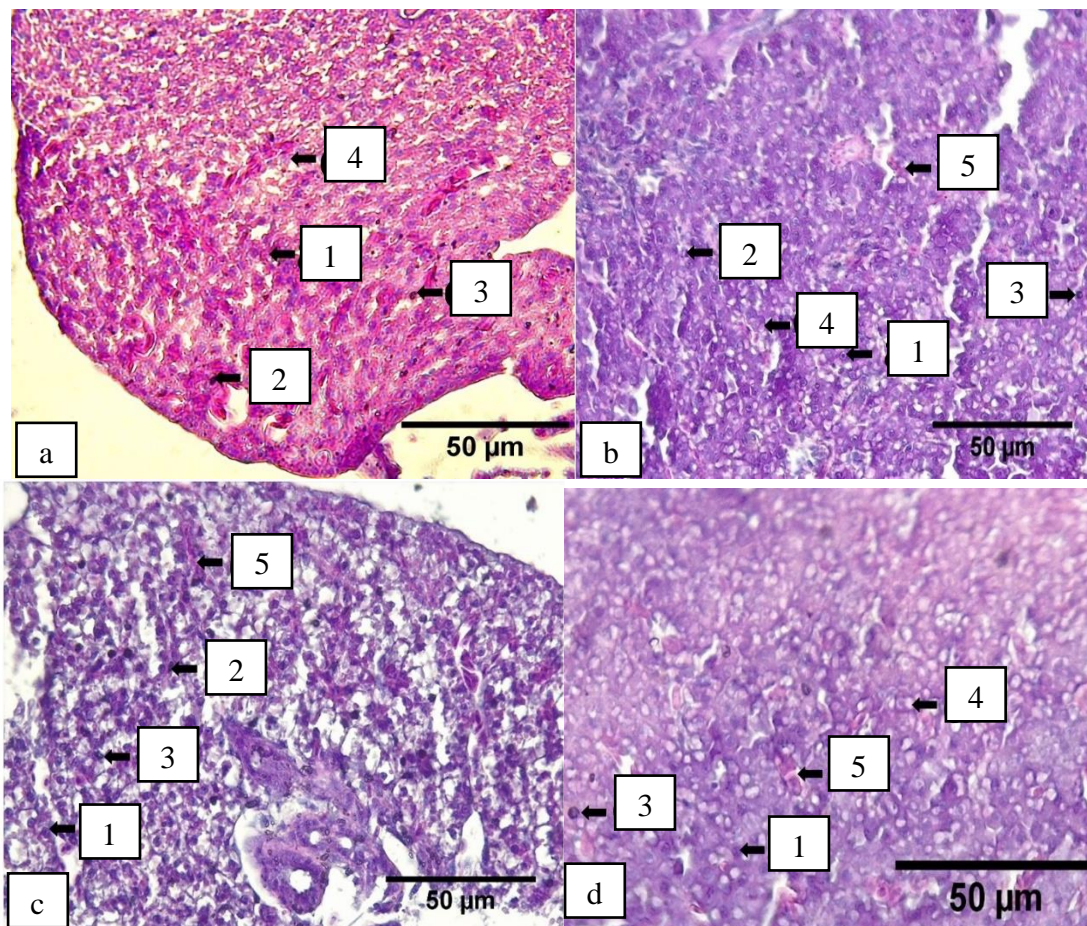
Keterangan: +++ (sangat aktif), ++ (aktif), + (kurang aktif); *** (habis dalam waktu kurang dari 5 menit), ** (habis dalam waktu 5–10 menit), * (habis dalam waktu lebih dari 10 menit). K= kontrol, P= parasetamol 5mM, P + F 100= parasetamol dilanjutkan fucoidan 100 µg/mL. P + F 500= parasetamol dilanjutkan fucoidan 500 µg/mL

Histopatologis Hepar Ikan Zebra

Pada ikan zebra perlakuan K, P, P + F 100, dan P + F 500 dapat dilihat struktur hepar dengan kerusakan jaringan berupa hemoragi, dan kerusakan sel-sel hepatosit berupa vakuolisasi, piknosis, serta nekrosis sebagaimana tampak pada Tabel 3 dan Gambar 2.

