

TOKSISITAS SUBKRONIK GELATIN KULIT IKAN PATIN SIAM (*Pangasius hypophthalmus*) TERHADAP MENCIT (*Mus musculus*)

Novalia Rachmawati¹⁾, Radestyia Triwibowo¹⁾, dan Ajeng Kurniasari Putri¹⁾

ABSTRAK

Gelatin kulit ikan patin Siam (*Pangasius hypophthalmus*) telah dihasilkan oleh Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan. Untuk mengetahui tingkat keamanan produk, telah dilakukan uji toksisitas subkronik dari gelatin kulit ikan patin Siam secara *in vivo* terhadap hewan uji mencit (*Mus musculus*). Sebanyak 72 mencit jantan dengan berat 20–30 g dibagi dalam 4 kelompok dan diberi perlakuan pakan gelatin secara oral dengan menggunakan sonde. Dosis yang diberikan adalah 0 (kontrol negatif); 1,5; 3; dan 6% atau setara dengan 0, 12, 24, dan 48 mg/g bb mencit. Pemberian bahan uji dilakukan setiap hari selama 4 minggu yang dilanjutkan dengan masa pemulihan (*recovery*) selama 2 minggu. Pengamatan dilakukan terhadap kondisi serum darah, yaitu *Glutamic Oxaloacetic Transaminase* (GOT), *Glutamic Pyruvic Transaminase* (GPT), kreatinin, albumin, dan *Blood Urea Nitrogen* (BUN) serta tingkat kerusakan organ target (hati, ginjal, dan lambung). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian gelatin pada dosis 48 mg/g bb mencit berpengaruh pada kadar GOT setelah minggu ke-2 perlakuan. Selain itu tidak terdapat pengaruh pemberian gelatin terhadap kerusakan organ target dari kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif.

ABSTRACT: *Subchronic toxicity of catfish (*Pangasius hypophthalmus*) skin gelatin on mice (*Mus musculus*). By: Novalia Rachmawati, Radestyia Triwibowo and Ajeng Kurniasari Putri*

*Gelatin from catfish (*Pangasius hypophthalmus*) skin had been produced by Research Center for Marine and Fisheries Product Processing and Biotechnology. To determine the safety of the gelatin, a subchronic in vivo toxicity study had been done on mice. The study used male mice (*Mus musculus*) with 20–30 g body weight each. Gelatin was given orally by gavage once a day. Mice were divided into 4 groups of treatment. The doses given were 0 (negative control) 1.5; 3 and 6% of gelatin which was equal to 0, 12, 24 and 48 mg/g of mice body weight. The study had been conducted for 4 weeks and continued for 2 weeks of recovery phase. Blood serum condition, i.e. *Glutamic Oxaloacetic Transaminase* (GOT), *Glutamic Pyruvic Transaminase* (GPT), creatinine, albumine and *Blood Urea Nitrogen* (BUN) and organ (liver, kidney, stomach) damage were investigated. The results showed that gelatin at the highest dose (48 mg/g bw of mice) gave a significant effect on GOT level at the second week of treatment. Furthermore, there was no significant effect of treatments on organ damage level.*

KEYWORDS: *Pangasius hypophthalmus, gelatin, catfish, subchronic, in vivo*

PENDAHULUAN

Dari keseluruhan hasil tangkapan ikan, jumlah yang dikonsumsi manusia hanya sebesar 50–60%. FAO memperkirakan sebanyak 20 juta ton per tahun atau sekitar 25% dari seluruh hasil tangkapan ikan di dunia tidak dikonsumsi dan menjadi limbah (Rustad, 2003). Kandungan protein, lemak, vitamin, dan mineral yang tinggi dari limbah tersebut memacu upaya-upaya pemanfaatannya menjadi bahan lain yang bernilai ekonomis seperti tepung ikan, silase, pakan ikan, dan gelatin (Jamilah & Harvinder, 2002; Rustad, 2003).

Gelatin (CAS No. 9000-70-80) merupakan suatu protein yang diperoleh dari hasil hidrolisis parsial

kolagen, yaitu protein utama yang terdapat pada kulit, tulang, dan jaringan ikat hewan termasuk ikan, yang dari segi kualitas dapat menggantikan gelatin dari babi (Choi & Regenstein, 2000; Keenan, 2001). Gelatin telah memenuhi standar yang ditetapkan oleh US Pharmacopeia (USP) dan *European Pharmacopoeia*, dan penggunaannya dalam industri pangan telah diterima Food and Drug Administration (FDA) sebagai *Generally Recognized As Safe* (GRAS) (OMRI, 2002; Ocean Nutrition Canada., 2007).

Gelatin merupakan senyawa non toksik pada jumlah yang biasa dipergunakan secara normal. Dalam jumlah besar, gelatin dapat menyebabkan *pseudo-agglutinations* dan fiksasi protein darah pada

¹⁾ Peneliti pada Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, Balitbang KP, KKP; Jl. KS. Tubun Petamburan VI, Slipi, Jakarta Pusat; E-mail: noval_2710@yahoo.com

jaringan. Pengaruh tersebut bersifat *reversible*, secara terus-menerus akan dihilangkan dari tubuh melalui proses eliminasi (Lefaux, 1968). Meskipun demikian, beberapa senyawa kimia yang dipergunakan dalam proses ekstraksi gelatin seperti asam klorida, asam sulfat, dan natrium hidoksida merupakan jenis senyawa toksik. Selain itu kemungkinan kontaminasi dengan logam berat yang berasal dari bahan baku ikan maupun pada saat pembuatan gelatin harus diperhatikan, hal ini dikarenakan beberapa negara mempersyaratkan batas tertentu untuk kandungan logam berat dalam produk gelatin.

Gelatin yang terbuat dari bahan baku ikan berpotensi menyebabkan reaksi alergi. Berkaitan dengan peraturan tentang pelabelan yang berlaku di Uni Eropa (*Directive 2003/13/EC* dan *2003/89/EC*) dan Amerika Serikat (*Food Allergen Labelling and Consumer Protection Act*), seluruh produk pangan wajib mencantumkan bahan bakunya dalam kemasan termasuk bahan baku yang berpotensi menyebabkan alergi seperti ikan (Taylor & Hefle, 2006). Meskipun demikian, beberapa penelitian menunjukkan bahwa gelatin dari ikan tuna dan *cod* tidak menyebabkan reaksi alergi (Andre *et al.*, 2003, Hansen *et al.*, 2004).

