

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Hewan Coba Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Hipotiroidisme Induksi Tiroglobulin anjing (caTg)

Hewan coba merupakan hewan yang dipelihara untuk digunakan sebagai hewan model dengan tujuan mempelajari dan mengembangkan berbagai macam bidang ilmu dalam skala penelitian dan pengamatan penelitian. Berbagai jenis hewan yang umum digunakan sebagai hewan percobaan antara lain adalah mencit, tikus, marmut, kelinci, hamster, unggas, kambing, domba, sapi, kerbau, kuda, dan simpanse. Dari berbagai macam jenis hewan coba yang ada, tikus putih (*Rattus norvegicus*) menjadi pilihan utama sebagai hewan percobaan yang paling sering digunakan (Nials dan Uddin, 2008). Tikus putih (*Rattus norvegicus*) memiliki berat 100-300 g, panjang tubuh sekitar 400 mm, panjang ekor 205 mm, rambut tubuh berwarna putih dan mata yang merah. Adapun klasifikasi dari tikus putih antara lain (Myers dan Armitage, 2004):

- Kingdom : Animalia
- Phylum : Chordata
- Class : Mammalia
- Ordo : Rodentia
- Family : Muridae
- Genus : *Rattus*
- Spesies : *Rattus norvegicus*
- Galur : Wistar

Terdapat beberapa keunggulan menggunakan tikus putih antara lain yaitu penanganan dan pemeliharaan yang lebih mudah karena tubuhnya kecil serta memiliki kemampuan reproduksi yang tinggi dengan masa kebuntingan yang singkat (Malole dan Pramono, 1989).

Dalam penelitian ini pembuatan hewan model dilakukan dengan teknik *induced model* dengan menginduksi tiroglobulin (TG) anjing. Tiroglobulin lebih banyak dipilih sebagai induser karena merupakan glikoprotein spesifik yang dapat menginduksi timbulnya hipotiroidisme secara signifikan dan paling banyak terdapat dalam sel tiroid yaitu 75% (Ng *et al.*, 2004). Selain metode *induced model*, terdapat juga *transplantation model* dan *Spontaneous model*. *Transplantation model* dengan melakukan penempelan jaringan tiroid donor ke hewan model yang dapat memicu timbulnya *autoimmune thyroiditis* (Prummes *et al.*, 2004). *Spontaneous model*, *autoimmune thyroiditis* yang timbul karena adanya faktor lingkungan sebagai contoh induksi iodin yang berlebih (Masjhur, 2012).

2.2 Hipotiroidisme

Hipotiroidisme merupakan keadaan yang ditandai dengan terjadinya hipofungsi tiroid yang berjalan lambat dan diikuti oleh gejala-gejala kegagalan fungsi tiroid (Smeltzer, 2002). Penyebab hipotiroidisme paling sering ditemukan pada orang dewasa adalah tiroiditis autoimun (*Hashimoto disease*) yaitu dimana sistem imun menyerang kelenjar tiroid. Pengobatan terhadap hipotiroidisme baik iodium radioaktif maupun pembedahan juga dapat menjadi penyebab terjadinya hipotiroidisme.

Kekurangan iodium jangka panjang dalam makanan, dapat menyebabkan hiperplasia kelenjar tiroid yang kurang aktif (Smeltzer, 2002).

2.3 Patofisiologis Hipotiroidisme

Patofisiologis dari penyakit hipotiroidisme (*Hashimoto disease*) belum diketahui secara mendalam, namun dalam beberapa penelitian membuktikan adanya korelasi kejadian penyakit ini dengan faktor genetik, pola makan, jenis kelamin, faktor usia dan faktor lingkungan (Tomer dan Huber, 2009; Brooks, 2010). Kondisi ini dapat menyebabkan terjadinya kerusakan folikel di dalam sel tiroid yang ditandai dengan perubahan volume kelenjar tiroid (Lavanasi *et al.*, 2009). Pada kondisi hipotiroidisme, juga dapat menyebabkan terjadinya peningkatan *thyroid stimulating hormone* (TSH), antibodi terhadap tiroid peroksidase (TPOAB) dan antibodi terhadap tiroglobulin (TGAB) serta penurunan kadar hormon *thyroxine* (T4) (Chistiakov, 2005).

