

PENGARUH INDUKSI SUKROSA 1%,2%, DAN 4% TERHADAP KERUSAKAN SEL OTOT JANTUNG IKAN ZEBRA

Mufidah, Yoyon Arif Martino, Dini Sri Damayanti*
Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang (UNISMA)

ABSTRAK

Pendahuluan: Salah satu komplikasi dari diabetes adalah penyakit kardiovaskular. Penelitian yang dilakukan oleh Xiao *et al.*, 2021 menunjukkan kerusakan pada otot jantung akibat paparan 2,6-DCBQ. Selain itu penelitian yang dilakukan oleh Gleeson *et al.*, 2007) menunjukkan peningkatan kadar gula darah dan gangguan respon insulin setelah dipapar larutan glukosa. Oleh karena itu penelitian ini dilakukan untuk membuktikan pengaruh pemberian kadar sukrosa yang berbeda pada kerusakan sel otot jantung ikan zebra.

Metode: Penelitian dilakukan dilaboratorium, menggunakan post test group control design. Sampel penelitian menggunakan ikan zebra. Kelompok penelitian terdiri dari kelompok kontrol normal (N) dan kelompok induksi sukrosa 1% (G1), 2% (G2) dan 4% (G3). Proses induksi sukrosa 1%,2%,4% pada air rendaman ikan zebra selama 28 hari. Proses euthanasia dilakukan dengan cara memasukkan ikan ke dalam air es selama 10 menit. Pengambilan organ jantung dilakukan untuk pembuatan preparat histologi dengan pewarnaan HE. Penghitungan kerusakan berupa adanya infiltrasi leukosit dan luas area sel otot jantung yang mengalami edema, pembesaran 400 x, menggunakan software image J. Analisa data menggunakan ONEWAY ANOVA, dengan tingkat signifikansi $p < 0.05$.

Hasil: Induksi Sukrosa 1%, 2%, Dan 4% selama 28 hari menyebabkan peningkatan jumlah infiltrasi sel radang pada kelompok G3 sebesar 61.79 ± 3.3 lebih tinggi dibandingkan N (12.38 ± 0.72), G1 (25.98 ± 2.48) dan G2 (41.30 ± 5.42) dengan $p < 0.05$. Luas area odem G3 sebesar ($43.965.33 \pm 6595.60$) lebih besar dibandingkan kelompok normal N ($5.619.67 \pm 4196.63$), G1 ($19.187.00 \pm 4971.69$) dan G2

($35.070.67 \pm 7179.86$) dengan $p < 0.05$. Antar dosis perlakuan didapatkan perbedaan yang signifikan dimana hal ini menunjukkan semakin besar dosis yang diberikan akan menyebabkan kerusakan yang lebih besar

Kesimpulan: Paparan kadar sukrosa yang berbeda menyebabkan terjadinya kerusakan sel jantung ikan zebra yang ditandai dengan adanya peningkatan infiltrasi sel leukosit dan peningkatan luas area edema interstisial dibandingkan normal.

Kata Kunci : Sukrosa, Ikan Zebra (*D. rerio*), Otot Jantung

*Koresponden: Dini Sri Damayanti

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

Jl. MT Haryono 193 Malang, Jawa Timur Indonesia 65144 telp. +62-341-57892

Email: dinisridamayanti@unisma.ac.id

THE EFFECT OF 1%, 2%, AND 4% SUCROSE INDUCTION ON ZEBRAFISH CARDIOMYOCYTE DAMAGE

Mufidah, Yoyon Arif Martino, Dini Sri Damayanti*
Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang (UNISMA)

ABSTRACT

Introduction: One of the complications of diabetes is cardiovascular disease. Research conducted by Xiao showed damage to the heart muscle due to exposure to 2,6-DCBQ. In addition, research conducted by Gleeson showed an increase in blood sugar levels and impaired insulin response after exposure to glucose solution. Therefore, this study was conducted to prove the effect of giving different levels of sucrose on damage to zebrafish heart muscle cells.

Method: The research was conducted in the laboratory, using a post test group control design. The research sample used zebra fish. The research group consisted of normal control group (N) and sucrose induction group 1% (G1), 2% (G2) and 4% (G3). The process of inducing 1%, 2%, 4% sucrose in zebrafish bath water for 28 days. The euthanasia process was carried out by placing the fish in ice water for 10 minutes. Heart organs were taken to make histology preparations with HE staining. Calculation of damage in the form of leukocyte infiltration and the area of cardiac muscle cells that experience edema, 400 x magnification, using image J software. Data analysis using ONEWAY ANOVA, with a significance level of $p < 0.05$.

Results: : Sucrose induction 1%, 2%. And 4% for 28 days caused an increase in the number of inflammatory cell infiltration in group G3 of 61.79 ± 3.3 higher than N (12.38 ± 0.72), G1 (25.98 ± 2.48) and G2 (41.30 ± 5.42) with $p < 0.05$. G3 odem area of ($43,965.33 \pm 6595.60$) was greater than the normal group N ($5,619.67 \pm 4196.63$), G1 ($19,187.00 \pm 4971.69$) and G2 ($35,070.67 \pm 7179.86$) with $p < 0.05$. Significant differences were found between treatment doses, indicating that the greater the dose given, the greater the damage.

Conclusion: Exposure to different levels of sucrose causes damage to zebrafish heart cells characterized by an increase in leukocyte cell infiltration and an increase in the area of interstitial edema compared to normal.