Standar kualitas gelatin di pasaran berbeda antar negara satu dengan yang lain. Pada umumnya kualifikasi gelatin mencakup kadar abu, kadar SO₂, logam berat, bau, serta warna atau kejernihan larutan. Selain itu dari segi mikrobiologi, bakteri *E. coli*, dan *Salmonella* merupakan jenis mikroba yang tidak boleh ada dalam produk (Keenan, 2001).

Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan (BBRP2BKP) telah berhasil melakukan ekstraksi gelatin dari limbah

tulang ikan patin (Peranginangin *et al.*, 2005) dan ikan kakap merah (Suryanti *et al.*, 2006). Dalam penelitian ini akan dikaji status keamanan dari gelatin kulit ikan patin Siam yang telah dihasilkan oleh BBRP2B secara *in vivo*. Untuk mendapatkan gambaran yang paling mendekati dengan proses pencernaan dalam tubuh manusia, pemberian bahan uji gelatin dilakukan melalui oral.

Pemilihan organ lambung, hati, dan ginjal sebagai organ target dilakukan berdasarkan fungsi organ tersebut dalam proses pencernaan. Pengukuran kadar GOT, GPT, kreatinin, albumin, dan BUN dilakukan karena kadar senyawa tersebut dapat secara tidak langsung dipergunakan untuk mengetahui tingkat kerusakan organ target seperti ginjal dan hati.

BAHAN DAN METODE

Bahan Uji

Bahan uji berupa tepung gelatin dari kulit ikan patin Siam (*Pangasius hypophthalmus*) yang diproduksi oleh BBRP2B pada tahun 2010. Bahan uji diberikan secara oral dengan terlebih dahulu dilarutkan menggunakan air hangat. Karakteristik fisik, kimia, dan mikrobiologi gelatin tersebut disajikan dalam Tabel 1.

Peralatan

Peralatan yang dipergunakan adalah perlengkapan pemeliharaan mencit (kandang, wadah pakan, tempat minum, sonde, timbangan digital), alat bedah (gunting, jarum, pinset, pisau, suntikan, dan papan bedah), peralatan gelas, tabung mikro, mikropipet, botol

Tabel 1. Karakteristik fisik, kimia, dan mikrobiologi gelatin kulit ikan patin Siam
Table 1. Physical, chemical, and microbiological characteristics of gelatin from catfish skin

Parameter/Parameters	Gelatin Kulit Ikan Patin Siam/ Gelatin from Catfish Skin
Titik leleh/Melting point (°C)	24,50
Titik gel/Gelling point (°C)	8,50
pH	5,35
Viskositas/Viscosity (cPs)	9,00
Kekuatan gel/Gel strength (g bloom)	318,69
Kadar air/Moisture content (%)	12,67
Kadar abu/Ash content (%)	0,70
Kadar protein/Protein content (%)	86,02
Kadar lemak/Fat content (%)	0,31
ALT/TPC (cfu/g)	1.6 x 10 ⁶
Coliform (MPN/g)	Negatif/Negative

Keterangan/Note: ALT = Angka Lempeng Total/TPC = Total Plate Count

plastik, tutup kepala, masker, dan sarung tangan sekali pakai serta *blood analyzer* Spotchem EZ SP-4430 Arkray.

Pemeliharaan Hewan Uji

Hewan uji yang dipergunakan adalah mencit (*Mus musculus* L.) strain ddy (*deutch democratic Yokohama*) jantan, berumur 5–6 minggu dengan berat badan 20–30 g yang dikembangkan oleh Laboratorium Hewan Uji-Pusat Pengujian Obat dan Makanan Nasional (PPOMN), Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) RI, Jakarta. Pakan standar yang diberikan berupa pelet komersial yang diproduksi oleh PD. Kasman, Jakarta.

Pemeliharaan mencit dilakukan dalam kandang yang ditempatkan dalam ruangan terkontrol. Suhu ruangan dipertahankan $\pm 20^{\circ}\text{C}$ dan kelembaban 60%. Lampu (penerangan di dalam ruangan) diatur dengan 12 jam terang dan 12 jam gelap menggunakan *automatic light timer*.

Metode Pengujian Subkronik

Sebelum pengujian, dilakukan tahap aklimatisasi selama 7 hari terhadap hewan uji dengan pemberian pakan pelet. Pada tahap pengujian, selain pemberian pelet, bahan uji diberikan sekali per hari selama 4 minggu secara oral dengan menggunakan sonde dan sebelum pemberian bahan uji, mencit dipuaskan selama 1–2 jam. Setelah pengujian dilanjutkan dengan tahap pemulihan selama 2 minggu, hewan uji diberi pakan pelet saja.

Penentuan dosis yang akan diujikan berdasarkan pada rata-rata konsentrasi gelatin yang umumnya ditambahkan dalam makanan yaitu 0,5–1,5% (Keenan, 2001) karena ketidakterdediaan data mengenai dosis dari gelatin ikan yang menimbulkan efek toksik.

Pengujian sub kronik dilakukan berdasarkan protokol pengujian toksikologi *National Toxicology Program* (NTP, 2010). Dalam penelitian ini, hewan uji sebanyak 72 ekor mencit dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan (masing-masing terdiri atas 18 ekor mencit) yang disusun dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Kelompok tersebut adalah kelompok dosis I (12 mg/20 g bb mencit $\approx 1,5\%$ gelatin dalam 0,8 mL air), kelompok dosis II (24 mg/20 g bb mencit $\approx 3\%$ gelatin dalam 0,8 mL air), kelompok dosis III (48 mg/20 g bb mencit $\approx 6\%$ gelatin dalam 0,8 mL air) serta kelompok kontrol negatif (0,8 mL air). Setiap minggu dilakukan penimbangan berat badan mencit untuk penyesuaian berat bahan uji yang akan diberikan.