Tabel 3. Kerusakan jaringan

Perlakuan	Kerusakan jaringan (%)			
	Hemoragi	Piknosis	Nekrosis	Vakuolisasi
K	7,4	8	6,6	9
P	27,6	21,6	26,8	3,2
P + F 100	23,6	20	20,6	14,2
P + F 500	16	14,8	14,4	20,2



Gambar 2. Struktur histologis hepar ikan zebra kelompok kontrol (a), parasetamol (b), parasetamol dilanjutkan fucoidan 100 µg/mL (c), dan parasetamol dilanjutkan fucoidan 500 µg/mL

(d). hepatosit normal (1), piknosis (2), nekrosis (3), vakuolisasi (4), dan hemoragi (5). Pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE). Scale bar= 50 μ m

Pemberian parasetamol terbukti memberikan efek kerusakan pada hepatosit ikan zebra (Tabel 4). Dengan pemberian fucoidan dosis 100 μ g/mL dan 500 μ g/mL, terjadi perbaikan pada hepatosit, dengan efek yang berbeda pada setiap kategori kerusakan. Perlakuan fucoidan dosis 500 μ g/mL, memberikan efek yang lebih baik dibandingkan pemberian fucoidan dosis 100 μ g/mL.

Hasil uji statistika *Kruskal Wallis* menunjukkan nilai p (nilai probabilitas) dari kategori hemoragi, piknosis, nekrosis, dan vakuolisasi menunjukkan terdapat perbedaan nyata ($P < 0,05$) antara perlakuan kontrol, parasetamol, dan pemberian fucoidan (Tabel 4). Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian fucoidan dapat memberikan efek hepatoprotektif pada hepar ikan zebra yang diberikan parasetamol dosis tinggi. Pemberian fucoidan dosis 500 μ g/mL memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan dosis 100 μ g/mL.

Berdasarkan hasil uji *Mann-Whitney*, pemberian fucoidan memberikan pengaruh yang bervariasi antar perlakuan. Hemoragi yang terjadi pada kelompok K signifikan lebih rendah dibanding kelompok perlakuan lainnya. Sedangkan hemoragi antara kelompok P, P + F 100, dan P + F 500 tidak menunjukkan perbedaan nyata. Piknosis yang terjadi pada kelompok fucoidan (P + F 100 dan P + F 500) signifikan lebih tinggi daripada kelompok K, namun signifikan lebih rendah daripada kelompok P. Nekrosis yang terjadi pada kelompok P dan P + F 100 tidak terdapat perbedaan nyata, namun signifikan lebih tinggi daripada kelompok K dan P + F 500. Sedangkan nekrosis pada kelompok P + F 500 signifikan lebih tinggi daripada kelompok K. Vakuolisasi yang terjadi pada perlakuan fucoidan (P + F 100 dan P + F 500) signifikan lebih tinggi daripada kelompok K. Namun, vakuolisasi pada kelompok P + F 100 tidak berbeda nyata dengan kelompok P.

Tabel 4. Nilai rerata skor kerusakan

Perlakuan	Rerata \pm standar deviasi				Tingkat kerusakan
	Hemoragi	Piknosis	Nekrosis	Vakuolisasi	
K	0,20 \pm 0,447 ^a	0,20 \pm 0,447 ^a	0,20 \pm 0,447 ^a	0,20 \pm 0,447 ^a	Normal
P	2,60 \pm 0,548 ^b	2,60 \pm 0,548 ^c	2,60 \pm 0,548 ^c	2,80 \pm 0,447 ^c	Berat
P + F 100	2,00 \pm 0,707 ^b	2,20 \pm 0,837 ^b	1,80 \pm 0,837 ^c	2,00 \pm 0,707 ^{bc}	Sedang
P + F 500	1,40 \pm 0,548 ^b	1,60 \pm 0,548 ^{ab}	1,20 \pm 0,447 ^b	1,40 \pm 0,548 ^b	Ringan

