



DIET IKAN SELUANG (RASBORA SPP.) UNTUK MENINGKATKAN ENZIM ANTIOKSIDAN SISTEMIK MODEL TIKUS STRES

Didik Dwi Sanyoto^a, Triawanti^b, Sherly Limantara^c, FX. Hendryono^d, Nur Qamariah^e,
Juhairina^f, Nur Lathifa Rahmah^g, Sophia Rinanda^g, Dimas Ikhsan Airlangga^h

^aDivisi Anatomi Departemen Biomedik Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Lambung Mangkurat, ^b Departemen Biokimia dan Biomolekuler Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Lambung Mangkurat, ^cDepartemen Psikiatri Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Lambung Mangkurat, ^dDepartemen Patologi Klinik Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Lambung Mangkurat, ^eDepartemen Farmakologi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Lambung Mangkurat, ^fDepartemen Gizi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Lambung Mangkurat, ^gMahasiswa PS Kedokteran Program Sarjana Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Lambung Mangkurat, ^hPostgraduate Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Email korespondensi: didikdwisanyoto@ulm.ac.id

ABSTRAK

Stres merupakan kombinasi respon fisiologis, neuroendokrin, dan perilaku terhadap ancaman. Sekalipun berguna untuk bertahan hidup, respon stres berlebih dapat mencetuskan stres oksidatif yang berujung pada inflamasi kronis. Low-grade inflammation akibat paparan stres dalam waktu lama mengakibatkan kemunculan penyakit degeneratif. Pemberian nutrisi yang tepat berpotensi menahan laju kerusakan tersebut, salah satunya dengan konsumsi ikan seluang (Rasbora spp.) yang tinggi asam amino dan asam lemak sebagai potensi antioksidan. Tujuan penelitian ini untuk melihat efek diet ikan seluang dalam meningkatkan enzim antioksidan pada serum model tikus (Rattus norvegicus) stres. Metode penelitian ini menggunakan metode chronic immobilization technique untuk membuat model tikus stres. Terdapat tiga kelompok yaitu kontrol negatif (K1), model tikus stres + pakan standar (K2), dan model tikus stres + pakan ikan seluang (K3). Parameter yang diukur yaitu aktivitas enzim superoksida dismutase (SOD), katalase serta kadar peroksida. Data dianalisa dengan uji ANOVA atau Kruskal-Wallis dengan derajat kepercayaan 95%. Hasil penelitian. Aktivitas SOD dan katalase tertinggi ditemukan pada K3 dan berbeda bermakna dibanding kelompok lain. Pada kelompok ini juga ditemukan penurunan kadar peroksida yang berbeda bermakna dibanding kelompok lain.

Kata kunci: Stres, Ikan Seluang, SOD, Katalase, Peroksidase

PENDAHULUAN

Stres merupakan respon sistemik umum yang melingkupi sistem fisiologis, neuroendokrin, perilaku dan emosi dalam menghadapi stimulus baru atau ancaman yang datang dari faktor lingkungan, sosial, atau psikologis. Respon adaptasi ini dalam keadaan normal bertindak sebagai mekanisme pelindung untuk mempertahankan homeostasis tubuh. Paparan stres mengaktifkan aksis



SEMINAR NASIONAL LAHAN BASAH

" Mendukung Pembangunan Berkelanjutan Melalui Penelitian: Meningkatkan Kehidupan Manusia,
Melindungi Lingkungan"
9-10 September 2024
Banjarmasin

hipotalamus-hipofisis-adrenal (HPA) serta saraf simpatik yang mengarah pada produksi glukokortikoid dan katekolamin (Degering et al. 2023; Lupien et al. 2022). Aktivitas pada aksis HPA merangsang sekresi hormon kortikotropin (CRH), yang menyebabkan sintesis dan sekresi hormon adrenokortikotropik (ACTH) dalam kelenjar hipofisis. ACTH selanjutnya merangsang produksi hormon stres utama yaitu kortisol oleh kelenjar adrenal (Degering et al., 2023; Juszyzyk et al. 2021). Sistem saraf simpatik memfasilitasi ekskresi epinefrin dan norepinefrin sebagai pensinyalan fight-or-flight (Blasberg et al. 2022). Stres ringan hingga sedang mampu mengurangi dampak ancaman dan melindungi otak terhadap cedera atau penyakit (Guo et al. 2022). Stres sedang juga bermanfaat dalam meningkatkan performa memori dan meningkatkan neurogenesis di hipokampus. Sebaliknya stres kronis memberikan dampak mengganggu dan menyebabkan perubahan yang merusak di otak (Juszyzyk et al. 2021). Paparan stres kronis menyebabkan hiperaktivitas aksis HPA sehingga terjadi sekresi katekolamin dan kortisol yang berlebihan. Hal ini memunculkan seri inflamasi kronis dan peningkatan radikal bebas yang dapat menimbulkan stres oksidatif.

Stres oksidatif terjadi akibat ketidakseimbangan antara produksi berlebih radikal bebas yang disebut dengan spesies oksigen reaktif (ROS) yang bersifat pro-oksidan dengan senyawa antioksidan (Juszyzyk et al. 2021). Ketika keseimbangan pro-oksidan/antioksidan terganggu akibat dari peningkatan jumlah ROS dan/atau adanya gangguan mekanisme pertahanan antioksidan maka dampaknya yaitu kerusakan protein, asam nukleat, dan lipid seluler (Pizzino et al. 2017; Juszyzyk et al. 2021). Jumlah ROS yang berlebih mengganggu pemeliharaan nukleotida adenin dan piridin. Hal ini mempengaruhi kelangsungan hidup DNA, menyebabkan mutasi, dan memodifikasi ekspresi gen. Oksidasi protein oleh ROS dapat menyebabkan hilangnya gugus sulfhidril dan modifikasi asam amino yang membuat protein tidak berfungsi dan menyebabkan kerusakan peroksidatif pada lipid yang pada akhirnya merusak membran sel (Salim, 2017).