Setiap hari dilakukan pengamatan kondisi kesehatan hewan uji secara visual. Pengambilan darah

dan organ target (hati, ginjal, dan lambung) dilakukan setiap dua minggu terhadap 6 ekor mencit untuk masing-masing perlakuan. Darah yang telah diambil ditambah dengan NaEDTA untuk menghindari pembekuan (Everds, 2007) sedangkan organ-organ yang diambil disimpan di dalam botol-botol plastik berisi formalin 10% selama ± 1 minggu hingga dilakukan analisis histopatologi. Pengamatan terhadap parameter kimia darah (GOT, GPT, kreatinin, albumin, dan BUN) untuk mengetahui ada atau tidaknya gangguan pada fungsi ginjal dan hati (Quimby & Luong, 2007) dilakukan dengan menggunakan alat Spotchem EZ-SP 4430 Arkray. Sedangkan pembuatan preparat histopatologi dan penginterpretasian data kerusakan organ dilakukan bekerjasama dengan laboratorium Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor.

Analisis data

Hasil pengukuran parameter kimia darah dan skoring kerusakan organ dianalisis secara statistik menggunakan Analisis Sidik Ragam (ANOVA) dan Uji Jarak Duncan.

HASIL DAN BAHASAN

Hasil pengukuran parameter albumin, kreatinin, dan BUN disajikan pada Tabel 2.

Kadar albumin dan kreatinin berada pada rentang nilai acuan (Rf). Terdapat satu perlakuan, yaitu pada dosis 24 mg/20 g bb pengamatan minggu ke-2 yang memberikan nilai kreatinin lebih besar dari Rf, yaitu 1,3 mg/dl. Untuk kadar urea dalam darah (BUN), nilai yang diperoleh berada di bawah nilai acuan. Meskipun demikian dari hasil analisis statistik, pemberian bahan uji pada dosis yang berbeda tidak memberikan perbedaan yang signifikan terhadap hasil pengukuran parameter kimia darah (albumin, kreatinin, dan BUN). Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan pemberian gelatin tidak mempengaruhi metabolisme normal dari hewan uji.

Kadar kreatinin relatif tidak dipengaruhi oleh asupan pakan dan katabolisme protein tetapi lebih dipengaruhi oleh masa otot. Sedangkan BUN merupakan produk samping yang dihasilkan dari proses katabolisme protein dalam hati. Peningkatan kadar BUN dapat disebabkan oleh konsumsi protein yang berlebihan, kerusakan pada ginjal, penggunaan obat-obatan tertentu, pendarahan pada usus, kerusakan fungsi hati, dan menurunnya produksi enzim pencernaan dalam pankreas. Konsentrasi urea darah dan kreatinin digunakan secara bersama-sama dengan tingkat osmolaritas urin untuk mengevaluasi kerja ginjal (Hall, 2007).

Tabel 2. Hasil pengukuran parameter kimia darah mencit selama perlakuan
 Table 2. Results of blood chemical parameters of mice during treatment

Parameter Kimia Darah/Blood Chemical Parameters	Dosis (mg/20 g bb)/ Dosage (mg/20 g bw)	Pengamatan (minggu ke-)/ Observation (weeks)			Nilai Acuan/ Reference Value (Rf)
		2/2 nd	4/4 th	6/6 th	
Albumin (g/dl)/ Albumine (g/dl)	12	2.8 ± 0.3 ^a	3.0 ± 0.2 ^a	3.2 ± 0.1 ^a	2–4.7 g/dl *)
	24	2.7 ± 0.1 ^a	2.9 ± 0.2 ^a	3.3 ± 0.2 ^a	
	48	2.7 ± 0.2 ^a	2.6 ± 0.1 ^a	3.1 ± 0.1 ^a	
	Kontrol negatif/ Negative control	2.7 ± 0.1 ^a	3.0 ± 0.2 ^a	3.2 ± 0.2 ^a	
Kreatinin (mg/dl)/ Creatinine (mg/dl)	12	0.3 ± 0.0 ^a	1.3 ± 1.7 ^a	0.3 ± 0.0 ^a	0.3–0.8 mg/dl **)
	24	0.3 ± 0.0 ^a	0.3 ± 0.0 ^a	0.3 ± 0.0 ^a	
	48	0.3 ± 0.0 ^a	0.3 ± 0.0 ^a	0.3 ± 0.0 ^a	
	Kontrol negatif/ Negative control	0.3 ± 0.0 ^a	0.5 ± 0.3 ^a	0.3 ± 0.0 ^a	
BUN (mg/dl)/ BUN (mg/dl)	12	5.0 ± 0.0 ^a	5.0 ± 0.0 ^a	5.0 ± 0.0 ^a	15–45 mg/dl **)
	24	5.0 ± 0.0 ^a	5.0 ± 0.0 ^a	6.3 ± 2.3 ^a	
	48	5.0 ± 0.0 ^a	5.0 ± 0.0 ^a	5.0 ± 0.0 ^a	
	Kontrol negatif/ Negative control	5.0 ± 0.0 ^a	5.3 ± 0.6 ^a	5.0 ± 0.0 ^a	

- Sumber/Source: *) Suckow *et al.*, 2000; **) Hall, 2007

- Huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($p < 0,05$)
 The same letter in the same column shows not significantly different ($p < 0.05$)