Keterangan: K= kontrol; P= parasetamol 5 mM; P + F 100= parasetamol dilanjutkan fucoidan 100 μ g/mL; P + F 500= parasetamol dilanjutkan fucoidan 500 μ g/mL. Huruf yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata antar perlakuan

PEMBAHASAN

Pertumbuhan dan Perilaku Ikan Zebra Sebelum dan Sesudah Pemberian Parasetamol dan Fucoidan

Pencemaran parasetamol di lingkungan perairan dapat mengganggu organisme akuatik dan makhluk hidup di sekitarnya (Wardi et al., 2019). Berdasarkan penelitian yang dilakukan Kataoka et al. (2019), parasetamol yang terkandung di dalam perairan dapat menyebabkan penurunan kondisi histologis dan hematologis ikan. Penelitian ini menunjukkan perlakuan parasetamol dosis tinggi menyebabkan ikan zebra menjadi tidak aktif berenang, beberapa ada yang terlihat pasif dalam berenang (diam dan sedikit bergerak), dan cenderung berada di area bawah. Pergerakan yang tidak aktif ini dimungkinkan karena efek parasetamol yang diberikan menyebabkan gangguan fisiologis atau stres. Menurut Darniwa et al. (2021), ikan zebra yang stres akan menghabiskan waktu berada di bawah dan tepi permukaan. Perilaku stres yang diperlihatkan yaitu berupa perilaku imobilitas maupun perilaku tidak menentu (*erratic behavior*).

Pada penelitian ini parasetamol juga menyebabkan gangguan pada pertumbuhan ikan zebra, yang berkaitan dengan penurunan nafsu makan. Tanda penurunan nafsu makan berupa pakan tidak habis selama 5 menit dari awal pemberian makan, padahal menurut Reed dan Jennings (2011), ikan zebra yang sehat akan menghabiskan makanannya dalam waktu 5 menit. Pemberian parasetamol juga memberikan efek berupa penurunan berat badan. Penurunan berat badan pada perlakuan ini

kemungkinan disebabkan oleh efek analgesik dari parasetamol dan penurunan produksi prostaglandin melalui penghambatan aktivitas COX-2 (Katapraja et al., 2016).

Fucoidan mampu memperbaiki pertumbuhan dan nafsu makan ikan zebra yang terpapar parasetamol. Hal ini dapat dilihat dari peningkatan perilaku renang ikan zebra dan aktif merespon ketika diberikan makanan. Nafsu makan ikan zebra yang diberi fucoidan terlihat normal dan makanan yang diberikan habis dalam waktu 5 menit. Pulihnya pergerakan maupun nafsu makan pada ikan zebra kemungkinan disebabkan oleh kemampuan fucoidan dalam memperbaiki struktur dan fungsi hepar yang terpapar parasetamol. Penambahan suplemen yang mengandung fucoidan selama 8 minggu, juga terbukti mampu meningkatkan berat badan *juvenile* ikan *Marsupenaus japonicus* (Traifalgar et al., 2010).

Histopatologis Hepar Ikan Zebra

Tabel 3 dan Gambar 2 terlihat hemoragi dan kerusakan sel-sel hepatosit berupa vakuolisasi, piknosis, serta nekrosis. Menurut Berata et al. (2015), hemoragi ditandai dengan adanya darah yang keluar dari pembuluh darah atau jaringan. Karakteristik hepatosit yang mengalami vakuolisasi adalah bagian sitoplasma agak cekung, tampak lebar, dan berwarna putih. Selain itu, volume hepatosit membesar, nukleus hanya satu, dan terletak di tengah sel. Hepatosit yang mengalami piknosis ditandai dengan inti sel yang tampak mengkerut dan menghitam, namun tidak terfragmentasi (Fajariyah et al., 2010). Sedangkan nekrosis diawali dengan perubahan morfologi inti sel yaitu piknosis. Pada tahap berikutnya, inti sel menjadi lebih padat, pecah (karioreksis), kemudian inti menghilang dan menjadi eosinofilik (kariolisis) (Kumar et al., 2015).