Otak sangat rentan terhadap kerusakan oksidatif karena tingkat aktivitas metabolisme yang tinggi, tingkat produksi metabolit oksigen yang tinggi, tingkat antioksidan yang relatif rendah, kapasitas perbaikan yang rendah, dan komposisi lipid yang tinggi menyebabkan rentan terhadap peroksidasi dan modifikasi oksidatif oleh ROS (Ngo & Dunwald 2022). Hal ini terkait dengan berbagai gangguan otak, termasuk penyakit neurodegeneratif, gangguan psikiatrik, dan kecemasan (Jesulola et al. 2017; Juszyzyk et al. 2021). Beberapa peneliti telah menyarankan hubungan antara stres oksidatif dan gangguan kecemasan tertentu (gangguan obsesif-kompulsif dan gangguan panik), yang menunjukkan bahwa metabolisme oksidatif dapat memengaruhi regulasi kecemasan. Penelitian dengan hewan coba menunjukkan peran stres oksidatif dalam perilaku seperti kecemasan pada tikus (Matinfar et al., 2021; Namgyal et al., 2021). Peningkatan kadar ROS berupa peroksida dan nitric oxide (NO) serta perubahan kadar antioksidan glutathion (GSH) ditemukan pada otak post-mortem



SEMINAR NASIONAL LAHAN BASAH

" Mendukung Pembangunan Berkelanjutan Melalui Penelitian: Meningkatkan Kehidupan Manusia,
Melindungi Lingkungan"
9-10 September 2024
Banjarmasin

pasien Gangguan Depresi Mayor. Akumulasi ROS diketahui dapat meningkatkan kerentanan jaringan otak terhadap kerusakan. ROS juga menginisiasi berbagai kaskade molekuler, yang mengakibatkan peningkatan permeabilitas sawar darah-otak, perubahan morfologi otak, peradangan saraf, dan kematian saraf (Sciavone 2013).

Beberapa enzim antioksidan endogen telah dilaporkan bertanggung jawab untuk menghambat pembentukan ROS dan mengeliminasi radikal bebas. Enzim antioksidan ini termasuk katalase (CAT), superoksida dismutase (SOD), glutathion peroksidase (GPx), dan glutathion reduktase (GSR) (Pizzino et al., 2017; Salim, 2017). Pembentukan enzim tersebut berkaitan dengan jumlah protein dan asam amino yang tersedia dalam tubuh. Konsumsi nutrisi yang kaya dengan asam amino seperti ikan dapat berpotensi menahan laju kerusakan dari stres oksidatif tersebut. Ikan seluang sebagai produk alam Kalimantan Selatan telah diteliti memiliki berbagai jenis asam amino dan asam lemak yang mampu meregulasi produksi antioksidan dan mereduksi stres oksidatif pada malnutrisi (Triawanti et al. 2017). Hal yang sama juga berpotensi dapat diterapkan pada kondisi stres oksidatif akibat paparan stres terhadap model hewan coba. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisa efek diet ikan seluang dalam meningkatkan enzim antioksidan pada serum model tikus (*Rattus norvegicus*) stres.

METODE PENELITIAN

Perizinan Etik Penelitian

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik dari Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Lambung Mangkurat melalui surat No. 347/KEPK-FK ULM/EC/X/2023.

Alat dan Bahan

Tikus putih jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*) berat badan 200-300 gram, pelet ikan seluang, pakan standar, aquadest, silinder PVC 21 cm x 6 cm, spuit, tabung reaksi, H₂O₂ 40 mM, PBS pH 7,4, Na₂CO₃ 0,05 M, EDTA pH 10,2, adrenalin 100 mL, spektrofotometer.

Desain penelitian

Penelitian ini menggunakan desain metode eksperimental post-test only dengan kelompok kontrol selama 28 hari (4 minggu). Hewan coba yang digunakan adalah 30 ekor tikus putih jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*) berusia 3-4 bulan, dengan berat badan 200-300 gram. Setelah proses aklimatisasi, hewan coba dibagi menjadi 3 kelompok yang terdiri dari: K1 yaitu kelompok kontrol tikus tanpa perlakuan + pakan standar; K2 yaitu kelompok perlakuan tikus yang diberi stres + pakan standar; dan K3 yaitu kelompok perlakuan tikus stres + ikan seluang. Parameter yang akan dinilai yaitu aktivitas enzim SOD dan katalase serta kadar peroksida serum.



Metode Penelitian 1 (Induksi Stres Imobilisasi Kronis)

Model stres pada hewan sangat penting untuk penelitian tentang kecemasan dan stres. Model stres imobilisasi kronis (CIS), atau stres pengekangan kronis, menawarkan pendekatan yang lebih sederhana dan lebih efisien dibandingkan dengan metode lainnya. Hasilnya, model CIS banyak digunakan dalam penelitian stres kronis. Selain itu, CIS dapat diterapkan pada tikus jantan dan betina untuk menginduksi perilaku depresi (Son et al. 2019). Kami menggunakan silinder PVC dengan panjang 21 cm dan diameter 6 cm, yang disesuaikan dengan ukuran tikus sebagai alat penginduksi stres. Tikus-tikus tersebut dikurung di dalam silinder ini selama satu jam setiap hari pada pukul 09.00 selama 4 minggu untuk menginduksi stres.

Metode Penelitian 2 (Pembuatan dan Pemberian Pakan Ikan Seluang kepada Tikus)

Ikan seluang segar yang diperoleh dari nelayan dibersihkan lalu dikukus untuk mengurangi kadar air. Ikan digiling menjadi pelet dan dikeringkan dalam oven pada suhu 150°C. Pakan diberikan pada kelompok K3 setiap hari sejak awal induksi stres selama 4 minggu. Jumlah pakan yang diberikan mengikuti kebutuhan tikus per hari, yaitu 40 mg.