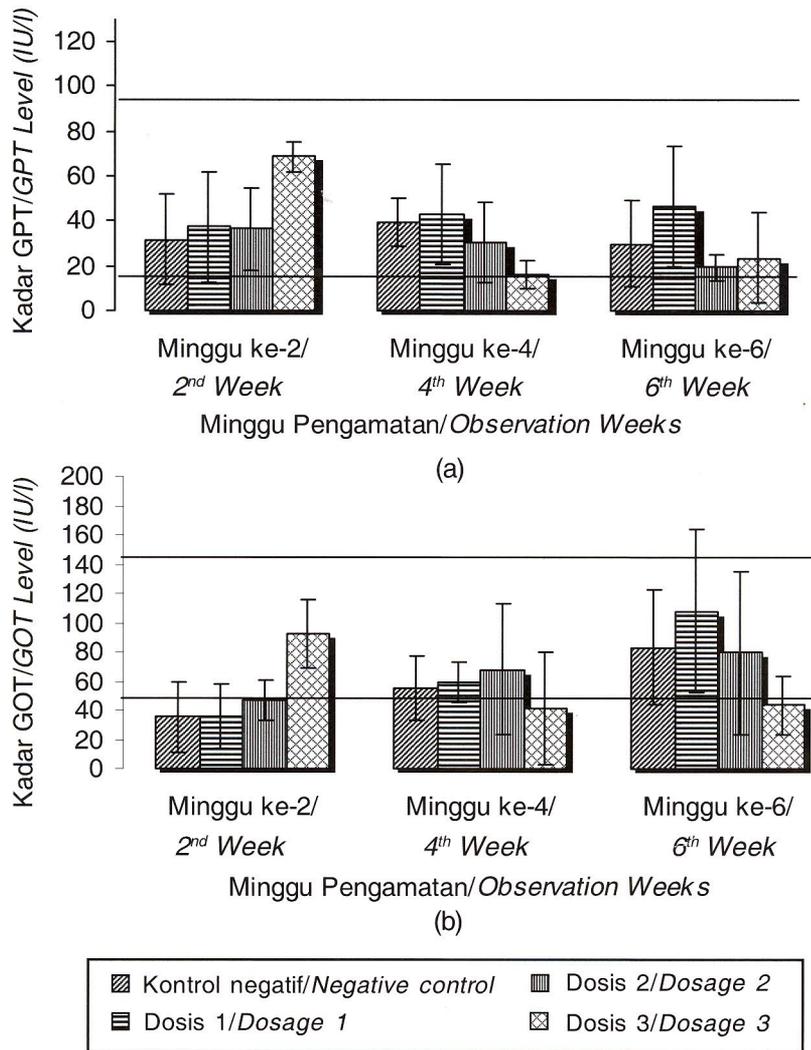
Gambar 1 (a) menyajikan hasil pengukuran kadar GPT mencit. Nilai acuan (Rf) atau batas kadar GPT mencit dalam kondisi normal digambarkan dengan garis hitam, yaitu dari 26–120 IU/l (Suckow *et al.*, 2000). Selama perlakuan GPT pada kelompok kontrol dan kelompok dosis 1 relatif tetap. Sedangkan pada kelompok dosis II dan III nilai GPT mengalami penurunan hingga nilainya berada di bawah nilai acuan (Rf). Pada kelompok dosis II hal ini terjadi pada minggu ke-6 sedangkan pada kelompok dosis III pada minggu ke-4 dan ke-6. Meskipun demikian, hasil analisis statistik menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) terhadap kadar GPT mencit yang diberi perlakuan bahan uji dengan dosis berbeda-beda.

GPT atau alanine aminotransferase (AAT) merupakan enzim yang paling banyak terkonsentrasi pada sel-sel hati dan berbagai jaringan lainnya (dalam jumlah sedikit). Dalam kondisi normal GPT berada dalam sel-sel hati, akan tetapi saat terjadi kerusakan organ hati, sel-sel hepatosit akan mengalirkan enzim tersebut ke dalam aliran darah. Oleh karena itu penentuan tingkat kerusakan organ hati dapat dilakukan dengan mengukur jumlah GPT dalam darah (Hall, 2007).

Hasil pengukuran kadar GOT mencit selama perlakuan disajikan pada Gambar 1 (b). Kadar GOT pada mencit jantan dalam kondisi normal digambarkan dengan garis hitam, yaitu 69–191 IU/l (Suckow *et al.*, 2000).

GOT bekerja secara paralel dengan GPT, tetapi enzim ini bukan enzim spesifik untuk organ hati karena sebagian besar terdapat pada jaringan yang lain, terutama otot. Selain itu enzim ini juga terkandung dalam jantung, ginjal dan otak. Kerusakan pada salah satu organ tersebut akan menyebabkan terlepasnya enzim GOT ke dalam aliran darah. Pada sebagian besar spesies, peningkatan jumlah GOT yang disebabkan oleh hepatoksisitas tidak sejelas peningkatan jumlah GPT. Hal ini disebabkan GOT terdapat dalam mitokondria, sedangkan GPT terdapat dalam sitoplasma. Selain itu konsentrasi GPT dalam sel adalah 100.000 kali lebih besar daripada dalam serum, sehingga GPT dapat dengan mudah memenuhi serum pada saat terjadi perubahan permeabilitas membran sel (Hall, 2007).

Hasil penelitian menunjukkan kadar GOT cenderung mengalami kenaikan dari minggu ke-2 sampai minggu ke-6 pada kelompok kontrol, kelompok dosis I dan kelompok dosis II. Dari hasil Analisis Sidik Ragam, diketahui bahwa terdapat beda nyata ($p < 0,05$) antar perlakuan pemberian pakan terhadap parameter GOT pada minggu ke-2, sedangkan pada minggu ke-4 dan ke-6 tidak berbeda nyata ($p > 0,05$). Dan dari Uji Jarak-Duncan, diketahui bahwa perlakuan pemberian dosis III (48 mg/20 g bb) pada minggu ke-2 memberikan nilai rata-rata GOT lebih tinggi dibandingkan perlakuan lainnya dan berbeda secara nyata ($p < 0,05$). Hal ini dimungkinkan karena terjadi kerusakan jaringan otot pada sistem pencernaan



Keterangan/Note: Kadar GPT normal mencit = 26–120 IU/l; kadar GOT normal mencit = 69–191 IU/l (garis hitam)/Normal GPT level of mice = 26–120 IU/l; normal GOT level of mice = 69–191 IU/l (black lines)

Gambar 1. Kadar (a) GPT dan (b) GOT dalam darah mencit selama perlakuan.
Figure 1. (a) GPT and (b) GOT levels of mice blood serum during treatment.