Keywords: Zebrafish (*D. rerio*), Sucrose, Cardiomyocyte

*Correspondence: Dini Sri Damayanti

Faculty of Medicine, University of Islam Malang

Jl. MT Haryono 193 Malang, East Java Indonesia 65144 telp. +62-341-57892

Email: dinisridamayanti@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Sukrosa adalah disakarida dengan α -D-glucophylanosyl dan α -D-fructofuranosyl yang dihubungkan antara ujung pereduksi. Sukrosa termasuk gula non-pereduksi karena tidak mempunyai ujung pereduksi¹. Sukrosa yang berlebihan akan diubah menjadi lemak daripada glikogen, sehingga pola makan tinggi sukrosa dapat menyebabkan peningkatan kadar gula darah. Diet tinggi sukrosa dapat mengakibatkan glukosa darah meningkat sehingga memicu terjadinya resisten insulin². Selain itu pada penelitian HN Haq *et al.*, (2022) juga menyebutkan bahwa induksi fruktosa dan tinggi lemak pada tikus selama 10 minggu mengakibatkan peningkatan kerusakan pada jantung³.

Salah satu penyakit kronis yaitu diabetes mellitus, yang ditandai dengan kadar gula darah lebih tinggi dari normal, yaitu Gula Darah Sewaktu (GDS) 200 mg/dl dan Gula Darah Puasa (GDP) minimal 126 mg/dl⁴. Keluhan umum yang sering dilaporkan oleh pasien DM berupa kesemutan, lemah, mata kabur, gatal, dan disfungsi ereksi pada pria, serta rasa gatal di area genital pada wanita.

Menurut IDF, prevalensi DM secara global adalah 1,9% dan menjadikan DM sebagai penyebab kematian urutan ke tujuh di dunia. Indonesia sendiri menempati urutan keempat dari jumlah penyandang DM terbanyak setelah Amerika Serikat, China, dan India. Menurut data WHO, pada tahun 2000 terdapat 171 juta orang di seluruh dunia yang menderita diabetes dan jumlah ini akan meningkat dua kali lipat menjadi 366 juta pada tahun 2030⁵.

Hiperglikemia merupakan kondisi dimana sel-sel tubuh tidak mampu memberikan respon penuh terhadap insulin, atau gangguan fungsi sekresi insulin⁶. Hiperglikemia juga menginduksi produksi *Reactive Oxydative Species* (ROS) yang meningkatkan stres oksidatif, sehingga menyebabkan ekspresi gen yang menyimpang, gangguan transduksi sinyal dan aktivasi jalur yang menyebabkan kematian sel otot jantung terprogram atau apoptosis, infiltrasi sel radang dan edema interstisial⁷. Peradangan mengakibatkan pelepasan mediator yang menyebabkan vasodilatasi, meningkatkan permeabilitas mikrovaskuler, dan menginduksi infiltrasi leukosit. Relaksasi sel otot polos pembuluh darah di arteriol serta sfingter prakapiler mengakibatkan penurunan resistensi, sehingga meningkatkan tekanan kapiler. Kondisi ini menyebabkan terjadinya edema di interstisiel⁸.

Ikan zebra telah terbukti berguna untuk memodelkan penyakit jantung manusia karena kemiripannya dengan jantung mamalia, perkembangannya yang cepat dan mudah diatur, serta metode genetik yang tersedia. Perkembangan jantung embrio berlangsung cepat dan fungsi jantung yang mudah diamati⁹.

Penelitian yang dilakukan oleh Glesson *et al.*, 2007 menunjukkan ikan zebra yang dipapar larutan 1% dan 2% selama 24 jam mengakibatkan

peningkatan kadar glukosa darah¹⁰. Selain itu penelitian yang dilakukan oleh Singh *et al.*, 2019 mengakibatkan penurunan kemampuan untuk mengubah laju transport glukosa dimana ikan zebra dipapar dengan larutan glukosa 4%¹¹. Pada Penelitian Xiao *et al.*, 2021 menyebutkan bahwa ikan zebra yang dipapar dengan 2,6-Dichloro-1,4-benzoquinone dengan dosis 0.25, 0.5, dan 1 μ m selama 4 hari menyebabkan perubahan histologi pada jantung ikan zebra seperti perdarahan kardiomyosit, edema interstisial, nekrosis sel miokard, dan kerusakan myofiber¹². Peradangan terjadi karena kondisi hiperglikemia yang berkepanjangan memicu akumulasi AGEs yang mengakibatkan sel endotel dan monosit akan memproduksi mediator inflamasi dalam jumlah yang banyak¹³. Selain itu edema interstisial pada otot jantung terjadi akibat peningkatan tekanan pembuluh darah yang lebih tinggi dari kapasitas filtrasi kapiler limfatik¹⁴.

Berdasarkan fakta-fakta tersebut diatas, maka dilakukan penelitian lebih lanjut terkait pola hiperglikemia pada ikan zebra sebagai model uji akibat induksi sukrosa. Penelitian ini dilakukan dengan cara memodifikasi penelitian sebelumnya yaitu dengan induksi sukrosa 1%, 2%, dan 4% terhadap edema interstisial dan infiltrasi sel radang otot jantung ikan zebra (*Danio rerio*) selama 28 hari.