Metode Penelitian 3 (Pengambilan Sampel Serum Tikus)

Setelah 4 minggu, tikus dikorbankan untuk diambil sampel serum. Pengambilan sampel serum dilakukan dengan teknik *cardiac puncture* dengan mengekstraksi darah dari jantung tikus yang telah dibius dengan injeksi ketamin. Serum akan diperiksa untuk menilai aktivitas SOD dan katalase serta kadar peroksida.

Metode Penelitian 5 (Pengukuran Aktivitas SOD)

Mencampurkan 3 mL 0,05 M Na₂CO₃ dan 1 M EDTA pH 10,2 diinkubasi pada suhu 30°C, kemudian menambahkan 100 mL serum dan 100 mL adrenalin. Kemudian, serapan diukur pada panjang gelombang 480 nm sebagai Ao. Setelah itu, larutan diinkubasi selama 5 menit pada suhu 30°C dan diukur absorbansinya (A1).

Metode Penelitian 6 (Pengukuran Aktivitas Katalase)

Aktivitas katalase diukur dengan menggunakan metode Aebi. Untuk memulai reaksi, 0,1 mL serum maka ditambahkan ke dalam kuvet yang berisi 1,9 mL buffer fosfat 50 mM pada pH 7,0. Reaksi dimulai segera setelah menambahkan 1,0 mL 30 mM H₂O₂. Absorbansi pertama (A1) direkam setelah 15 detik (t1), dan absorbansi kedua (A2) direkam setelah 30 detik (t2), keduanya pada panjang gelombang 240 nm. Aktivitas katalase dinyatakan sebagai unit per mg protein, dengan satu unit didefinisikan sebagai kecepatan konstan per detik. Hasilnya kemudian diaplikasikan pada rumus berikut:



SEMINAR NASIONAL LAHAN BASAH

" Mendukung Pembangunan Berkelanjutan Melalui Penelitian: Meningkatkan Kehidupan Manusia,
Melindungi Lingkungan"
9-10 September 2024
Banjarmasin

$$K = \frac{\text{Volume total} \times 2.3}{\text{Volume sampel} \times \Delta t} \times \log \frac{A_1}{A_2} \quad (1)$$

$$\text{Unit/mg protein} = \frac{K}{\text{mg protein}} \quad (2)$$

Metode Penelitian 7 (Pengukuran Kadar Peroksida)

Sampel dianalisis menggunakan spektrofotometer untuk mengukur kadar peroksida. Pertama, kurva standar dibuat dengan menyiapkan larutan dengan 20 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$, yang dicampur dengan 2 mL larutan asam asetat dikromat: glasial (1:3). Campuran ini dipanaskan dalam air mendidih selama 10 menit, kemudian didinginkan sebelum mengukur absorbansi pada 570 nm. Prosedur yang sama diulangi untuk 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, dan 180 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$. Sebuah grafik diplot dengan absorbansi pada sumbu Y dan tingkat H_2O_2 pada sumbu X untuk mendapatkan persamaan linier.

Untuk larutan uji, 1 mL serum dicampur dengan 5 mL buffer fosfat pada pH 7,4. Alikuot 1 mL dari campuran ini kemudian ditambahkan ke dalam 2 mL larutan dikromat: asetat (1:3) dan ditutup dengan aluminium foil selama 30 menit. Campuran dipanaskan dalam penangas air pada suhu 100°C selama 10 menit, kemudian didinginkan pada suhu kamar. Larutan dipindahkan ke kuvet dan diukur absorbansinya pada 570 nm menggunakan spektrofotometer UV-VIS.

Analisa Data

Data dianalisis menggunakan uji normalitas Shapiro-Wilk. Jika data terdistribusi normal, uji ANOVA dilakukan, diikuti dengan uji post-hoc Tukey HSD. Untuk data yang tidak terdistribusi normal, uji Kruskal-Wallis dilakukan, diikuti dengan uji Mann-Whitney. Tingkat kepercayaan 95% digunakan untuk semua analisis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas SOD dan Katalase pada Serum Tikus Model Stres

Aktivitas enzim SOD pada serum tikus yang terpapar kondisi stres dapat diamati pada gambar 1. Kelompok K3 yaitu model tikus stres yang diberikan pakan ikan seluang menunjukkan rerata aktivitas SOD yang paling tinggi ($0,024 \pm 0,009$) dibandingkan kelompok K1 ($0,004 \pm 0,001$) dan K2 ($0,014 \pm 0,004$). Uji Kruskal Wallis menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna diantara masing-masing kelompok ($p=0,000$). Uji post-hoc memperlihatkan bahwa perbedaan bermakna ditemukan pada K1 dengan K2 ($p=0,004$) dan K1 dengan K3 ($p=0,000$), sedangkan antara K2 dengan K3 tidak ditemukan perbedaan signifikan ($p=0,607$).