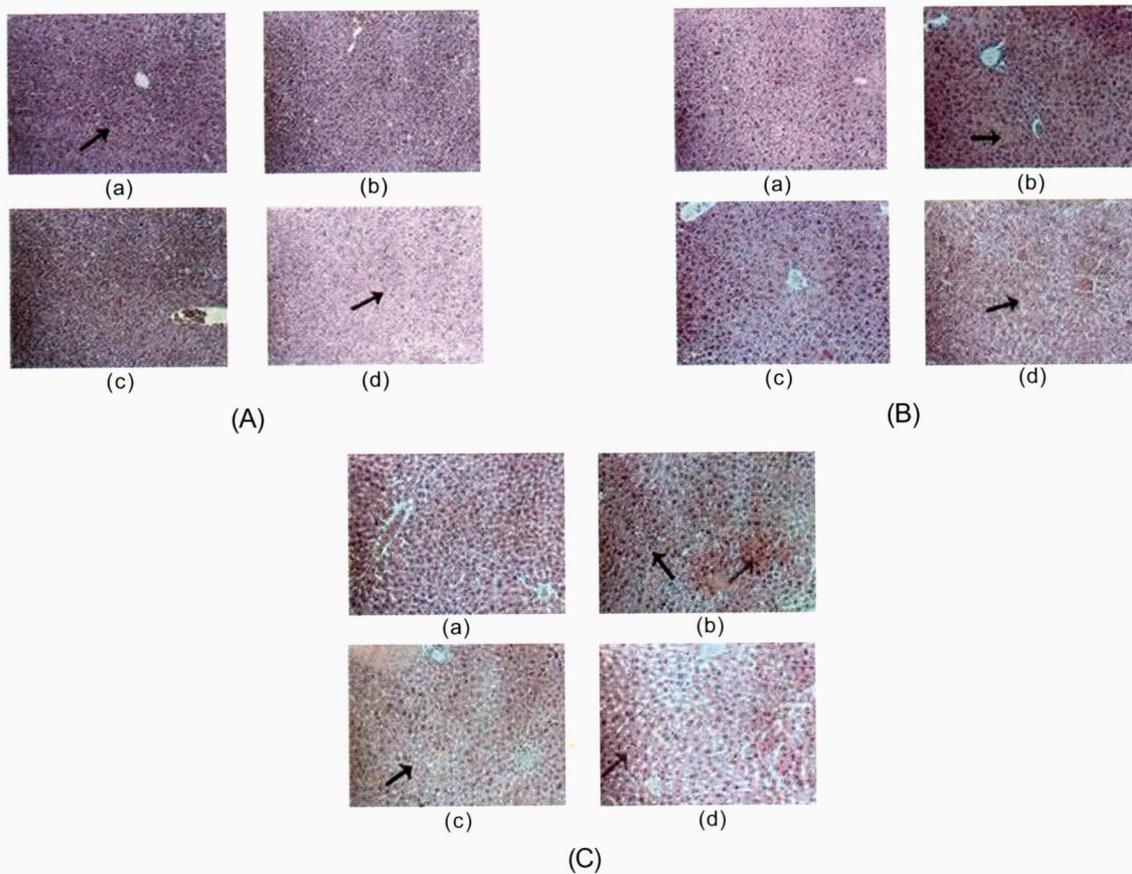
hewan uji. Dosis III merupakan konsentrasi gelatin yang paling tinggi (paling kental) sehingga proses pencernaannya menjadi lebih berat dan dapat menyebabkan kerusakan jaringan otot pada sistem pencernaan hewan sehingga kadar GOT meningkat.

Hasil pemeriksaan kerusakan pada organ (hati, ginjal, dan lambung) dikategorikan menjadi kerusakan ringan apabila kerusakan yang terjadi kurang dari 30%, kerusakan sedang apabila terjadi kerusakan sebanyak 30–50%, dan kerusakan parah apabila terjadi kerusakan sebanyak 50% (Winarsih, komunikasi pribadi). Untuk mengetahui tingkat kerusakan pada organ target, dilakukan penilaian kerusakan organ dengan skor 0–3. Derajat kerusakan digolongkan menjadi 4, yaitu:

1. Tidak terjadi kerusakan → skor = 0
2. Ringan → kerusakan < 30%, skor = 1
3. Sedang → kerusakan 30–50%, skor = 2
4. Berat → kerusakan > 50%, skor = 3

Gambaran kerusakan organ hati selama pengamatan disajikan pada Gambar 2.

Pemilihan organ hati sebagai parameter toksisitas dilakukan karena organ ini mempunyai fungsi penting dalam proses metabolisme, sintesis, dan ekskresi. Pengamatan minggu ke-2 (Gambar 2A) pada kelompok kontrol terjadi degenerasi difus yaitu batas kerusakan antar sel tidak jelas serta kongesti atau pengkerutan pembuluh darah. Sedangkan pada kelompok dosis I, II, dan III, selain degenerasi dan



Keterangan/Note:

(a) kontrol negatif; (b) dosis I; (c) dosis II; (d) dosis III/

(a) negative control; (b) dosage I; (c) dosage II; (d) dosage III

Panah hitam → degenerasi difus (batas kerusakan antar sel tidak tegas), panah abu-abu → nekrosis/
 Black arrow → diffuse degeneration (unclear damage border between cells), grey arrow → necrosis

Gambar 2. Histopatologi organ hati mencit setelah minggu (A) ke-2; (B) ke-4; dan (C) ke-6 perlakuan (perbesaran 200x).

Figure 2. Histopathology of the mouse's liver after (A) 2; (B) 4 and (C) 6 weeks of treatment (magnification 200x).

kongesti pembuluh darah, juga ditemui nekrotik pada hepatosit.

Gambar 2.B menyajikan gambaran histopatologi organ hati pada pengamatan minggu ke-4. Tingkat kerusakan yang terjadi hampir sama dengan pengamatan minggu ke-2, nekrotik sel-sel hati dan kongesti pembuluh darah lebih banyak terjadi pada dosis yang lebih tinggi.

Pada minggu ke-6 (Gambar 2.C), tidak banyak terjadi perubahan pada kerusakan organ tetapi pada semua kelompok perlakuan telah terjadi nekrotik sel-sel hati.

Untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap kerusakan organ hati, dilakukan penilaian terhadap kerusakan yang terjadi (Tabel 3). Untuk organ hati,

kerusakan yang dinilai adalah degenerasi sel, nekrosis, dan kongesti pembuluh darah.

Meskipun terjadi peningkatan kerusakan organ pada minggu ke-6, hasil analisis statistik menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) antar perlakuan terhadap kerusakan organ hati. Pengukuran tingkat kerusakan hati secara tidak langsung melalui pengukuran kadar GPT juga menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan dari pemberian pakan gelatin sampai dengan dosis tertinggi (48 mg/g bb mencit) terhadap kerusakan organ hati.