METODE PENELITIAN

Desain, Tempat dan Waktu Penelitian

Jenis penelitian laboratorium secara *in vivo* dengan menggunakan desain penelitian *post test-only control design*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Budidaya Ikan, Divisi Reproduksi Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan (FPIK), Universitas Brawijaya, Malang untuk tahap pemeliharaan, aklimatisasi, pembedahan ikan, dan pengambilan organ jantung. Sedangkan tahap pembuatan preparate (dehidrasi, perendaman, pencetakan, pemotongan, pewarnaan, mounting), pengamatan dan skoring infiltrasi sel radang dan luas area edema interstisial dilaksanakan di Laboratorium Patologi Anatomi dan Histologi, Fakultas Kedokteran (FK), Universitas Brawijaya, Malang. Penelitian ini dilakukan pada bulan Agustus 2023 sampai Januari 2024. Penelitian ini telah memiliki surat Keterangan Layak Etik dengan No.077/LE.003/X/03/2023. Ikan zebra selanjutnya di determinasi di Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga dengan nomor determinasi 71/ULMKILP/UA.FPK/12/2023.

Perlakuan Hewan Coba

Penelitian ini menggunakan hewan coba, yaitu ikan zebra (*Danio rerio*), jantan berukuran 3-5 cm berusia 4-5 bulan dalam kondisi sehat dan tidak cacat. Ikan zebra didapatkan dari Laboratorium Budidaya Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan (FPIK), Universitas Brawijaya, Malang. Penelitian ini terdiri atas 4 kelompok yaitu kelompok normal (N), kelompok induksi sukrosa 1% (G1),

kelompok induksi sukrosa 2% (G2), dan kelompok induksi sukrosa 4% (G3). Masing-masing kelompok terdiri dari 30 ekor ikan zebra dengan 5 kali ulangan dalam 2 akuarium berisi 2L air. Air induksi diganti setiap 2 hari sekali untuk menghindari pertumbuhan bakteri atau mikroorganisme lainnya¹⁵.

Ikan zebra diaklimatisasi selama 1 minggu dengan kondisi laboratorium yang konstan dengan suhu 28°C, pencahayaan selama 14 jam, penyinaran gelap 10 jam, pakan, dan air. Pemberian pakan sebanyak 3 kali setiap hari yaitu pagi, siang, dan sore. Setelah dilakukan proses aklimatisasi, dilakukan pemberian induksi sukrosa selama 28 hari pada hewan coba. Selanjutnya diakhir perlakuan pada hari ke 29 ikan zebra dipuasakan selama 12 jam sebelum dilakukan pembedahan. Setelah itu ikan zebra dieutanasia menggunakan air dingin selama 10 menit. Kemudian setelah ikan tidak sadar, ikan dikorbankan diatas papan lalu dilakukan pembedahan untuk mengambil organ jantung ikan zebra. Selanjutnya organ jantung tersebut diblok paraffin untuk dilakukan preparasi histologi dan pewarnaan HE.

Pembuatan Preparat Histologi Otot Jantung dengan Pewarnaan Hematoxylin Eosin(HE)

Pembuatan preparate ini diawali dengan merendam organ jantung dalam formalin buffer fosfat 10% selama 1 hari. Setelah direndam, organ jantung kemudian dipotong dengan ketebalan $\pm$ 3 mm untuk dimasukkan dalam kaset dan diproses dalam mesin preparasi jaringan. Tahap berikutnya dilakukan dehidrasi selama 2 jam menggunakan alkohol 70%, 80, dan 96%. Selanjutnya kaset dijernihkan dengan cara dimasukan ke dalam xylol I, xylol II, dan xylol III.

Setelah proses penjernihan, jaringan dimasukkan 2 kali dalam paraffin cair selama 2 jam dengan suhu 56°C. Selanjutnya jaringan diambil dengan pinset dan di blok dengan paraffin. Setelah di blok, jaringan dipotong dengan mikrotom sebesar 4-5 μ m lalu biarkan mengambang di atas air dalam waterbath dan ditangkap dengan gelas objek. Kemudian jaringan dikeringkan pada suhu kamar untuk selanjutnya dilakukan pewarnaan dengan Hematoxylin Eosin (HE). Setelah dilakukan pewarnaan, preparate dibirakan mengering lalu dilakukan penempelan jaringan pada glas objek menggunakan bahan perekat¹⁶.

Perhitungan Jumlah Infiltrasi Sel Radang Otot Jantung Ikan Zebra (*D. rerio*)

Preparat otot jantung yang sudah dilakukan preparasi dan pewarnaan HE selanjutnya diamati dengan Mikroskop Trinokuler OLYMPUS BX53M dengan perbesaran 400x. Pembacaan preparat pada mikroskop pada 10 lapang pandang yang berbeda diawali dari tepi kiri, kemudian turun ke bawah dan

kembali bergeser zig-zag. Setelah itu dilakukan pengambilan gambar kemudian dihitung secara manual jumlah infiltrasi sel radang tiap lapang pandang. Perhitungan ini dilakukan oleh 3 pengamat berbeda dan dari lapang pandang yang berbeda. Kemudian hasil perhitungan 3 pengamat dalam 10 lapang pandang di rata-rata untuk mendapatkan jumlah hasilnya¹⁷. Setelah itu, perhitungan infiltrasi sel radang dalam setiap ulangan di rata-rata untuk mendapatkan data akhir dari 4 perlakuan yaitu kelompok normal (P0), kelompok induksi 1% (P1), kelompok induksi 2% (P2), dan kelompok induksi 4% (P4).