Menurut Siegmund *et al.*, (2004), kejadian hipotiroid dapat terjadi karena adanya faktor lingkungan maupun genetik yang menghasilkan autoantigen dan dipresentasikan oleh *antigen presenting cell* (APC) melalui MHC-II yang diikuti dengan pengenalan ke sel T CD₄⁺. Ekspresi MHC-II berperan dalam proses inflamasi sel mononuklear pada jaringan tiroid. Keadaan ini selanjutnya membuat sel T CD₄⁺ melakukan diferensiasi menjadi *T-helper* 1 (Th₁) dan sel *T-helper* 2 (Th₂). Pada keadaan hipotiroidisme Th₁ lebih dominan dimana Th₁ akan memproduksi mediator proliferasi sel T berupa sitokin *interferon gamma* (IFN- γ). Sitokin IFN- γ memiliki fungsi mengaktivasi makrofag, secara langsung makrofag akan

memproduksi sitokin proinflamasi (IL-1, IL-2, IL-8, TNF- α) yang ditandai dengan infiltrasi sel mononuklear. Infiltrasi sel mononuklear merupakan gejala awal terjadinya inflamasi pada suatu jaringan sehingga menyebabkan inflamasi dan kerusakan jaringan tiroid (Yoon *et al.*, 2009; Baratawidjaja *et al.*, 2010).

Dalam penelitian ini dengan melakukan analisa profil protein sehingga dapat membantu dalam deteksi awal dalam melakukan diagnosa terhadap suatu penyakit. Saat terjadi inflamasi pada jaringan tertentu, beberapa protein serum akan diproduksi sebagai respon dari inflamasi tersebut. Protein-protein tersebut antara lain *C-reactive protein* (CRP) (115 kDa), haptoglobin (40 kDa) dan ferritin (330 kDa). Produksi protein ini diinduksi oleh sitokin pro-inflamasi seperti IL-1, IL-6 dan TNF- α , sehingga dengan adanya keberadaan protein tersebut dapat dijadikan sebagai suatu penanda adanya kelainan pada penyakit autoimun (Hipotiroidisme), infeksi, tumor serta penyakit lainnya (Zaias *et al.*, 2009). Selain itu, dalam keadaan hipotiroidisme aktivitas antibodi terhadap TPO akan meningkat, sehingga dapat menyebabkan kerusakan terhadap folikel dalam kelenjar tiroid dan menurunkan asimilasi hormon tiroid ke dalam sel serta menghambat aktivitas dari TPO. Di dalam kelenjar tiroid, tiroid peroksidase memiliki peranan sebagai katalisator oksidasi iodida pada residu tirosin dalam tiroglobulin untuk sintesis T₃ dan T₄. Menurut Guo (2001), peningkatan antibodi terhadap tiroid peroksidase (TPO) sering dikaitkan dengan kondisi hipotiroid dapat disebut *Hashimoto Thyroiditis*.

2.4 Ikan teri (*Stolephorus sp*)

Ikan dari genus *Stolephorus* ini dikenal di Jawa dengan nama Ikan teri. Pada umumnya, ikan teri hidup dalam koloni, terutama jenis – jenis yang berukuran kecil, yang terdiri dari ratusan sampai ribuan ekor (Hutomo *et al.*,1987). Ikan teri banyak ditangkap karena mempunyai arti penting sebagai bahan makanan yang dapat dimanfaatkan baik sebagai ikan segar maupun ikan kering .

Ikan teri menurut Saanin (1984) adalah :

Filum : Chordota
Sub-filum : Vertebrata
Kelas : Pisces
Sub-kelas : Teleostei
Ordo : Malacopterygii
Famili : Clopeidae
Sub-famili : Engraulidae
Genus : *Stolephorus*
Spesies : *Stolephorus sp*

Ikan merupakan salah satu sumber makanan yang sangat penting, namun sangat mudah rusak sehingga perlu cara tepat untuk dapat mempertahankan keawetan tanpa menghilangkan kandungan ataupun rasa, salah satu pengawetan ikan yaitu dengan cara penggaraman. Salah satu produk hasil pengawetan dengan cara penambahan garam atau penggaraman dan pengeringan yaitu ikan teri asin (Hus, 2004). Selama proses penggaraman berlangsung, terjadi proses penetrasi garam ke dalam tubuh ikan karena adanya perbedaan konsentrasi. Garam memiliki sifat

bakterisidal (membunuh) dan bakteriostatik (memperlambat) pertumbuhan bakteri. Pertumbuhan dari kebanyakan bakteri pembusuk yang berbentuk batang dapat dihentikan dengan kadar garam 10%, bakteri *coliform* oleh kadar garam 15%, dan kadar garam lebih dari 15% digunakan untuk mencegah ikan dari kebusukan (Zaitsev *et al.*, 1969). Ikan teri (*Stolephorus sp*) memiliki nutrisi yang juga dibutuhkan oleh tubuh antara lain protein, lemak, kalsium dan Vitamin (Tabel 2.1).

Tabel 2.1 Komposisi Ikan Teri (*Stolephorus sp*) per 100 g bahan (Sumber Direktorat Gizi, 1990).