Organ hati seringkali disebut sebagai *detoxifier organ* dalam tubuh manusia. Hal ini dikarenakan salah satu kemampuan dari enzim yang terkandung dalam

Tabel 3. Skoring kerusakan organ hati
Table 3. Scores of liver damage

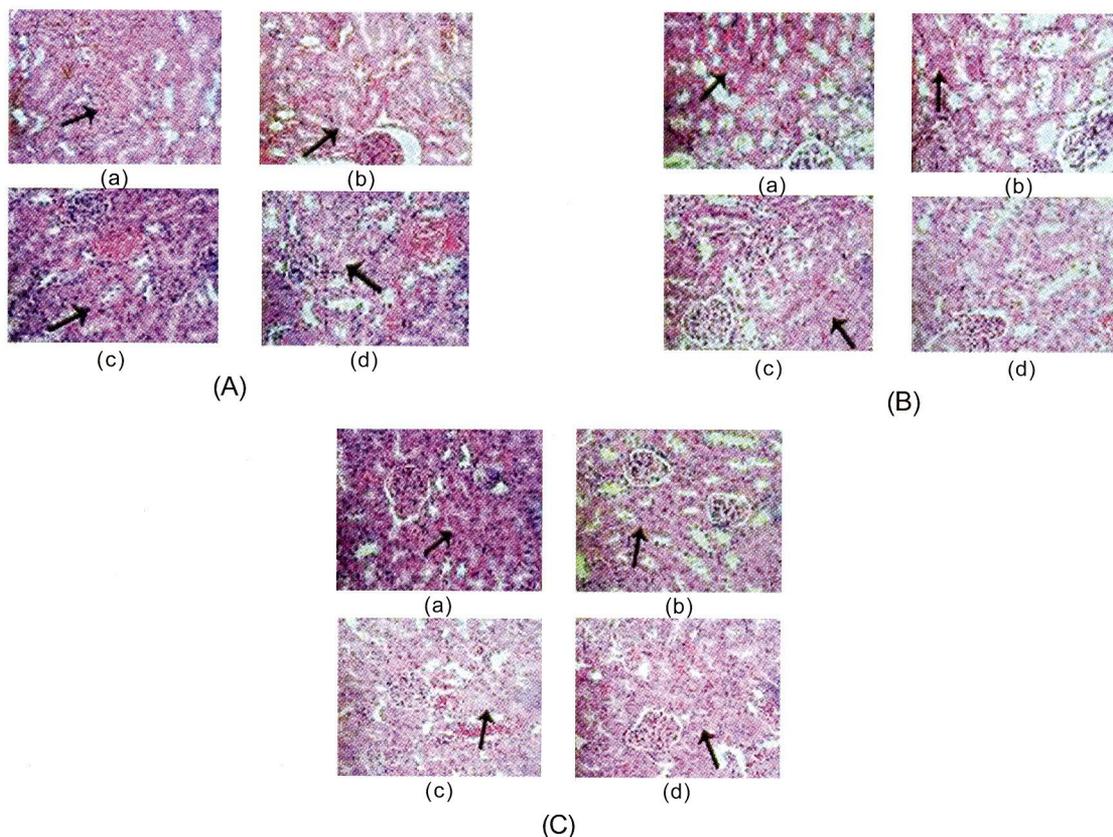
Kelompok/Group	Waktu Pengamatan/Observation Time		
	Minggu ke-2/ 2 nd week	Minggu ke-4/ 4 th week	Minggu ke-6/ 6 th week
Kontrol negatif/Negative control	1.44 ± 0.20 ^a	1.89 ± 0.40 ^a	1.89 ± 0.20 ^a
Dosis 1/Dosage 1	1.44 ± 0.70 ^a	1.67 ± 0.00 ^a	2.00 ± 0.00 ^a
Dosis 2/ Dosage 2	1.56 ± 0.50 ^a	1.78 ± 0.20 ^a	1.89 ± 0.40 ^a
Dosis 3/ Dosage 3	1.56 ± 0.50 ^a	1.78 ± 0.20 ^a	2.00 ± 0.30 ^a

* Huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata (P>0,05)/
The same letter in the same column shows not significantly different (P>0.05)

hati adalah untuk memecah senyawa-senyawa toksik sehingga menjadi produk yang tidak toksik (Hodgson & Levi, 2004). Sebagaimana diketahui, gelatin tidak tergolong dalam kelompok senyawa toksik. Selain itu penggunaannya dalam industri pangan telah diterima FDA sebagai GRAS, sehingga konsumsi gelatin

sampai dengan dosis tertinggi yang dipergunakan dalam penelitian ini tidak menimbulkan efek toksik pada hati.

Gambaran histopatologi organ ginjal disajikan pada Gambar 3. Pengamatan minggu kedua terhadap organ ginjal (Gambar 3A) menunjukkan telah terjadi



Keterangan/Note:

(a) kontrol negatif; (b) dosis I; (c) dosis II; (d) dosis III/

(a) negative control; (b) dosage I; (c) dosage II; (d) dosage III

Panah hitam → degenerasi difus (batas kerusakan antar sel tidak tegas), panah abu-abu → nekrosis/

Black arrow → diffuse degeneration (unclear damage border between cells), grey arrow → necrosis

Gambar 3. Histopatologi organ ginjal mencit setelah minggu (A) ke-2; (B) ke-4; dan (C) ke-6 perlakuan (perbesaran 400x).

Figure 3. Histopathology of the mouse's kidney after (A) 2; (B) 4 and (C) 6 weeks of treatment (magnification 400x).

degenerasi sel tubulus dan kongesti pembuluh darah pada seluruh kelompok perlakuan dan kontrol. Selain itu juga ditemui endapan protein pada lumen tubulus pada semua perlakuan kecuali perlakuan kontrol.