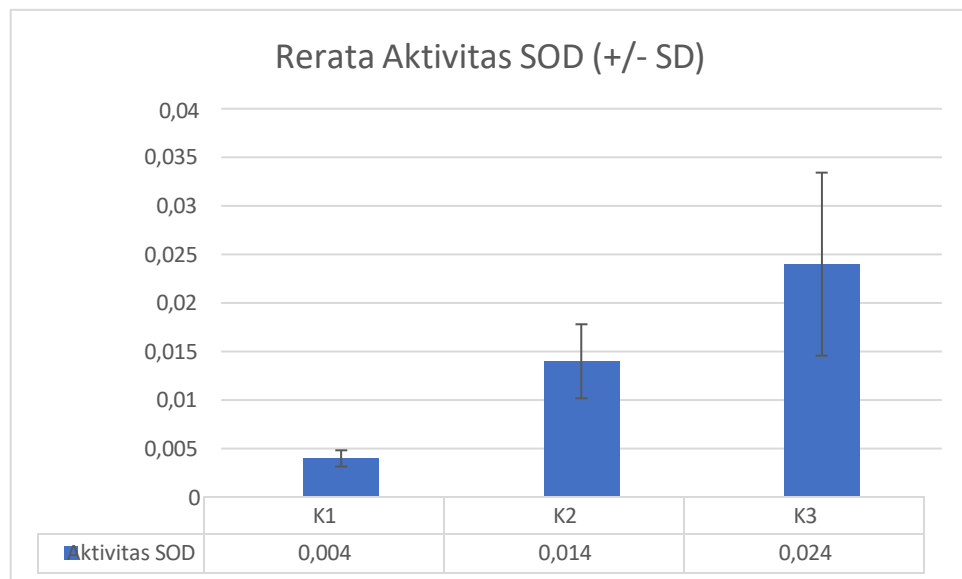


SEMINAR NASIONAL LAHAN BASAH

" Mendukung Pembangunan Berkelanjutan Melalui Penelitian: Meningkatkan Kehidupan Manusia, Melindungi Lingkungan"

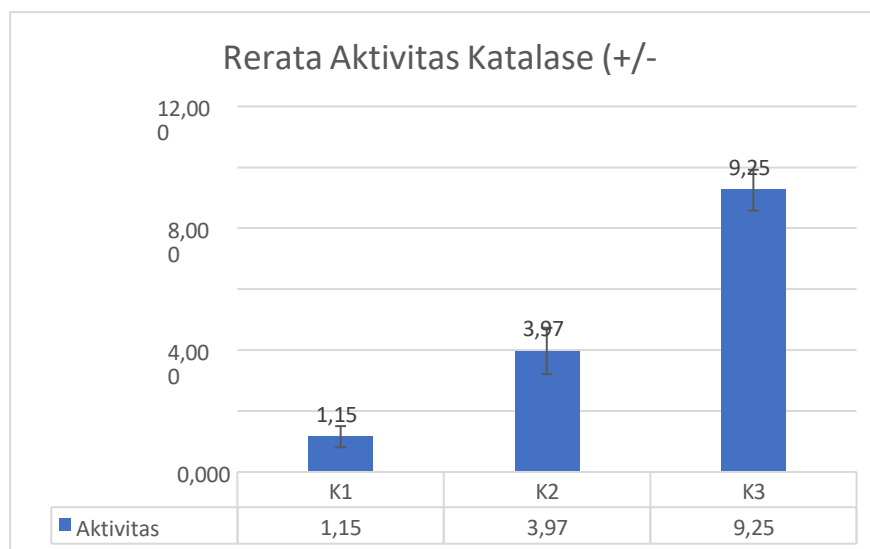
9-10 September 2024

Banjarmasin



Gambar 1 Rerata Aktivitas SOD pada masing-masing serum tikus model stres ($p=0,000$)

Aktivitas enzim katalase pada serum tikus yang terpapar kondisi stres dapat diamati pada gambar 2. Berkesinambungan dengan aktivitas SOD, rerata aktivitas enzim katalase tertinggi juga ditemukan pada kelompok yang diberikan pakan seluang (K3) sebesar $9,251 \pm 0,671$ dibandingkan dengan kontrol negatif ($1,158 \pm 0,348$) dan kelompok pakan standar ($3,974 \pm 0,759$). Uji Kruskal-Wallis memperlihatkan perbedaan yang bermakna diantara kelompok ($p=0,000$). Uji post-hoc menunjukkan bahwa perbedaan bermakna didapatkan pada K1 dengan K2 ($p=0,033$), K1 dengan K3 ($p=0,000$), serta K2 dengan K3 ($p=0,033$).

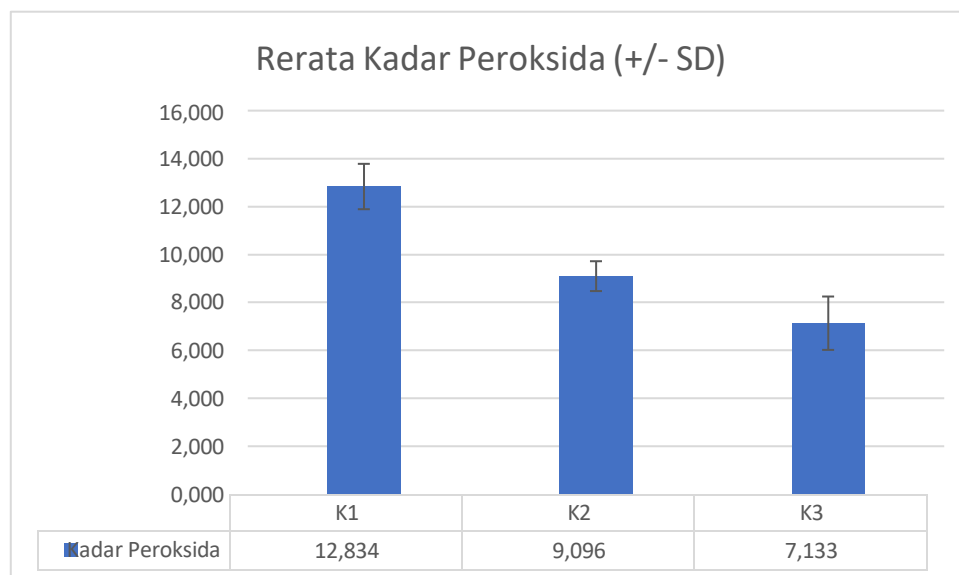




Gambar 2 Rerata Aktivitas katalase pada masing-masing serum tikus model stres ($p=0,000$)

Kadar Peroksida pada Serum Tikus Model Stres

Rerata kadar peroksida masing-masing kelompok ditunjukkan pada gambar 3. Kadar peroksida ditemukan menurun dan berbanding terbalik dengan peningkatan SOD dan katalase pada tiap kelompok. Sehubungan dengan aktivitas SOD dan katalase yang tinggi pada K3 menyebabkan kadar peroksida kelompok ini menjadi yang paling rendah yaitu $7,133 \pm 1,113 \mu\text{M}$ diikuti kelompok K2 ($9,096 \pm 0,623 \mu\text{M}$) dan K1 ($12,834 \pm 0,964 \mu\text{M}$). Uji Kruskal Wallis menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna diantara masing-masing kelompok ($p=0,000$). Uji post-hoc memperlihatkan bahwa perbedaan bermakna teramati pada K1 dengan K2 ($p=0,032$), K1 dengan K3 ($p=0,000$), dan juga antara K2 dengan K3 ($p=0,036$).