Perhitungan Luas Area Edema Interstisial Otot Jantung Ikan Zebra (*D. rerio*)

Preparat otot jantung sudah dilakukan preparasi dan pewarnaan HE lalu dilakukan pengamatan menggunakan Mikroskop OLYMPUS BX53A dengan perbesaran 400x. Selanjutnya preparate difoto dan dipindahkan ke aplikasi *Image J* untuk selanjutnya diukur luas area yang mengalami edema interstisial. Perhitungan dilakukan dengan 3 pegamat berbeda dan dari lapang pandang yang berbeda yang selanjutnya dirata-rata untuk mendapatkan jumlah hasilnya. Pengukuran pada aplikasi *imageJ* menggunakan menu *threesold* untuk pilih area yang mau diukur dan area secara keseluruhan, kemudian dengan menu *measure* untuk mendapatkan hasil luas area yang diukur¹⁷. Setelah itu dilakukan skoring kerusakan berdasarkan hasil yang didapatkan untuk menentukan tingkat kerusakan pada otot jantung ikan zebra¹⁸.

Skor Kerusakan	Nilai Kerusakan	Keterangan
0	<10	Normal
1	11-25	Ringan
2	26-50	Sedang
3	51-70	Berat
4	>70	Sangat Berat

Teknik Analisa Data

Data hasil pengamatan dianalisis menggunakan SPSS 26.0. Data awal dilakukan analisis deskriptif selanjutnya diolah dengan uji *Shapiro-wilk* untuk mengetahui normalitas dan homogenitas data. Setelah itu dilakukan uji statistik *One Away Anova* untuk membandingkan rata-rata antar kelompok dengan derajat signifikansi $p < 0,05$. Jika terdapat signifikansi maka dilanjutkan dengan menggunakan uji *tukey*.

HASIL DAN ANALISA DATA

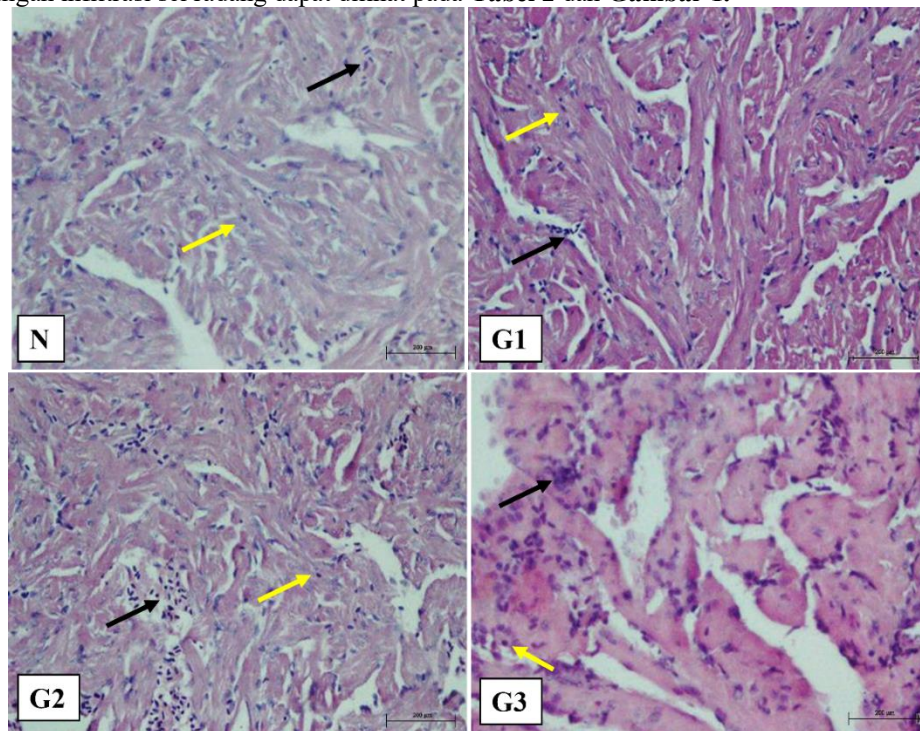
Karakteristik Hewan Coba

Karakteristik hewan coba dapat dilihat pada **Tabel 1** dibawah ini.

	Keterangan	Normal(N)	Induksi 1%(G1)	Induksi 2%(G2)	Induksi 4%(G3)
1.	Hewan Coba	Ikan zebra	Ikan zebra	Ikan zebra	Ikan zebra
2.	Jumlah hewan coba	30	30	30	30
3.	Jenis Kelamin	Jantan	Jantan	Jantan	Jantan
4.	Berat badan	3,4 gram	2,8 gram	2,8 gram	2,6 gram
5.	Umur	Fase Dewasa(4-5 bulan)	Fase Dewasa(4-5 bulan)	Fase Dewasa(4-5 bulan)	Fase Dewasa(4-5 bulan)
1.	Induksi	Tidak dilakukan induksi	Sukrosa 1%	Sukrosa 2%	Sukrosa 4%
2.	Lama Induksi	28 hari	28 hari	28 hari	28 hari
3.	Pergantian Air	2 hari sekali	2 hari sekali	2 hari sekali	2 hari sekali
4.	Kadar Gula Darah	84.17mg/dL	131.67mg/dL	137.83mg/dL	188.67mg/dL

Efek Induksi Sukrosa Terhadap Infiltrasi Sel Otot Jantung Ikan Zebra (*D. rerio*)

Hasil perhitungan infiltrasi sel radang dapat dilihat pada **Tabel 2** dan **Gambar 1**.



Gambar 1. Histopatologi Infiltrasi Sel Radang Otot Jantung Ikan Zebra dengan Pewarnaan HE dan Perbesaran 400x

Keterangan : N : Kelompok Normal, G1 : Kelompok Induksi 1%, G2 : Kelompok Induksi 2%, G3 : Kelompok Induksi 4%. Panah Kuning : Inti kardiomiosit normal, Panah Hitam : Infiltrasi sel radang.