Pada pengamatan minggu keenam (Gambar 3.C) ditemui kerusakan berupa nekrosis sel ginjal pada semua perlakuan kecuali kontrol. Untuk mengetahui pengaruh pemberian perlakuan terhadap kerusakan

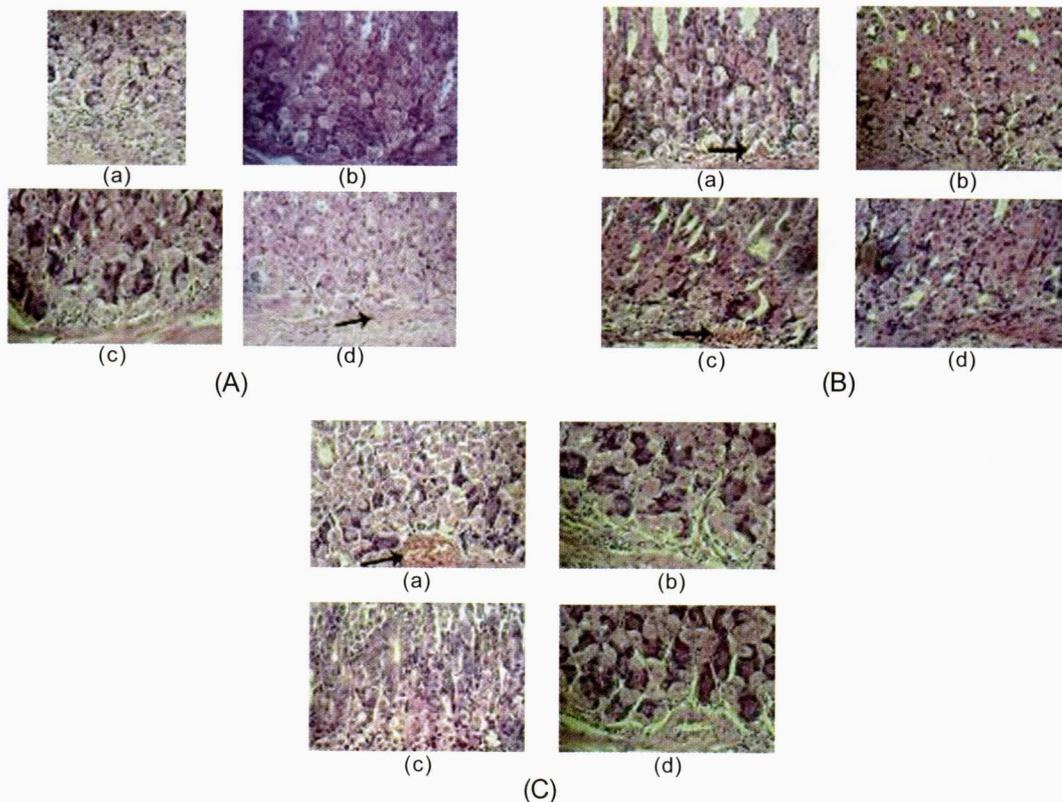
organ ginjal, dilakukan penilaian dengan sistem yang sama seperti organ hati. Kerusakan yang dinilai dari organ ginjal adalah degenerasi sel tubulus, nekrosis, endapan protein pada lumen tubulus, serta kongesti pembuluh darah.

Hasil penilaian (Tabel 4) menunjukkan terjadi kenaikan skor kerusakan dari minggu ke-2 hingga minggu ke-4 yang kemudian menurun pada minggu

Tabel 4. Skoring kerusakan organ ginjal
Table 4. Scores of kidney damage

Kelompok/Group	Waktu Pengamatan/Observation Time		
	Minggu ke-2/ 2 nd week	Minggu ke-4/ 4 th week	Minggu ke-6/ 6 th week
Kontrol negatif/Negative control	1.50 ± 0.50 ^a	2.44 ± 0.20 ^a	2.00 ± 0.00 ^a
Dosis 1/Dosage 1	2.11 ± 0.20 ^a	2.56 ± 0.20 ^a	1.75 ± 0.00 ^a
Dosis 2/Dosage 2	1.78 ± 0.20 ^a	2.00 ± 0.40 ^a	1.92 ± 0.10 ^a
Dosis 3/Dosage 3	1.89 ± 0.20 ^a	2.11 ± 0.20 ^a	2.00 ± 0.40 ^a

* Huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($p > 0,05$)
The same letter in the same column shows not significantly different ($p > 0,05$)



Keterangan/Note: (a) kontrol negatif; (b) dosis I; (c) dosis II; (d) dosis III/
(a) negative control; (b) dosage I; (c) dosage II; (d) dosage III
Panah hitam → kongesti pembuluh darah/Black arrow → congestion of blood vessels

Gambar 4. Histopatologi organ lambung mencit setelah minggu (A) ke-2; (B) ke-4; dan (C) ke-6 perlakuan (perbesaran 400x).

Figure 4. Histopathology of the mouse's stomach after (A) 2; (B) 4 and (C) 6 weeks of treatment (magnification 400x).

Tabel 5. Nilai kerusakan organ lambung
Table 5. Scores of stomach damage

Kelompok/Group	Waktu Pengamatan/Observation Time		
	Minggu ke-2/	Minggu ke-4/	Minggu ke-6/
	2 nd week	4 th week	6 th week
Kontrol negatif/Negative control	1.33 ± 0.60 ^a	1.33 ± 0.60 ^a	2.00 ± 0.00 ^a
Dosis 1/Dosage 1	1.67 ± 1.20 ^a	2.00 ± 0.00 ^a	2.00 ± 0.00 ^a
Dosis 2/Dosage 2	1.00 ± 0.00 ^a	2.00 ± 0.00 ^a	2.00 ± 0.00 ^a
Dosis 3/Dosage 3	1.67 ± 0.60 ^a	1.67 ± 0.60 ^a	1.67 ± 0.60 ^a

* Huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($p>0,05$)
The same letter in the same column shows not significantly different ($p>0.05$).

ke-6. Hal ini menunjukkan bahwa pada tahap pemulihan beberapa kerusakan yang terjadi sebelumnya dapat kembali ke kondisi normal jika pemberian bahan uji dihentikan. Salah satu jenis kerusakan tersebut adalah degenerasi pada sel, yaitu kondisi kerusakan pada sel yang bisa kembali ke kondisi normal jika pemberian bahan uji dihentikan (Hodgson & Levi, 2004). Meskipun demikian, hasil analisis statistik menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan ($p>0,05$) antar perlakuan pemberian pakan gelatin terhadap kerusakan organ ginjal pada semua kelompok.