Gambar 3 Rerata kadar peroksida pada masing-masing serum tikus model stres ($p=0,000$)

Pembahasan

Stres oksidatif terjadi akibat ketidakseimbangan antara produksi berlebih radikal bebas yang disebut dengan spesies oksigen reaktif (ROS) yang bersifat pro-oksidan dengan senyawa antioksidan (Pizzino et al., 2017). Radikal bebas adalah atom atau sekelompok atom dengan jumlah elektron yang tidak berpasangan sehingga bersifat sangat reaktif dan dapat menyebabkan reaksi berantai yang memicu kerusakan (Poljsak et al., 2013). Dalam kondisi redoks seimbang, ROS bermanfaat untuk fungsi fisiologis normal dan melindungi sel dari infeksi dengan menghancurkan patogen yang menyerang. Senyawa ROS utama yang dibentuk oleh manusia yaitu hidrogen peroksida (H_2O_2), radikal superoksida O_2^- dan hidroksil radikal ($\text{OH}^\cdot$) (Jomova et al., 2023; Kozlov et al., 2024; Pizzino et al., 2017)



SEMINAR NASIONAL LAHAN BASAH

" Mendukung Pembangunan Berkelanjutan Melalui Penelitian: Meningkatkan Kehidupan Manusia,
Melindungi Lingkungan"
9-10 September 2024
Banjarmasin

Ketika keseimbangan pro-oksidan/antioksidan terganggu akibat dari peningkatan jumlah ROS dan/atau gangguan mekanisme pertahanan antioksidan maka dampaknya akan merusak kelangsungan hidup seluler (Kozlov et al., 2024). Jumlah ROS yang berlebih mengganggu pemeliharaan nukleotida adenin dan piridin. Hal ini mempengaruhi kelangsungan hidup DNA, menyebabkan mutasi, dan memodifikasi ekspresi gen (Checa & Aran, 2020). Oksidasi protein oleh ROS dapat menyebabkan hilangnya gugus sulfhidril dan modifikasi asam amino yang membuat protein tidak berfungsi dan menyebabkan kerusakan peroksidatif pada lipid yang pada akhirnya merusak membran sel (Salim, 2017). Hidroksil radikal, sebagai contoh, memiliki waktu paruh yang singkat dan reaktivitas yang tinggi. Senyawa ini dapat merusak berbagai biomolekul penting, termasuk DNA, lipid, dan protein (Jomova et al., 2024).

Stres dari berbagai sumber memicu aktivasi sistem imun dan peningkatan produksi sitokin proinflamasi (Tian et al., 2014; Liu et al., 2017). Respons imun kronis dapat mengganggu sistem neuroendokrin. Pada sistem saraf pusat, reaksi imun melibatkan mikroglia, yang merupakan makrofag. Mikroglia ini melepaskan prostaglandin, kemokin, dan oksida nitrat yang berfungsi sebagai penanda keberadaan patogen dan pencetus inflamasi (Carniglia et al., 2017). Komponen-komponen ini ikut mempengaruhi NF- κ B sehingga menyebabkan berkurangnya monoamin, eksitotoksitas, dan penurunan faktor trofik di otak (Köllicker-Frers et al., 2021). Neuroinflamasi yang tercetus dapat juga disebabkan dari stres oksidatif yang terakumulasi akibat hiperaktivitas sistem stres tersebut (Salim, 2017).

Stres akut jangka pendek membutuhkan transmisi neurotransmisi eksitatori (glutamat) tingkat tinggi untuk memungkinkan reaksi cepat dalam menghadapi atau melepaskan diri dari stresor (Torrisi et al., 2023). Stres eksternal memicu pembentukan ROS, yang memfasilitasi dan meningkatkan pelepasan neurotransmitter eksitatori. Dalam bentuknya yang paling sederhana, ini merupakan respons sehat yang membantu kelangsungan hidup. Namun, dalam kasus stres kronis yang berkepanjangan, dampak neurofisiologis berubah secara signifikan. Pelepasan neurotransmitter eksitatori yang berlebihan menyebabkan respons neurofisiologis yang berlebihan mirip dengan yang terlihat pada pasien psikosis: Penurunan regulasi reseptor NMDA, hilangnya fenotipe neuron penghambat, perubahan perilaku, dan penurunan kognitif (Schiavone 2013; Torrisi et al., 2023). Penelitian menegaskan bahwa stres kronis berkontribusi terhadap perkembangan stres oksidatif di bagian otak yang terlibat dalam perkembangan depresi dan gangguan Alzheimer (Juszyzyk et al. 2021).