Tabel 2. Jumlah Infiltrasi Sel Radang Otot Jantung Ikan Zebra (*D. rerio*) Pasca Induksi Sukrosa selama 28 hari

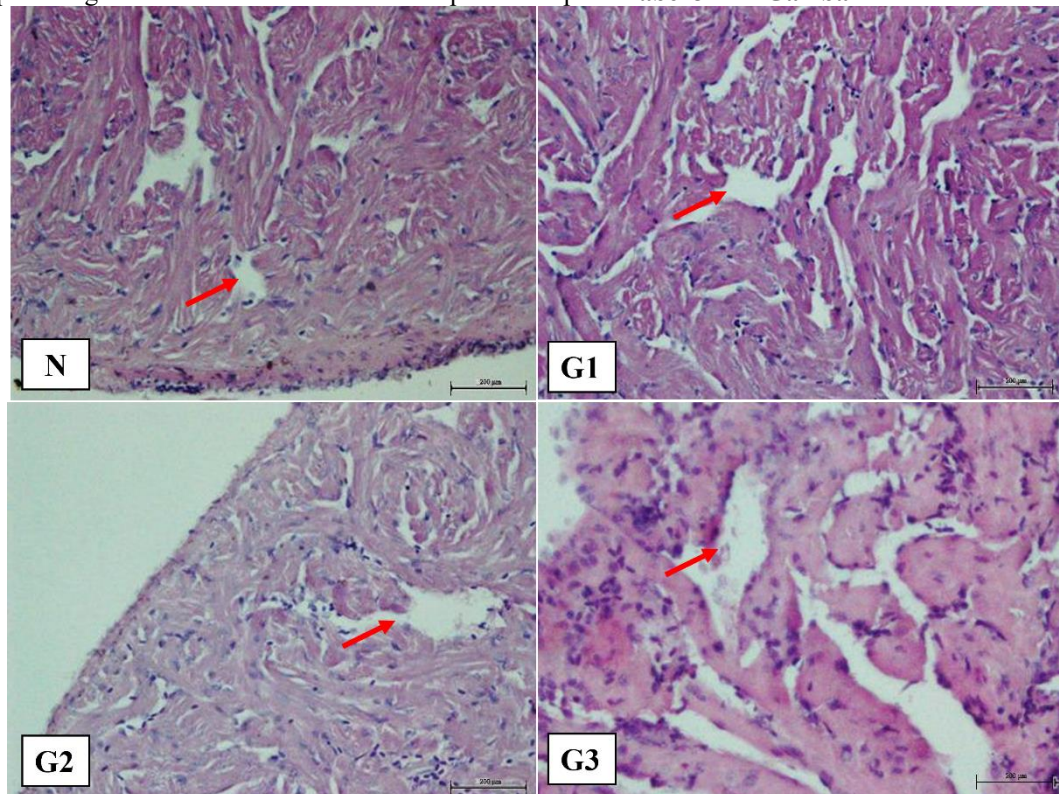
		N	Mean $\pm$ sd	Skoring
Sel Radang	N	6	12.38 $\pm$ 0.72 ^a	Normal
	G1	6	25.98 $\pm$ 2.48 ^b	Ringan
	G2	6	41.30 $\pm$ 5.42 ^c	Sedang
	G3	6	61.79 $\pm$ 3.35 ^d	Berat

Keterangan : Data dalam bentuk rata-rata $\pm$ SD dengan uji statistik *One Way Anova* dan uji Tukey. N (Normal), G1 (Induksi 1%), G2 (Induksi 2%), G3 (Induksi 4%). Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$, *Tukey Test*).

Berdasarkan hasil analisis yang dilakukan menggunakan Post Host One Way Anova dengan uji Tukey menunjukkan peningkatan jumlah sel radang yang signifikan terjadi pada G1, G2, dan G3 dibandingkan kelompok kontrol dengan ($p < 0.05$). Pada kelompok G3 didapatkan perbedaan yang signifikan dengan kelompok G1, G2, dan Normal. Antar kelompok G1 dan G2 juga didapatkan hasil perbedaan yang signifikan dengan ($p < 0.05$). Semakin besar dosis sukrosa yang diberikan akan menyebabkan peningkatan jumlah infiltrasi sel radang yang besar juga.

Efek Induksi Sukrosa Terhadap Luas Area Edema Interstitial Otot Jantung Ikan Zebra (*D. rerio*)

Hasil perhitungan luas area edema interstitial dapat dilihat pada **Tabel 3** dan **Gambar 2**.



Gambar 3. Histopatologi Luas Area Edema Interstitial Otot Jantung Ikan Zebra dengan Perbesaran 400x dan Pewarnaan HE

Keterangan : N : Kelompok Normal, G1 : Kelompok Induksi 1%, G2 : Kelompok Induksi 2%, G3 : Kelompok Induksi 4%. Panah merah : luas area edem.

Tabel 3. Rata-rata Luas Area Edema Interstitial Otot Jantung Ikan Zebra (*Danio rerio*)

		N	Mean $\pm$ sd	Skoring
Luas Area Edem	N	6	7.28 $\pm$ 2.76 ^a	Normal
	G1	6	22.56 $\pm$ 7.93 ^b	Ringan
	G2	6	36.25 $\pm$ 6.98 ^c	Sedang
	G3	6	48.22 $\pm$ 7.47 ^d	Sedang

Keterangan : Data dalam bentuk rata-rata $\pm$ SD dengan uji statistik *One Way Anova* dan uji Tukey. N (Normal), G1 (Induksi 1%), G2 (Induksi 2%), G3 (Induksi 4%). Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$, *Tukey Test*).