Dalam sistem pencernaan, ginjal berfungsi untuk menyimpan empedu (*bile*) yang akan dipergunakan untuk memecah lemak. Konsumsi makanan berlemak akan berpengaruh pada konsentrasi empedu di dalam ginjal. Dalam penelitian ini, gelatin yang dipergunakan hanya memiliki kadar lemak sebesar 0,31%, sehingga konsumsinya tidak mempengaruhi konsentrasi empedu yang dapat menyebabkan kerusakan pada ginjal.

Gambaran histopatologi organ lambung disajikan pada Gambar 4. Pada lambung, kerusakan yang ditemui berupa kongesti atau pengkerutan pembuluh darah. Kerusakan tersebut terjadi pada semua kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol negatif. Hasil penilaian kerusakan organ lambung disajikan pada Tabel 5.

Hasil analisis statistik terhadap skor kerusakan organ lambung menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan ($p>0,05$) dari pemberian gelatin dengan konsentrasi yang berbeda terhadap kerusakan organ lambung. Hal ini mungkin disebabkan karena gelatin merupakan suatu protein yang akan dengan mudah dihancurkan oleh enzim-enzim proteolitik yang terdapat dalam makanan atau terdapat di lambung (OMRI, 2002).

KESIMPULAN DAN SARAN

Gelatin kulit ikan patin Siam yang dihasilkan oleh BBRP2BKP tidak memberikan efek toksik terhadap

parameter kimia darah (GOT, GPT, kreatinin, albumin, dan BUN) serta kerusakan pada organ target (hati, ginjal dan lambung) hingga dosis tertinggi yang diujikan (48 mg/kg bb) pada penelitian *in vivo* ini jika dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Dosis tersebut lebih tinggi dari jumlah gelatin yang biasa ditambahkan dalam makanan yaitu sebesar 1,5% yang setara dengan 12 mg/kg bb, sehingga gelatin ikan patin Siam yang dihasilkan oleh BBRP2B-KP aman dipergunakan sebagai bahan tambahan pangan.

DAFTAR PUSTAKA

- Andre, F., Cavagna, S., and Andre, C. 2003. Gelatin prepared from tuna skin: a risk factor for fish allergy or aensitization?. *Allergy and Immunology*. 130(1): 17–24.
- Choi, S-S. and Regenstein, J.M. 2000. Physicochemical and sensory characteristics of fish gelatin. *Journal of Food Science*. 65(2): 194–199.
- Everds, N.E. 2007. Hematology of the Laboratory Mouse. In Fox, J.G., Davison, M.T., Quimby, F.W., Barthold, S.W., Newcomer, C.E., and Smith, A.L. (eds.). *The Mouse in Biomedical Research, 2nd edition*. Vol. III. Normative biology, husbandary and models. Academic Press. New York. p. 135–170.
- Hall, R.L. 2007. Clinical pathology of laboratory animals. In Gad, S.C. (ed.). *Animals Model in Toxicology*. 2nd edition. CRC Press. Boca Raton. p. 789–861.
- Hansen, T.K., Poulsen, L.K., Skov, P.S., Hefle, S.L., Hlywka, J.J., Taylor, S.L., Jensen, U.B., and Jensen, C.B. 2004. A randomized, double-blinded, placebo-controlled oral challenge study to evaluate the allergenicity of commercial, food-grade fish gelatin. *Food and Chemical Toxicology*. 42: 2037–2044.
- Hodgson, E. and Levi, P.E. 2004. Hepatotoxicity. In Hodgson, E. (ed.). *A Text Book of Modern Toxicology*. 3rd Edition. A John Wiley & Sons, Inc., Publication. Canada. p. 263–272.
- Jamilah, B. and Harvinder, K.G. 2002. Properties of gelatins from skins of fish—black tilapia (*Oreochromis mossambicus*) and red tilapia (*Oreochromis nilotica*). *Food Chemistry*. 77: 81–84.
- Keenan, T.R. 2001. Gelatin. In Kirk-Othmer (ed.). *Encyclopedia of Chemical Technology*. John Wiley and Sons, New York. p. 311–324.

- Lefaux, R. 1968. *Practical Toxicology of Plastics*. Cleveland: CRC Press Inc., 285 pp.
- National Toxicology Program (NTP). 2010. 14-Day Toxicity Protocol. Department of Health and Human Service. <http://ntp.niehs.nih.gov/?objectid=363107BD-F1F6-975E-7EEFC3A4FD87ADA2>. Diakses pada tanggal 5 Mei 2010.
- Ocean Nutrition Canada. 2007. *Petition of The Addition of Fish Gelatin to 7 CFR 205.606*. January 12, 2007.
- Organic Materials Review Institute (OMRI). 2002. *NOSB Technical Advisory Panel (TAP) Review, Gelatin*.
- Peranginangin, R., Mulyasari, Sari, A., dan Tazwir. 2005. Karakteristik mutu gelatin yang diproduksi dari tulang ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) secara ekstraksi asam. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*. 11(4): 15–24.
- Quimby, F.W. and Luong, R. 2007. Clinical chemistry of the laboratory mouse. In Fox, J.G., Davisson, M.T., Quimby, F.W., Barthold, S.W., Newcomer, C.E., and Smith, A.L. (eds.). *The Mouse in Biomedical Research, 2nd edition*. Vol. III. Normative biology, husbandary and models. Academic Press. New York. p. 171–216.
- Rustad, T. 2003. Utilization of marine by-products. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Biochemistry*. 2(4): 458–463.
- Suckow, M.A., Danneman, P., and Crayton, C. 2000. *The Laboratory Mouse*. CRC Press. Boca Raton, 17 pp.
- Suryanti, Hadi, S., dan Peranginangin, R. 2006. Ekstraksi gelatin dari kulit ikan kakap merah (*Lutjanus sp.*) secara asam. *Jurnal Pasca Panen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 1(1): 27–34.
- Taylor, S.L. and Hefle, S.L. 2006. Food allergen labeling in the USA and Europe. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*. 6(3): 186–190.
- Winarsih, 2011. *Komunikasi Pribadi*. (Personal communication).