Menurut Cedron et al. (2020), parasetamol adalah salah satu analgesik yang paling banyak digunakan dan agen antipiretik yang dapat menghambat sintesis prostaglandin di sistem saraf pusat. Pemberian parasetamol dosis tinggi pada ikan zebra menyebabkan gangguan berupa edema perikardium, abnormalitas sumsum tulang, gangguan ginjal, kerusakan miokardium, dan akumulasi darah abnormal (Cedron et al., 2020). Pada penelitian ini, tingkat kerusakan hepar paling rendah adalah ikan zebra kelompok kontrol yang didominasi sel hepatosit normal, sedangkan tingkat kerusakan hepar paling tinggi terlihat pada perlakuan parasetamol. Hal tersebut menunjukkan bahwa parasetamol dapat menyebabkan kerusakan hepar apabila diberikan pada dosis tinggi (Locci et al., 2021). Parasetamol memiliki bioavailabilitas yang cukup tinggi. Dosis parasetamol yang tinggi bisa mengakibatkan penipisan *glutathione* yang berkepanjangan. Stres oksidatif juga dapat menyebabkan rusaknya potensial membran dan menyebabkan penghentian sintesis ATP sehingga terjadi kematian pada sel dan peradangan akut pada hepar (Rotundo & Pyrsopoulos, 2020).

Pada ke-4 kelompok perlakuan, jenis kerusakan yang banyak terjadi adalah vakuolisasi, kemudian disusul kerusakan jaringan (hemoragi), dan paling sedikit adalah nekrosis. Nekrosis merupakan kerusakan yang paling parah dan tidak dapat diperbaiki (*irreversible*). Beda halnya dengan kerusakan jenis vakuolisasi yang merupakan kerusakan yang dapat diperbaiki dan dapat dikembalikan ke sel normal apabila pemicunya dihilangkan. Nekrosis dapat terjadi karena adanya zat toksik sehingga menyebabkan kerusakan pada hepatosit (Kardena & Winaya, 2011).

Zat toksik hasil metabolisme parasetamol berupa N-asetil-p-benzokuinon (NAPQI) tidak dapat dinetralisir semuanya oleh *glutathione* hepar apabila dosisnya berlebihan. Senyawa ini dapat menyebabkan terjadinya reaksi rantai radikal bebas dan menyebabkan terganggunya keseimbangan osmotik sel sehingga sel hepar tidak mendapat glukosa dan natrium dan akhirnya terjadi nekrosis sel hepar terutama pada daerah sentrolobuler. NAPQI berikatan secara kovalen pada makromolekul sel, menyebabkan kerentanan sel-sel hepar terhadap cedera oleh oksidan dan disfungsi berbagai sistem enzim (Rafita et al., 2015).

Penggunaan fucoidan sudah dilakukan selama beberapa tahun terakhir karena perannya terhadap penyembuhan hepar (Li et al., 2020). Studi sebelumnya menunjukkan bahwa pengobatan dengan menggunakan fucoidan meningkatkan regulasi PGC-1 α dengan mengaktifkan jalur AMPK- α 1/SIRT1 untuk mengarahkan efek anti inflamasi dan antioksidan serta menekan ekspresi ChREBP dan HNF- α 1, sehingga dapat mengurangi kerusakan hepar (Xue et al., 2021). Penelitian pada ikan Nila yang memiliki gangguan fungsi hepar, kemudian diberi perlakuan fucoidan menunjukkan

dampak potensial fucoidan pada indikator hematik dan respons antioksidan (Abdel-Daim et al., 2020). Pemberian fucoidan pada tikus menunjukkan hasil signifikan pengaruh fucoidan dalam rangka mengurangi ukuran granuloma hepar dan respon fibrosis (Bai et al., 2020) serta respon *autophagy* yang memiliki peran melindungi sel dan organisme dari faktor stimulasi yang menyebabkan kerusakan hepar (Zhang et al., 2022b).