Untuk menangkal efek berbahaya dari ROS, suatu organisme telah mengembangkan sistem pertahanan antioksidan tiga lini yang kompleks. Sistem yang paling kuat adalah sistem pertahanan antioksidan lini pertama, yang terdiri dari enzim antioksidan (Jomova et al., 2024). Beberapa enzim



SEMINAR NASIONAL LAHAN BASAH

" Mendukung Pembangunan Berkelanjutan Melalui Penelitian: Meningkatkan Kehidupan Manusia,
Melindungi Lingkungan"
9-10 September 2024
Banjarmasin

antioksidan telah dilaporkan bertanggung jawab untuk menghambat pembentukan ROS atau menghilangkan radikal bebas. Enzim antioksidan ini termasuk katalase (CAT), superoksida dismutase (SOD), glutathion peroksidase (GPx), dan glutathion reduktase (GSR). SOD dianggap sebagai garis pertahanan pertama melawan ROS dan mengkatalisis dismutasi radikal anion superoksida (O_2^-) menjadi H_2O_2 . Senyawa ini kemudian direduksi menjadi air dan oksigen molekuler oleh CAT atau GPx. Selain mendetoksifikasi H_2O_2 , GPx juga dapat mengurangi hidro-peroksida lipid dan non-lipid dengan mengorbankan glutathion tereduksi (GSH), yang kemudian dioksidasi, membentuk glutathion disulfida (GSSG). GSH adalah antioksidan endogen non-enzimatik yang paling penting dan dapat diregenerasi oleh GSR dengan konsumsi nikotinamida adenosin dinukleotida fosfat (NADPH) (Jomova et al., 2023; Kozlov et al., 2024; Pizzino et al., 2017).

Pada penelitian ini ditemukan bahwa kelompok yang diberikan rangsangan stres imobilisasi kronik (K2) memiliki aktivitas SOD dan katalase yang meningkat secara berbeda bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol (Gambar 1 dan 2). Sebaliknya, terjadi penurunan yang signifikan pada kadar peroksida (Gambar 3). Hal ini berbeda dengan penelitian Ramanathan et al. (2022) yang meneliti model tikus induksi stres dengan metode kurang tidur (*sleep deprivation*) ditemukan penurunan kadar GSH di seluruh otak tikus dan penurunan signifikan aktivitas SOD pada hipokampus dan batang otak. Adanya peningkatan kadar antioksidan pada kelompok stres diduga karena beberapa alasan. Pertama, adanya mekanisme kompensasi dari tubuh model hewan tikus untuk mempertahankan homeostasis. Integrasi sistem pertahanan antioksidan secara sensitif mengontrol tingkat ROS dalam batas fisiologis (Jomova et al., 2024). Peningkatan drastis dari antioksidan pada kemungkinan kerusakan oksidatif mengakibatkan konsentrasi peroksida menjadi turun tajam. Kedua, aksis HPA telah dilaporkan menghambat stres oksidatif yang diturunkan dari NADPH, dengan hidrokortison yang terbukti menghambat pembentukan superoksida dan menekan ekspresi subunit p47phox. Demikian pula, glukokortikoid telah ditemukan untuk menghambat produksi superoksida dan ekspresi mRNA dari subunit p22phox dalam sel otot polos aorta manusia. Dalam mikroglia, deksametason menghambat produksi ROS kemungkinan melalui penekanan jalur MAPK yang bergantung pada MKP-1. Pada neuron hipokampus, efek penghambatan dan induktif glukokortikoid terhadap produksi ROS telah dilaporkan (Schiavone 2013).

Pada kelompok yang diberi pakan ikan seluang (K3) terjadi peningkatan aktivitas SOD dan katalase yang signifikan (Gambar 1 dan 2) sehingga menyebabkan penurunan kadar peroksida dibandingkan kelompok tikus model stres (K2). Penelitian oleh Yunanto et al. (2014) menunjukkan bahwa ikan seluang mengandung berbagai jenis asam amino dan juga asam lemak omega-3 yaitu asam docosahexaenoic (DHA). Asam amino menjadi salah satu komponen utama dari enzim yang bertindak sebagai antioksidan (Nishiyama et al., 2017), sehingga pemberian sumber pangan yang



SEMINAR NASIONAL LAHAN BASAH

" Mendukung Pembangunan Berkelanjutan Melalui Penelitian: Meningkatkan Kehidupan Manusia,
Melindungi Lingkungan"
9-10 September 2024
Banjarmasin

tinggi protein dapat meningkatkan pembentukan enzim SOD dan katalase seperti yang terlihat pada kelompok K3. Terlepas dari perannya dalam mekanisme enzimatik, kandungan asam amino dan DHA dalam ikan seluang juga memiliki sifat antioksidan penting. Asam amino berperan dalam memerangi stres oksidatif karena kemampuannya untuk berpartisipasi dalam reaksi non-enzimatik yang menetralkan lipid yang teroksidasi, sehingga menghasilkan senyawa antioksidan (Egbujor et al., 2024). Beberapa asam amino tersebut antara lain triptopan, metionin, histidin, lisin, sistein, arginin dan tirosin diteliti memiliki kemampuan antioksidatif yang tinggi dibandingkan asam amino lain (Xu et al., 2017). Sistein dalam bentuk alamnya yaitu L-sistein memiliki kandungan sulfur dan adanya gugus tiol. Senyawa ini berfungsi sebagai prekursor glutathione, antioksidan penting yang terdiri dari sistein, glisin, dan glutamat (Ulrich & Jakob, 2019). Kelompok tiol dalam sistein menyumbangkan proton, yang penting untuk aktivitas biologis glutathione. Sebagai antioksidan utama, glutathione sangat penting untuk melindungi sel dari kerusakan oksidatif dengan menetralkan peroksida (Di Giacomo et al., 2023). Hal ini terlihat dari penurunan kadar peroksida pada kelompok K3.

Asam docosahexaenoic (DHA), asam lemak tak jenuh ganda (PUFA), sebagian besar ditemukan di membran sel neuron, di mana ia memainkan peran penting dalam menjaga kesehatan sel (Sun et al., 2018). DHA bertindak sebagai antioksidan dengan memodulasi ekspresi gen untuk meningkatkan produksi protein sitoprotektif, seperti heme oxygenase 1 (HO-1) dan glutathione peroxidase (GPx) (Díaz et al., 2021; Casañas-Sánchez et al., 2015). Penelitian telah menunjukkan bahwa suplementasi DHA dapat secara signifikan mengurangi stres oksidatif dari makrofag pada pasien dengan aneurisma aorta perut (Meital et al., 2019). Selain itu, DHA telah ditemukan untuk meningkatkan aktivitas GPx dalam makrofag, yang selanjutnya memperkuat pertahanan antioksidan tubuh (Díaz et al., 2021; Casañas-Sánchez et al., 2015).