Hasil penelitian menunjukkan induksi sukrosa menyebabkan terjadinya peningkatan luas area edema interstitial dibandingkan kelompok normal. Peningkatan luas area edema interstitial otot jantung ikan zebra (*D. rerio*) berturut-turut adalah N 7.28 $\pm$ 2.76, G1 22.56 $\pm$ 7.93, G2 36.25 $\pm$ 6.98, G3 48.22 $\pm$ 7.47 dengan ($p < 0.05$) pada kelompok G1, G2, G3 dibandingkan kontrol. Antar kelompok perlakuan didapatkan bahwa N berbeda signifikan dibandingkan G1, G2, dan G3. Semakin tinggi dosis semakin besar persentase luas area yang mengalami edema

PEMBAHASAN

Karakteristik Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini adalah Ikan Zebra (*Danio rerio*). Ikan zebra memiliki banyak keuntungan dan cocok untuk dijadikan model hewan hiperglikemi. Berbagai keuntungan yang dimiliki seperti spesifikasi pankreas mirip mamalia¹⁹, memiliki sistem organ utama, seperti jantung yang berdetak, regulasi glukosa seperti mamalia²⁰ dan kesamaan hampir 70% dari gen manusia²¹.

Penentuan jumlah sampel berdasarkan rumus Federer 1991, dimana dari perhitungan didapatkan hasil 6 ekor. Setiap perlakuan terdiri dari 5 kali ulangan sehingga setiap perlakuan terdiri dari 30 ekor ikan zebra. Jumlah sampel yang digunakan ini untuk menghindari terjadinya *sampling error* pada penelitian.

Pada penelitian ini menunjukkan penurunan berat badan ikan zebra setelah dilakukan induksi sukrosa 1%, 2%, dan 4%. Penurunan berat badan ini merupakan gangguan metabolisme yang berhubungan dengan diabetes dan kerusakan sel Beta pankreas. Hal ini sejalan dengan penelitian²² yang menyebutkan bahwa ikan zebra yang diinduksi oleh larutan sukrosa akan mengakibatkan penurunan berat badan ikan zebra yang telah diinduksi dibandingkan ikan zebra normal.

Ikan zebra yang digunakan pada penelitian berusia 4-5 bulan. Pemilihan usia ini signifikan dengan penelitian²³ yang menyebutkan bahwa penggunaan ikan zebra umur 4-11 bulan pada metode perendaman glukosa lebih baik dibandingkan ikan zebra yang berusia 1-3 tahun. Selanjutnya penggunaan sukrosa pada penelitian ini juga mengacu pada penelitian sebelumnya yang menyebutkan bahwa pola makan yang sangat tinggi sukrosa menyebabkan banyak kelainan metabolisme, seperti obesitas, resistensi insulin, intoleransi glukosa, dan dislipidemia.

Pada penelitian ini menunjukkan terjadi peningkatan kadar glukosa darah setelah diinduksi sukrosa 1%, 2%, dan 4% selama 28 hari dalam 2L akuarium. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Eriko et., al yang menyebutkan bahwa diet tinggi sukrosa pada tikus menyebabkan peningkatan kadar glukosa pada tikus yang diberi makanan tinggi sukrosa dibandingkan tikus yang normal²⁴.

Infiltrasi Sel Radang Otot Jantung Ikan Zebra (*Danio rerio*) Pasca Induksi Sukrosa 1%, 2%, dan 4% Selama 28 hari

Penelitian ini membuktikan bahwa induksi induksi sukrosa 1%, 2%, dan 4% menyebabkan infiltrasi sel radang di otot jantung ikan zebra. Semakin tinggi kadar sukrosa yang diinduksi menyebabkan semakin tinggi jumlah infiltrasi sel radang. Hal ini sejalan dengan penelitian yang menunjukkan bahwa jika dosis sukrosa yang diinduksi oleh paparan yang diberikan semakin besar maka akan menyebabkan kondisi stres pada tikus yang memicu gangguan dalam pengendalian

kadar gula darah sehingga menyebabkan kondisi hiperglikemi.²⁴. Hiperglikemi akan memicu akumulasi AGEs yang mengakibatkan sel endotel dan monosit akan memproduksi mediator inflamasi dalam jumlah yang banyak¹⁴. Hasil penelitian yang dilakukan oleh (Salsabil, 2024) menunjukkan bahwa induksi sukrosa 2 dan 4 % meningkatkan kadar glukosa darah puasa sebesar 25% dan 35%²⁵.

Kondisi hiperglikemi menyebabkan peningkatan ROS yang akan merusak DNA sehingga terjadi aktivasi *Poly(ADP-Ribose) Polymerase* (PARP). Aktivasi PARP akan mengakibatkan peningkatan jalur polioliol dan heksosamin melalui penghambatan *Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase* (GAPDH). Peningkatan jalur tersebut dapat menyebabkan glikasi nonenzimatis yang tinggi, AGEs yang berlebihan, stres oksidatif, dan sintesis diacylglycerol (DAG), yang mengaktifkan NFκB melalui aktivasi protein kinase C (PKC). Efek dari proses tersebut akan mengakibatkan stimulasi dari gen proinflamasi untuk melepaskan TNF-α dan IL-1β sebagai mediator inflamasi¹⁴.