Pada penelitian ini, ikan zebra perlakuan P + F 100 menunjukkan kerusakan sedang, sedangkan P + F 500 menunjukkan kerusakan ringan. Hal ini menunjukkan semakin tinggi konsentrasi fucoidan, maka semakin banyak sel yang dapat diperbaiki. Menurut penelitian sebelumnya, diketahui bahwa fucoidan memberikan efek yang signifikan terhadap penyembuhan hepar. Fucoidan dapat memperbaiki struktur hepar melalui peningkatan pertumbuhan sel (Dai et al., 2020). Fucoidan juga memiliki kemampuan anti-inflamasi dan dapat meningkatkan mobilisasi *Hepatic Stellate Cells* (HSC) pada area tubuh yang mengalami kerusakan jaringan (Putri, 2018). Selain itu, menurut Purbomartono et al. (2019), penambahan kadar fucoidan pada pakan ikan mampu meningkatkan stimulasi sistem imun non-spesifik, sehingga ikan lebih tahan terhadap penyakit karena adanya komponen bioaktif berupa polisakarida pada ekstrak rumput laut cokelat *Padina* sp.

Penelitian ini memunculkan pertanyaan untuk kajian lebih mendalam mengenai pengaruh jenis kelamin dan umur ikan terhadap efek fucoidan yang diberi pada ikan zebra setelah perlakuan parasetamol dosis tinggi. Apakah ada perbedaan efek fucoidan selain ikan zebra setelah perlakuan parasetamol dosis tinggi. Selain itu, apakah fucoidan memberi efek yang signifikan terhadap perbaikan struktur organ selain hepar, misalnya ginjal, intestin, lambung dan insang setelah pemberian zat toksik dosis tinggi.

SIMPULAN

Penelitian ini merupakan penelitian yang pertama mengobservasi efek pemberian fucoidan pada struktur hepar ikan zebra yang diberi parasetamol dosis tinggi. Hasil penelitian menunjukkan pemberian parasetamol dosis tinggi dapat menyebabkan kerusakan pada hepar ikan zebra. Pemberian fucoidan 100 µg/mL dan 500 µg/mL menyebabkan terjadinya perbaikan pada hepatosit yang rusak karena parasetamol. Pemberian fucoidan dosis 500 µg/mL memberikan efek yang lebih baik dibandingkan pemberian fucoidan dosis 100 µg/mL. Hasil pada penelitian ini adalah fucoidan dapat digunakan sebagai agen protektif hepar setelah paparan parasetamol dosis tinggi.

REFERENSI

- Abdel-Daim, M. M., Dawood, M. A. O., Aleya, L., & Alkahtani, S. (2020). Effects of fucoidan on the hematic indicators and antioxidative responses of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed diets contaminated with aflatoxin B1. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(11), 12579-12586. doi: 10.1007/s11356-020-07854-w.
- Ameer, B., Divoll, M., Abernethy, D. R., Greenblatt, D. J., & Shargel, L. (1983). Absolute and relative bioavailability of oral acetaminophen preparations. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 72(8), 955-958. doi: 10.1002/JPS.2600720832.
- Bai, X., Li, M., Wang, X., Chang, H., Ni, Y., Li, C., ... Xu, Z. (2020). Therapeutic potential of fucoidan in the reduction of hepatic pathology in murine schistosomiasis japonica. *Parasites and Vectors*, 13(1), 1-14. doi: 10.1186/s13071-020-04332-7.
- Basu, A., Gutti, S., Kundu, S., Das, A., Das, S., & Mukherjee, A. (2020). Oral andrographolide nanocrystals protect liver from paracetamol induced injury in mice. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 55(October 2019), 101406. doi: 10.1016/j.jddst.2019.101406.
- Berata, I. K., Winaya, I. B. O., Adi, A. A. M., & Adnyana, I. B. W., & Kardena, I.M. (2015). *Patologi veteriner umum*. Denpasar: Swasta Nulus.
- Cedron, V. P., Weiner, A. M. J., Vera, M., & Sanchez, L. (2020). Acetaminophen affects the survivor, pigmentation and development of craniofacial structures in zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *Biochemical Pharmacology*, 174(November 2019), 113816. doi: 10.1016/j.bcp.2020.113816.