Penelitian lain telah menunjukkan bahwa DHA memberikan perlindungan yang signifikan terhadap kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh H_2O_2 (Clementi et al., 2019). Suplementasi DHA dapat menurunkan kadar ROS intraseluler, meningkatkan aktivitas antioksidan enzimatik seperti SOD dan GPx, serta meningkatkan kadar glutathione tereduksi dan asam askorbat intraseluler. Efek perlindungan DHA dikaitkan dengan kemampuannya untuk meningkatkan ekspresi NFE2L2 dan targetnya yaitu HO-1, yang terlibat dalam respons antioksidan dan jalur anti-apoptosis (Clementi et al., 2019). Diet tinggi DHA juga diteliti mampu meningkatkan ekspresi katalase dan GPx mRNA di berbagai jaringan, termasuk otot, hati, dan otak (Hashimoto et al., 2017).



KESIMPULAN

Pemberian nutrisi berupa ikan seluang berperan penting dalam mengurangi stres oksidatif pada model hewan coba yang diinduksi stres. Pengurangan stres oksidatif ini penting untuk membantu melindungi sel-sel saraf dari kerusakan, menjaga fungsi kognitif, dan mengurangi risiko kondisi neurodegeneratif. Temuan ini menunjukkan bahwa ikan seluang dapat menjadi komponen yang efektif dalam terapi nutrisi yang bertujuan untuk mengurangi penyakit yang berhubungan dengan stres.

DAFTAR PUSTAKA

- Blasberg, J. U., Kanske, P., Böckler, A., Trautwein, F. M., Singer, T., & Engert, V. (2022). Associations of social processing abilities with psychosocial stress sensitivity. *Comprehensive psychoneuroendocrinology*, 12, 100159. <https://doi.org/10.1016/j.cpnec.2022.100159>
- Carniglia, L., Ramírez, D., Durand, D., Saba, J., Turati, J., Caruso, C., Scimonelli, T. N., & Lasaga, M. (2017). Neuropeptides and Microglial Activation in Inflammation, Pain, and Neurodegenerative Diseases. *Mediators of inflammation*, 2017, 5048616. <https://doi.org/10.1155/2017/5048616>
- Casañas-Sánchez, V., Pérez, J.A., Fabelo, N., Quinto-Aleman, D. and Díaz, M.L., 2015. Docosahexaenoic (DHA) modulates phospholipid-hydroperoxide glutathione peroxidase (Gpx4) gene expression to ensure self-protection from oxidative damage in hippocampal cells. *Frontiers in physiology*, 6, p.203.
- Checa, J., & Aran, J. M. 2020. Reactive Oxygen Species: Drivers of Physiological and Pathological Processes. *Journal of inflammation research*, 13, 1057–1073. <https://doi.org/10.2147/JIR.S275595>
- Clementi, M. E., Lazzarino, G., Sampaiole, B., Brancato, A., & Tringali, G. (2019). DHA protects PC12 cells against oxidative stress and apoptotic signals through the activation of the NFE2L2/HO-1 axis. *International journal of molecular medicine*, 43(6), 2523–2531. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2019.4170>
- Degering, M., Linz, R., Puhlmann, L. M. C., Singer, T., & Engert, V. (2023). Revisiting the stress recovery hypothesis: Differential associations of cortisol stress reactivity and recovery after acute psychosocial stress with markers of long-term stress and health. *Brain, behavior, & immunity - health*, 28, 100598. <https://doi.org/10.1016/j.bbih.2023.100598>
- Di Giacomo, C., Malfa, G.A., Tomasello, B., Bianchi, S. and Acquaviva, R., 2023. Natural compounds and glutathione: Beyond mere antioxidants. *Antioxidants*, 12(7), p.1445.
- Díaz, M., Mesa-Herrera, F. and Marín, R., 2021. DHA and its elaborated modulation of antioxidant defenses of the brain: Implications in aging and AD neurodegeneration. *Antioxidants*, 10(6), p.907.
- Egbujor, M. C., Olaniyan, O. T., Emeruwa, C. N., Saha, S., Saso, L., & Tucci, P. (2024). An insight into role of amino acids as antioxidants via NRF2 activation. *Amino acids*, 56(1), 23. <https://doi.org/10.1007/s00726-024-03384-8>



SEMINAR NASIONAL LAHAN BASAH

" Mendukung Pembangunan Berkelanjutan Melalui Penelitian: Meningkatkan Kehidupan Manusia,
Melindungi Lingkungan"
9-10 September 2024
Banjarmasin