Kandungan Gizi	Jenis Olahan		
	Segar	Kering Tawar	Kering Asin
Energi (Kkal)	77	331	193
Protein (g)	16	68,7	42
Lemak (g)	1	4,2	1,5
Kalsium (mg)	500	2381	2000
Fosfor (mg)	500	1500	300
Besi (mg)	1	23,4	2,5
Vitamin A (RE)	47	62	-
Vitamin B (RE)	0,05	0,1	0,01
Air (%)	80	16,7	40

2.5 Pengawetan dengan Penggaraman

Proses pengawetan ikan dengan penggaraman sebenarnya terdiri atas dua proses, yaitu proses penggaraman dan proses pengeringan. Hasil akhir dari proses penggaraman adalah ikan asin. Meskipun memiliki nilai gizi yang tinggi, ikan asin sering dianggap sebagai makanan masyarakat golongan rendah (Sedjati, 2006).

Secara garis besar selama proses penggaraman terjadi penetrasi garam ke dalam tubuh ikan dan keluarnya cairan dari tubuh ikan karena adanya perbedaan konsentrasi. Cairan ini dengan cepat akan melarutkan kristal garam atau mengencerkan larutan garam. Bersamaan dengan keluarnya cairan dari dalam tubuh ikan, partikel garam memasuki tubuh ikan. Semakin lama kecepatan proses pertukaran garam dan cairan tersebut semakin lambat dengan menurunnya konsentrasi garam diluar tubuh ikan dan meningkatnya konsentrasi garam di dalam tubuh ikan. Ketika telah terjadi keseimbangan antara konsentrasi garam di luar dan di dalam tubuh ikan, maka pertukaran garam dan cairan tersebut akan terhenti sama sekali. Pada saat itulah terjadi pengentalan cairan tubuh yang masih tersisa dan penggumpalan protein (denaturasi) serta pengerutan sel-sel tubuh ikan sehingga sifat dagingnya berubah. Persyaratan ikan teri (*Stolephorus sp*) asin menurut standart mutu ikan teri (*Stolephorus sp*) asin kering (Tabel 2.2)

Tabel 2.2 Standar Mutu Ikan Teri (*Stolephorus sp*) Asin Kering (SNI, 1992)

Jenis Analisa	Persyaratan Mutu
Organoleptik	
- Nilai minimum	7,0
- Kapang	Negatif
Mikrobiologi	
- Jumlah bakteri (TPC) koloni/g	1×10^5 koloni/g
- <i>Escherichia coli</i> (APM/g)	3 g

- <i>Salmonella</i>	Negatif
- <i>Staphylococcus aureus</i>	Negatif
- <i>Vibrio cholera</i>	Negatif
Kimia	
- Air (%)	40%
- Garam (%)	15%
- Abu tak larut dalam asam (%)	0,3%

Garam dapur (NaCl) merupakan yang paling umum dan paling banyak digunakan untuk mengawetkan hasil perikanan daripada jenis-jenis bahan pengawet dan bahan tambahan lainnya. Menurut Moeljanto (1993), garam dapur diketahui merupakan bahan pengawet paling tua yang digunakan sepanjang sejarah. Garam dapur mempunyai daya pengawet yang tinggi karena beberapa hal, antara lain :

1. Garam dapur dapat menyebabkan berkurangnya jumlah air dalam daging ikan sehingga kadar air dan aktifitasnya airnya menjadi rendah.
2. Garam dapur dapat menyebabkan protein daging dan protein mikroba terdenaturasi.
3. Garam dapur dapat menyebabkan sel-sel mikroba menjadi lisis karena perubahan tekanan osmosa.
4. Ion klorida yang ada pada garam dapur mempunyai daya toksisitas yang tinggi pada mikroba, sehingga dapat memblokir sistem pernapasannya.

Pada pengolahan ikan asin dan pемandangan atau pemedaan, pemakaian garam dapur menjadi sangat penting. Kadar garam yang

digunakan berkisar antara 10 – 40% tergantung metode yang digunakan. Pada penggaraman basah, yaitu dengan menggunakan larutan, cukup dengan menggunakan kadar garam 10-15% sedangkan pada penggaraman kering digunakan jumlah garam yang lebih banyak (Sedjati, 2006).