- Chale-Dzul, J., Moo-Puc, R., Robledo, D., & Freile-Pelegri n, Y. (2015). Hepatoprotective effect of the fucoidan from the brown seaweed *Turbinaria tricostata*. *Journal of Applied Phycology*, 27(5), 2123-2135. doi: 10.1007/s10811-014-0429-9.
- Chevolot, L., Foucault, A., Chaubet, F., Kervarec, N., Siquin, C., Fisher, A. M., & Boisson-Vidal, C. (1999). Further data on the structure of brown seaweed fucans: Relationships with anticoagulant activity. *Carbohydrate Research*, 319(1-4), 154-165. doi: 10.1016/S0008-6215(99)00127-5.
- Dai, Y. L., Jiang, Y. F., Nie, Y. H., Lu, Y. A., Kang, M. C., & Jeon, Y. J. (2020). Hepato-protective effect of fucoidan extracted from acid-processed *Sargassum fusiformis* in ethanol-treated Chang liver cells and in a zebrafish model. *Journal of Applied Phycology*, 32(6), 4289-4298. doi: 10.1007/s10811-020-02262-6.
- Darniwa, A. V., Cahyanto, T., Nurbaeni, S., Adawiyah, A., Ulfa, R. A., & Paujiah, E. (2021). Efek isolasi sosial pada perilaku stres ikan zebra dewasa (*Danio rerio*). *Jurnal Kelautan Dan Perikanan Indonesia*, 1(1), 30-34.
- Driessen, M., van der Plas-Duivesteyn, S., Kienhuis, A. S., van den Brandhof, E. J., Roodbergen, M., van de Water, B., ... Pennings, J.L., (2022). Identification of proteome markers for drug-induced liver injury in zebrafish embryos. *Toxicology*, 477, 153262.
- Ducharme, N. A., Reif, D. M., Gustafsson, J. -A., & Bondesson, M. (2015). Comparison of toxicity values across zebrafish early life stages and mammalian studies: Implications for chemical testing. *Reproductive Toxicology*, 55, 3-10. doi: 10.1016/j.reprotox.2014.09.005. Comparison.
- Fajariyah, S., Utami, E. T., Arisandi, Y., Biologi, J., & Universitas, F. (2010). Efek pemberian estrogen sintetis (diethylstilbestrol) terhadap struktur hepar dan kadar sgot dan sgpt pada mencit (*Mus musculus*) betina strain balb/c. *Jurnal Ilmu Dasar*, 11(Gmikro), 76-82.
- Fukuta, K., & Nakamura, T. (2008). Induction of hepatocyte growth factor by fucoidan and fucoidan-derived oligosaccharides. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 60(4), 499-503. doi: 10.1211/jpp.60.4.0013.
- Gibson-Corley, K. N., Olivier, A. K., & Meyerholz, D. K. (2013). Principles for histopathologic scoring. *Veterinary Pathology*, 50(6), 1-22. doi: 10.1177/0300985813485099.
- Gomaa, S. (2018). Adverse effects induced by diclofenac, ibuprofen, and paracetamol toxicity on immunological and biochemical parameters in Swiss albino mice. *The Journal of Basic and Applied Zoology*, 79(1), 1-9. doi: 10.1186/s41936-018-0025-7.
- Hayashi, S., Itoh, A., Isoda, K., Kondoh, M., Kawase, M., & Yagi, K. (2008). Fucoidan partly prevents ccl4-induced liver fibrosis. *European Journal of Pharmacology*, 580(3), 380-384. doi: 10.1016/j.ejphar.2007.11.015.
- Ikeda-Ohtsubo, W., López-Nadal, A., Zaccaria, E., Iha, M., Kitazawa, H., Kleerebezem, M., & Brugman, S. (2020). Intestinal microbiota and immune modulation in zebrafish by fucoidan from Okinawa mozuku (*Cladosiphon okamuranus*). *Frontiers in Nutrition*, 7(June), 1-12. doi: 10.3389/fnut.2020.00067.
- Indriyanti, N. (2020). Zebrafish (*Danio rerio*) sebagai model hewan coba pada pengujian aktivitas obat. In *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 11, 80-83.
- Kardena, I. M., & Winaya, I. B. O. (2011). Kadar perasan kunyit yang efektif memperbaiki kerusakan hati mencit yang dipicu karbon tetrachlorida. *Jurnal Veteriner*, 12(1), 34-39.
- Kataoka, C., Sugiyama, T., Kitagawa, H., Takeshima, A., Kagami, Y., Tatsuta, H., & Kashiwada, S. (2019). Temperature-dependent toxicity of acetaminophen in Japanese medaka larvae. *Environmental Pollution (Barking, Essex: 1987)*, 254(Pt B). doi: 10.1016/J.ENVPOL.2019.113092.
- Katapraja, R. D., Fuadi, I., & Redjeki, I. S. (2016). Perbandingan efek pemberian analgesia pre-emptif parecoxib dengan parasetamol terhadap nyeri pascaoperasi radikal mastektomi menggunakan numeric rating scale. *Jurnal Anestesi Perioperatif*, 4(2), 111-116. doi: 10.15851/jap.v4n2.825.
- Kumar, V., Abbas, A. K., & Aster, J. K. (2015). *Robbins and cotran pathologic basic of disease (9th ed.)*. Philadelphia: Elsevier Health Science.