- Guo, H., Zheng, L., Xu, H., Pang, Q., Ren, Z., Gao, Y. and Wang, T., 2022. Neurobiological links between stress, brain injury, and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022(1), p.8111022.
- Hashimoto, M., Hossain, S., Al Mamun, A., Matsuzaki, K. and Arai, H., 2017. Docosahexaenoic acid: one molecule diverse functions. *Critical reviews in biotechnology*, 37(5), pp.579-597.
- Jomova, K., Raptova, R., Alomar, S.Y., Alwasel, S.H., Nepovimova, E., Kuca, K. and Valko, M., 2023. Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: Chronic diseases and aging. *Archives of toxicology*, 97(10), pp.2499-2574.
- Juszczyk, G., Mikulska, J., Kasperek, K., Pietrzak, D., Mrozek, W. and Herbet, M., 2021. Chronic stress and oxidative stress as common factors of the pathogenesis of depression and Alzheimer's disease: The role of antioxidants in prevention and treatment. *Antioxidants*, 10(9), p.1439.
- Kölliker-Frers, R., Udovin, L., Otero-Losada, M., Kobiec, T., Herrera, M. I., Palacios, J., Razzitte, G., & Capani, F. (2021). Neuroinflammation: An Integrating Overview of Reactive-Neuroimmune Cell Interactions in Health and Disease. *Mediators of inflammation*, 2021, 9999146. <https://doi.org/10.1155/2021/9999146>
- Kozlov, A.V., Javadov, S. and Sommer, N., 2024. Cellular ROS and Antioxidants: Physiological and Pathological Role. *Antioxidants*, 13(5), p.602.
- Liu, Y. Z., Wang, Y. X., & Jiang, C. L. 2017. Inflammation: The Common Pathway of Stress-Related Diseases. *Frontiers in human neuroscience*, 11, 316. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2017.00316>
- Lupien, S. J., Leclaire, S., Majeur, D., Raymond, C., Jean Baptiste, F., & Giguère, C. E. (2022). 'Doctor, I am so stressed out!' A descriptive study of biological, psychological, and socioemotional markers of stress in individuals who self-identify as being 'very stressed out' or 'zen'. *Neurobiology of stress*, 18, 100454. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2022.100454>
- Matinfar, P., Peeri, M. and Azarbayjani, M.A., 2021. Swimming exercise attenuates anxiety-like behavior by reducing brain oxidative stress in type 2 diabetic mice. *Physiology & Behavior*, 237, p.113449.
- Meital, L. T., Windsor, M. T., Perissiou, M., Schulze, K., Magee, R., Kuballa, A., Golledge, J., Bailey, T. G., Askew, C. D., & Russell, F. D. (2019). Omega-3 fatty acids decrease oxidative stress and inflammation in macrophages from patients with small abdominal aortic aneurysm. *Scientific reports*, 9(1), 12978. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-49362-z>
- Namgyal, D., Ali, S., Hussain, M.D., Kazi, M., Ahmad, A. and Sarwat, M., 2021. Curcumin ameliorates the Cd-induced anxiety-like behavior in mice by regulating oxidative stress and neuro-inflammatory proteins in the prefrontal cortex region of the brain. *Antioxidants*, 10(11), p.1710.
- Ngo, V., & Duennwald, M. L. (2022). Nrf2 and Oxidative Stress: A General Overview of Mechanisms and Implications in Human Disease. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 11(12), 2345. <https://doi.org/10.3390/antiox11122345>
- Nishiyama, Y., Fukamizo, T., Yoneda, K., & Araki, T. (2017). Complete Amino Acid Sequence of a Copper/Zinc-Superoxide Dismutase from Ginger Rhizome. *The protein journal*, 36(2), 98–107. <https://doi.org/10.1007/s10930-017-9700-7>
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla,



SEMINAR NASIONAL LAHAN BASAH

" Mendukung Pembangunan Berkelanjutan Melalui Penelitian: Meningkatkan Kehidupan Manusia,
Melindungi Lingkungan"
9-10 September 2024
Banjarmasin

- D. and Bitto, A., 2017. Oxidative stress: harms and benefits for human health. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2017(1), p.8416763.
- Poljsak, B., Šuput, D. and Milisav, I., 2013. Achieving the balance between ROS and antioxidants: when to use the synthetic antioxidants. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2013(1), p.956792.
- Salim S. (2017). Oxidative Stress and the Central Nervous System. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 360(1), 201–205. <https://doi.org/10.1124/jpet.116.237503>
- Schiavone, S., Jaquet, V., Trabace, L., & Krause, K. H. (2013). Severe life stress and oxidative stress in the brain: from animal models to human pathology. *Antioxidants & redox signaling*, 18(12), 1475–1490. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.4720>
- Son, H., Yang, J. H., Kim, H. J., & Lee, D. K. (2019). A Chronic Immobilization Stress Protocol for Inducing Depression-Like Behavior in Mice. *Journal of visualized experiments : JoVE*, (147), 10.3791/59546. <https://doi.org/10.3791/59546>
- Sun, G. Y., Simonyi, A., Fritsche, K. L., Chuang, D. Y., Hannink, M., Gu, Z., Greenlief, C. M., Yao, J. K., Lee, J. C., & Beversdorf, D. Q. (2018). Docosahexaenoic acid (DHA): An essential nutrient and a nutraceutical for brain health and diseases. *Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids*, 136, 3–13. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2017.03.006>
- Tian, R., Hou, G., Li, D., & Yuan, T. F. 2014. A possible change process of inflammatory cytokines in the prolonged chronic stress and its ultimate implications for health. *TheScientificWorldJournal*, 2014, 780616. <https://doi.org/10.1155/2014/780616>
- Torrisi, S.A., Rizzo, S., Laudani, S., Ieraci, A., Drago, F. and Leggio, G.M., 2023. Acute stress alters recognition memory and AMPA/NMDA receptor subunits in a sex-dependent manner. *Neurobiology of Stress*, 25, p.100545.
- Triawanti, T. & Sanyoto, D. & Nur'amin, H. (2017). Reduction of Oxidative Stress by Seluang Fish (*Rasbora* spp.) in Brain of Malnourished Rats (*Rattus norvegicus*). *ETP International Journal of Food Engineering*. 10.18178/ijfe.3.2.107-111.
- Ulrich, K., & Jakob, U. (2019). The role of thiols in antioxidant systems. *Free radical biology & medicine*, 140, 14–27. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.05.035>
- Yunanto A., Sanyoto DD., Triawanti., Syahadatina M., Oktaviyanti IK. 2014. Benefit of seluang fish (*Rasbora* spp.)'s South Kalimantan to the improvement of spatial memory quality. *The 3rd International Symposium on Wetlands Enviromental Management*, Banjarmasin 8–9 November 2014. Indonesia.