2.6 Potensi Ikan Teri (*Stolephorus sp*) sebagai Terapi Hipotiroidisme

Kandungan iodium di dalam ikan teri (*Stolephorus sp*) asin diharapkan dapat membantu menyuplai kebutuhan iodium pada penderita hipotiroidisme. Pada penderita hipotiroidisme, tiroid mengalami kekurangan asupan iodium sehingga terjadi penurunan pada proses pembentukan hormon T3 dan T4, stimulasi TRH dan TSH meningkat, serta umpan balik negatif pada hypothalamus dan hipofisa anterior menurun. Ikan teri (*Stolephorus sp*) memiliki beberapa kandungan yang tidak dimiliki oleh ikan yang lain yaitu PUFA (*polyunsaturated fatty acid*), protein, vitamin A, vitamin D, iodium, taurine, karotenoid dan mineral (kalsium dan selenium (Susanto, 2012). Kandungan PUFA dalam ikan teri (*Stolephorus sp*) asin berperan dalam menghambat fungsi dari APC dan menghambat produksi sitokin proinflamasi yang berlebihan dalam proses inflamasi yang berdampak langsung pada sistem kekebalan tubuh dan efek anti inflamasi khususnya pada penyakit autoimun (Pigott dan Tucker, 1987; Horrocks dan Yeo, 1999; Simopoulos, 2002; Shapiro, 2003). Berikut merupakan kandungan PUFA lebih tinggi dari ikan yang lain (Tabel 2.1)

Tabel 2.3 Presentase jumlah PUFA pada ikan (g/100g) (Shahidi, 2009)

≤ 0.5	0.6-1.0	≥ 1.0
Cod Atlantik	Makerel Atlantik	Ikan Teri
Atlantic Pollock	Channel Catfish	Herring Atlantik

Ikan Manyung	Indian Makerel	Salmon Atlantik
Haddock	Kakap Merah	Tuna Sirip Biru
Oil Sardine	SilverHake	Makerel Pasifik
Cod Pacific	Spiny Dogfish	Herring Pasifik
Halibut Pacific	Ikan Cucut Pedang	Pink Salmon
Rockfish	Torbot	Rainbow Trout
Ikan Cakalang	Tuna Trout	
Sole		
Yellow Perch		

Saat berada dalam kondisi hipotirodisme, kelenjar tiroid mengalami abnormalitas sehingga akan mempengaruhi sintesa atau produksi hormon tiroid yang tidak cukup untuk memenuhi kebutuhan tubuh. Iodium merupakan bahan yang digunakan tiroid untuk sintesa hormon tiroid (Tang *et al.*, 2006). Kehadiran iodium menjadi sangat penting bagi penderita hipotiroidisme yang berfungsi untuk mengembalikan kebutuhan hormon tiroid (T3 dan T4) di dalam tubuh.

2.7 Metabolisme iodin

Iodin memasuki tubuh melalui makanan atau air dalam bentuk ion iodat, dalam lambung ion iodat diubah menjadi iodida.. Kelenjar tiroid memekatkan dan menjebak iodida dan mensintesa serta menyimpan hormon tiroid dalam tiroglobulin, yang mengkompensasi kelangkaan dari iodin. Anjuran asupan iodium adalah 150 µg/ hari, jika asupan di bawah dari 50 µg/ hari maka kelenjar tiroid tidak akan mampu untuk mempertahankan sekresi hormon yang adekuat yang dapat menimbulkan hipotiroidisme/ hipertrofi tiroid (*goiter/ gondok*) (Sedjati, 2006).

Sumber – sumber dari iodin makanan termasuk garam beriodin, preparat vitamin dan obat yang mengandung iodin. Iodin diabsorpsi dengan cepat dari saluran gastrointestinal dan didistribusikan dalam cairan ekstraseluler demikian juga dalam sekresi kelenjar liur, lambung dan ASI. Dalam kelenjar tiroid, terdapat transpor aktif dari iodin melintasi membrana basalis sel tiroid. Tiroid mengambil alih sekitar 115 μg iodin per 24 jam, sekitar 75 μg iodin digunakan untuk sintesis hormon dan disimpan di dalam tiroglobulin, sisanya dikembalikan ke dalam cairan eskraseluler (Sedjati, 2006).

2.8 Elektroforesis

Elektroforesis merupakan sebuah metode untuk separasi atau pemisahan sebuah molekul besar (seperti protein, DNA, fragmen DNA, RNA, dll) dari campuran molekul yang serupa. Pada dasarnya elektroforesis digunakan untuk memisahkan komponen atau molekul berdasarkan perbedaan tingkat migrasinya dalam sebuah medan listrik. Sebuah arus listrik dilewatkan melalui medium yang mengandung sampel yang akan dipisahkan. Teknik dapat digunakan dengan memanfaatkan muatan listrik yang ada pada makromolekul, misalnya DNA yang bermuatan negatif. Jika molekul yang bermuatan negatif dilewatkan melalui suatu medium (gel agarosa), maka molekul tersebut akan bergerak dari muatan negatif menuju

muatan positif. Kecepatan gerak molekul tersebut tergantung pada rasio muatan terhadap massanya dan bentuk molekulnya (Yuwono, 2008).