- Larsen, F. S., & Wendon, J. (2014). Understanding paracetamol-induced liver failure. *Intensive Care Medicine*, 40(6), 888-890. doi: 10.1007/s00134-014-3293-9.
- Lee, S. H., Ko, C. I., Jee, Y., Jeong, Y., Kim, M., Kim, J. S., & Jeon, Y. J. (2013). Anti-inflammatory effect of fucoidan extracted from *Ecklonia cava* in zebrafish model. *Carbohydrate Polymers*, 92(1), 84-89. doi: 10.1016/j.carbpol.2012.09.066.
- Li, B., Lu, F., Wei, X., & Zhao, R. (2008). Fucoidan: Structure and bioactivity. *Molecules*, 13(8), 1671-1695. doi: 10.3390/molecules13081671.
- Li, J., Guo, C., & Wu, J. (2020). Fucoidan: Biological activity in liver diseases. *American Journal of Chinese Medicine*, 48(7), 1617-1632. doi: 10.1142/S0192415X20500809.
- Li, J., Chiew, A. L., Isbister, G. K., & Duffull, S. B. (2021). Sulfate conjugation may be the key to hepatotoxicity in paracetamol overdose. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 87(5), 2392-2396. doi: 10.1111/bcp.14642.
- Locci, C., Cuzzolin, L., Capobianco, G., & Antonucci, R. (2021). Paracetamol overdose in the newborn and infant: A life-threatening event. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 77(6), 809-815. doi: 10.1007/s00228-020-03077-7.
- McGregor, A. H., More, L. J., Simpson, K. J., & Harrison, D. J. (2003). Liver death and regeneration in paracetamol toxicity. *Human and Experimental Toxicology*, 22(4), 221-227. doi: 10.1191/0960327103ht325oa.
- Merdana, I. M., Kardena, I. M., Budiasa, K., & Gunawan, I. M. D. (2019). Histopathological structure of white rats liver after giving ant nest extract due to induced paracetamol toxic dose. *Buletin Veteriner Udayana*, 21, 14. doi: 10.24843/bulvet.2019.v11.i01.p03.
- Öksüz, E. (2020). Comparison of effects of high and low dose paracetamol treatment and toxicity on brain and liver in rats. *Northern Clinics of Istanbul*, 7(6), 541-550. doi: 10.14744/nci.2020.54926.
- Pham, D. H., Zhang, C., & Yin, C. (2017). Using zebrafish to model liver diseases-where do we stand?. *Current Pathobiology Reports*, 5(2), 207-221.
- Purbomartono, C., Mulia, D. S., & Priyambodo, D. (2019). Respon imun non-spesifik ikan gurami (*Osphronemus gouramy*) yang diberi fucoidan dari ekstrak rumput laut cokelat *Padina sp. Sainteks*, 16(1), 9-17. doi: 10.30595/sainteks.v16i1.7012.
- Putri, F. I. M. (2018). Pengaruh pemberian ekstrak alga coklat (*Sargassum sp.*) terhadap kadar tnf- α pada hepar tikus wistar dengan diet aterogenik (Disertasi doktoral, Universitas Brawijaya, Malang, Jawa Timur, Indonesia). Diakses dari <http://repository.ub.ac.id/id/eprint/167642/>.
- Rafita, I. D., Lisdiana., & Marianti, L. (2015). Pengaruh ekstrak kayu manis terhadap gambaran histopatologi dan kadar SGOT-SGPT hepar tikus yang diinduksi parasetamol. *Unnes Journal of Life Science*, 4(1), 29-37.
- Raharjeng, A. R. P., Kusumaningtyas, A. A., Widatama, D. A., Zarah, S., Pratama, F., & Dani, H. B. (2021). The effects of the plant extract on embryonic development of zebrafish (*Danio rerio*). *Tropical Genetics*, 1(1), 6-11.
- Reed, B., & Jennings, M. (2011). Guidance on the housing and care of zebrafish *Danio rerio*. In Royal Society for the Prevention of Cruelty to Animals (RSPCA), *Research animals department, science group, RSPCA*. Diakses dari <https://www.aaalac.org/pub/?id=E9019693-90EC-FC4A-526E-E8236CC13B28>
- Rotundo, L., & Pyrsopoulos, N. (2020). Liver injury induced by paracetamol and challenges associated with intentional and unintentional use. *World Journal of Hepatology*, 12(4), 125-136. doi: 10.4254/wjh.v12.i4.125.
- Santhoskumar, R., Santhosh, R., Shibu, B., Hareesh, K. H., & Gayathri, S. S. (2014). A novel cold boat (cold plate) method to overcome the irregular solidification of paraffin wax during the time of preparation of block for microtomy. *Journal of Cytology & Histology*, S4(002). doi: 10.4172/2157-7099S4-002.
- Sinurat, E., & Maulida, N. N. (2018). Effect of fucoidan hydrolysis on its activity as an antioxidant. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 13(2), 123-130. doi: 10.15578/jpbkp.v13i2.522.