Selain itu setelah terjadinya inflamasi, respon imun bawaan diaktifkan melalui pengenalan oleh *Toll-Like Receptor* (TLR), *Pathogen-associated molecular pattern molecules* (PAMPs), dan *Damage-Associated Molecular Pattern Molecular* (DAMPs). Sel imun bawaan dan sel jantung yang teraktivasi melepaskan sitokin, kemokin, interferon, dan alarmin, yang menyebabkan aktivasi lebih lanjut dan penempatan sel imun bawaan ke jantung, termasuk sel mast, neutrofil, sel dendritik, monosit, dan makrofag. Aktivasi sistem imun bawaan yang berlebihan atau terus-menerus dapat menyebabkan proses inflamasi berlebihan dan/atau kronis yang memicu kerusakan dan remodeling miokard, yang berpuncak pada disfungsi jantung²⁶.

Antar kelompok perlakuan didapatkan bahwa P0 tidak berbeda dengan G1 namun berbeda signifikan dibandingkan G2 dan G3. Semakin tinggi dosis semakin besar persentase jumlah sel yang mengalami infiltrasi sel radang. Penelitian yang dilakukan oleh Eriko et al., 2012 juga menunjukkan jika dosis paparan yang diberikan semakin besar maka akan menyebabkan kondisi stress pada tikus yang memicu gangguan pada pengontrolan kadar gula darah sehingga menyebabkan terjadinya kondisi hiperglikemi²⁴. Hiperglikemi akan memicu akumulasi AGEs yang mengakibatkan sel endotel dan monosit akan memproduksi mediator inflamasi dalam jumlah yang banyak¹³.

Luas Area Edema Interstitial Otot Jantung Ikan Zebra (*Danio rerio*) Pasca Induksi Sukrosa 1%, 2%, dan 4% Selama 28 hari

Pada penelitian ini menunjukkan bahwa kelompok normal mempunyai luas area edem interstitial yang berbeda signifikan dengan kelompok 1%, 2%, dan 4%. Hiperglikemi

menyebabkan peningkatan produksi ROS, yang menyebabkan aterosklerosis. Aterosklerosis terjadi melalui berbagai jalur, seperti aktivasi dari jalur poliol, jalur PKC, dan jalur heksosamin, serta akumulasi AGEs dengan ekspresi *Receptor for Advanced Glycation End Products* (RAGE) yang meningkat. Dalam kebanyakan kasus, ion superoksida bereaksi dengan NO untuk membentuk peroksinitrit, yang merupakan zat pengoksidasi sebagai penghambat prostasiklin (PGI₂). Prostasiklin (PGI₂) yang terhambat ini menyebabkan disfungsi endotel melalui peningkatan endoperoksida (PGH₂)²⁷.

Penelitian Schochet dan Jialal (2023) menyebutkan pada keadaan disfungsi endotel terjadi peningkatan permeabilitas pada endotel dimana permeabilitas dinding kapiler meningkat yang mengakibatkan peningkatan filtrasi kapiler¹⁴. Selain itu, koefisien protein di dinding kapiler menurun sehingga mempersempit perbedaan antara tekanan onkotik kapiler dan tekanan onkotik dibawah glikokaliks endotel. Ketidakseimbangan dari aliran pembuluh darah yang tinggi oleh kapasitas filtrasi kapiler limfatik yang menyebabkan terjadinya edema⁸.

Antar kelompok perlakuan didapatkan perbedaan yang signifikan antara G1, G2, dan G3. Semakin tinggi dosis semakin besar persentase luas area yang mengalami edema. Hal tersebut karena terjadi peningkatan tekanan pembuluh darah yang lebih tinggi dari kapasitas filtrasi kapiler limfatik yang menyebabkan peningkatan cairan interstisial yang tidak normal sehingga terjadi edem⁸.

SIMPULAN DAN SARAN

Induksi sukrosa 4% menyebabkan terjadinya kerusakan sel jantung ikan zebra yang lebih tinggi dibandingkan induksi sukrosa 1% dan 2% yang ditandai dengan adanya infiltrasi sel leukosit sebesar 61.79 ± 3.3 dan luas area edema interstisial sebesar $(43.965.33 \pm 6595.60)$ dibandingkan normal.

Keberhasilan penelitian ini menjadikan ikan zebra (*D. rerio*) sebagai hewan model hiperglikemia, maka kedepan dapat dikembangkan penelitian untuk menguji efektifitas suatu senyawa aktif dari herbal yang mempunyai potensi menurunkan kadar glukosa darah, menghambat infiltrasi sel radang dan edema interstisial otot jantung ikan zebra (*D. rerio*) yang diinduksi sukrosa 4%.

DAFTAR PUSTAKA

1. Fessenden RJ, Fessenden JS. Kimia Organik Jilid II. 3rd ed. Erlangga; 1986.
2. Skovsø S. Modeling type 2 diabetes in rats using high fat diet and streptozotocin. Vol. 5, Journal of Diabetes Investigation. Blackwell Publishing; 2014. p. 349–58.
3. Haq HN, Rosidah A, Damayanti DS. Effect Soursop (*Annona muricata* L.) Leaf Aqueous

Extract (SLAE) on Remodeling of Ventricle Heart Tissue in Obesity Rats Model. Nusantara Science and Technology Proceedings. 2022 Mar 21;11–9.

4. Misnadiarly. Diabetes Mellitus: Ulcer, Infeksi, Ganggren. Jakarta: Pustaka Populer Obor; 2006.
5. World Health Organization. CLASSIFICATION OF DIABETES MELLITUS 2019 Classification of diabetes mellitus [Internet]. 2019. Available from: <http://apps.who.int/bookorders>.
6. Rosa Tiurma J. 354 HIGEIA 5 (3) (2021) HIGEIA JOURNAL OF PUBLIC HEALTH RESEARCH AND DEVELOPMENT Obesitas Sentral dengan Kejadian Hiperglikemia pada Pegawai Satuan Kerja Perangkat Daerah. 2021; Available from: <http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/higeia>
7. Zhi YF, Prins JB, Marwick TH. Diabetic cardiomyopathy: Evidence, mechanisms, and therapeutic implications. Vol. 25, Endocrine Reviews. 2004. p. 543–67.
8. Kiseleva DG, Kirichenko T V., Markina Y V., Cherednichenko VR, Gugueva EA, Markin AM. Mechanisms of Myocardial Edema Development in CVD Pathophysiology. Biomedicines [Internet]. 2024 Feb 19;12(2):465. Available from: <https://www.mdpi.com/2227-9059/12/2/465>
9. Narumanchi S, Wang H, Perttunen S, Tikkanen I, Lakkisto P, Paaavola J. Zebrafish Heart Failure Models. Vol. 9, Frontiers in Cell and Developmental Biology. Frontiers Media S.A.; 2021.
10. Gleeson M, Connaughton V, Arneson LS. Induction of hyperglycaemia in zebrafish (*Danio rerio*) leads to morphological changes in the retina. Acta Diabetol. 2007 Sep;44(3):157–63.
11. Singh A, Castillo HA, Brown J, Kaslin J, Dwyer KM, Gibert Y. High glucose levels affect retinal patterning during zebrafish embryogenesis. Sci Rep. 2019 Dec 1;9(1).
12. Xiao C, Wang C, Zhang Q, Yang X, Huang S, Luo Y, et al. Transcriptomic analysis of adult zebrafish heart and brain in response to 2, 6-dichloro-1, 4-benzoquinone exposure. Ecotoxicol Environ Saf. 2021 Dec 15;226.
13. Brownlee M. The Pathobiology of Diabetic Complications A Unifying Mechanism [Internet]. Banting Lecture. 2004. Available from:

- <http://diabetesjournals.org/diabetes/article-pdf/54/6/1615/381945/zdb00605001615.pdf>
14. Schochet DL, Jialal I. Physiology, Edema. StatPearls Publishing; 2023.
 15. Dorsemans AC, Lefebvre d'hellencourt C, Ait-Arsa I, Jestin E, Meilhac O, Diotel N. Acute and chronic models of hyperglycemia in zebrafish: A method to assess the impact of hyperglycemia on neurogenesis and the biodistribution of radiolabeled molecules. *Journal of Visualized Experiments*. 2017 Jun 26;
 16. Meng XH, Chen B, Zhang JP. Intracellular insulin and impaired autophagy in a zebrafish model and a cell model of type 2 diabetes. *Int J Biol Sci*. 2017;13(8):985–95.
 17. Nurholis, Choirul Umam, Mohammad Syaffi, Erika Nor Damayanti, Syaifullah, Dery Anugerah Dermawan, et al. Penerapan Metode Digital Untuk Mengukur Indeks Luas Daun Tanaman Sawi Caisim (*Brassica Juncae L.*). 2023 Apr 27;4(1):8–15.
 18. Klopffleisch R. Multiparametric and semiquantitative scoring systems for the evaluation of mouse model histopathology - a systematic review. *BMC Vet Res*. 2013 Jun 21;9.
 19. Zon LI, Peterson RT. In vivo drug discovery in the zebrafish. Vol. 4, *Nature Reviews Drug Discovery*. 2005. p. 35–44.
 20. Jurczyk A, Roy N, Bajwa R, Gut P, Lipson K, Yang C, et al. Dynamic glucoregulation and mammalian-like responses to metabolic and developmental disruption in zebrafish. *Gen Comp Endocrinol*. 2011 Jan 15;170(2):334–45.
 21. Howe K, Clark MD, Torroja CF, Torrance J, Berthelot C, Muffato M, et al. The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. *Nature*. 2013 Apr 25;496(7446):498–503.
 22. Ranjan S, Kumar Sharma P. Development of High Sugar Induced Hyperglycemia or Type 2 Diabetes in Zebrafish (*Danio rerio*) Model. 2018; Available from: <https://www.researchgate.net/publication/330521116>
 23. Connaughton VP, Baker C, Fonde L, Gerardi E, Slack C. Alternate Immersion in an External Glucose Solution Differentially Affects Blood Sugar Values in Older Versus Younger Zebrafish Adults. *Zebrafish*. 2016 Apr 1;13(2):87–94.
 24. Sakamoto E, Seino Y, Fukami A, Mizutani N, Tsunekawa S, Ishikawa K, et al. Ingestion of a moderate high-sucrose diet results in glucose intolerance with reduced liver glucokinase activity and impaired glucagon-like peptide-1 secretion. *J Diabetes Investig*. 2012 Oct;3(5):432–40.
 25. Salsabil A. Hiperglikemi dan Kerusakan Pankreas yang di Induksi Sukrosa. 2024;
 26. Heymans S, Eriksson U, Lehtonen J, Cooper LT. The Quest for New Approaches in Myocarditis and Inflammatory Cardiomyopathy. Vol. 68, *Journal of the American College of Cardiology*. Elsevier USA; 2016. p. 2348–64.
 27. Siracuse JJ, Chaikof EL. The pathogenesis of diabetic atherosclerosis. In: *Diabetes and Peripheral Vascular Disease: Diagnosis and Management*. Humana Press Inc.; 2012. p. 13–26.