- Traifalgar, R. F., Kira, H., Tung, H. T., Michael, F. R., Laining, A., Yokoyama, S., ... Koshio, S. (2010). Influence of dietary fucoidan supplementation on growth and immunological response of juvenile *Marsupenaeus japonicus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 41(S2), 235-244.
- Trede, N. S., Zapata, A., & Zon, L. I. (2001). Fishing for lymphoid genes. *Trends in Immunology*, 22(6), 302-307. doi: 10.1016/S1471-4906(01)01939-1.
- Vieira, R. P., & Mourão, P. A. (1988). Occurrence of a unique fucose-branched chondroitin sulfate in the body wall of a sea cucumber. *The Journal of Biological Chemistry*, 263(34), 18176-18183. doi: 10.1016/s0021-9258(19)81341-8.
- Wardi, E. S., Fendri, S. T. J., & Tanjung, L. (2019). Biosorpsi senyawa parasetamol yang berpotensi dalam penanganan limbah obat. *Jurnal Katalisator*, 4(1), 53-60. doi: 10.22216/jk.v4i1.3884.
- Xue, M., Liang, H., Zhou, Z., Liu, Y., He, X., Zhang, Z., ... Qin, K. (2021). Effect of fucoidan on ethanol-induced liver injury and steatosis in mice and the underlying mechanism. *Food and Nutrition Research*, 65(3), 1-14. doi: 10.29219/fnr.v65.5384.
- Yuniarto, A., Sukandar, E. Y., Fidrianny, I., & Adnyana, I. K. (2017). Aplikasi zebrafish (*Danio rerio*) pada beberapa model penyakit eksperimental. *MPI (Media Pharmaceutica Indonesiana)*, 1(3), 116-126.
- Zhang, Y., Xia, Q., Wang, J., Zhuang, K., Jin, H., & Liu, K. (2022a). Progress in using zebrafish as a toxicological model for traditional Chinese medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 282, 114638.
- Zhang, N., Xue, M., Sun, T., Yang, J., Pei, Z., & Qin, K. (2022b). Fucoidan as an autophagy regulator: Mechanisms and therapeutic potentials for cancer and other diseases. *Nutrition and Cancer*, 74(5), 1568-1579. doi: 10.1080/01635581.2021.1973045.