

PENGARUH KONSENTRASI SUKROSA TERHADAP DERAJAT INFLAMASI DAN LUAS KERUSAKAN VILI INTESTINAL IKAN ZEBRA (*Danio rerio*)

Tsabita Syahda Nabila, Yoyon Arif Martino, Dini Sri Damayanti*
Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Asupan sukrosa berlebih dapat menyebabkan terjadinya hiperglikemia yang dapat berdampak pada gangguan fungsi epitel *barrier* di intestinal. Penelitian bertujuan untuk membuktikan pengaruh konsentrasi induksi sukrosa terhadap kerusakan vili intestinal dan derajat inflamasi pada ikan zebra (*Danio rerio*).

Metode: Penelitian dilakukan di laboratorium menggunakan *post-test group control design*. Hewan coba yang digunakan untuk menjadi sampel penelitian yaitu *Danio rerio* jantan berusia 4-5 bulan yang dikelompokkan menjadi kelompok kontrol (N) dan kelompok perlakuan induksi sukrosa 1% (G1), 2% (G2), dan 4% (G3). Proses induksi sukrosa dilakukan selama 28 hari dan penggantian air setiap 2 hari sekali. Pada akhir penelitian ikan zebra dipuasakan selama 10 jam, lalu dieuthanasia dengan merendam *Danio rerio* ke air bersuhu 16°C selama 10 menit. Selanjutnya dilakukan pembedahan dan diambil organ intestinal untuk pembuatan preparat histologi dengan pewarnaan HE. Penghitugan derajat inflamasi dilakukan secara manual dan luas area vili intestinal yang mengalami kerusakan diukur menggunakan *software ImageJ*. Data hasil dianalisa menggunakan *One-Way Anova*, dengan tingkat signifikansi $p < 0.05$ yang dilanjutkan dengan uji *tukey*.

Hasil: Induksi sukrosa selama 28 hari pada kelompok perlakuan dapat menyebabkan peningkatan derajat inflamasi sebesar G1 (30%), G2 (44%), dan G3 (58%) dibandingkan dengan kelompok kontrol sebesar N (14%) dengan $p < 0.05$, dan peningkatan luas area kerusakan vili intestinal sebesar $0.064 \pm 0.018 \mu\text{m}^2$; $0.094 \pm 0.007 \mu\text{m}^2$; $0.120 \pm 0.016 \mu\text{m}^2$ dibandingkan dengan kelompok N sebesar $0.027 \pm 0.012 \mu\text{m}^2$ dengan $p < 0.05$. Semakin tinggi konsentrasi sukrosa yang diberikan, semakin besar efek yang ditimbulkan pada organ.

Kesimpulan: Induksi sukrosa pada semua konsentrasi menyebabkan peningkatan derajat inflamasi dan luas kerusakan pada vili intestinal. Kerusakan terbesar terjadi pada induksi sukrosa 4%

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

*Koresponden: Dr. dr. Dini Sri Damayanti, M.Kes (dinisridamayanti@unisma.ac.id)

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

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

THE EFFECT OF SUCROSE CONCENTRATION ON THE DEGREE OF INFLAMMATION AND EXTENT OF INTESTINAL VILLI DAMAGE IN ZEBRAFISH (*Danio rerio*)

Tsabita Syahda Nabila, Yoyon Arif Martino, Dini Sri Damayanti*
Faculty of Medicine, University of Islam Malang

ABSTRACT

Introduction: Excess sucrose intake can cause hyperglycemia which can have an impact on the disruption of epithelial barrier function in the intestine. The study aims to prove the effect of sucrose induction concentration on damage to intestinal villi and the degree of inflammation in *Danio rerio* (zebrafish).

Method: The research was conducted in the laboratory using a *post-test group control design*. Experimental animals used to be research samples are *Danio rerio* males aged 4-5 months which are grouped into normal control groups (N) and sucrose induction treatment groups of 1% (G1), 2% (G2), and 4% (G3). The sucrose induction process in *Danio rerio* was carried out for 28 days and water changes every 2 days. At the end of the study, zebrafish were fed for 10 hours, then euthanized by immersing *Danio rerio* in water at 16°C for 10 minutes. Subsequently, intestinal organs were dissected and taken to make histology preparations with HE staining. Calculation of the degree of inflammation was done manually and the area of damaged intestinal villi was measured using *ImageJ* software. Data results were analyzed using *One-Way Anova*, with a significance level of $p < 0.05$ followed by the *Tukey* test.

Results: Sucrose induction for 28 days in the treatment group can cause an increase in the degree of inflammation by G1 (30%), G2 (44%), and G3 (58%) compared to the control group of N (13%) with $p < 0.05$, and an increase in the area of intestinal villi damage by $0.064 \pm 0.018 \mu\text{m}$; $0.094 \pm 0.007 \mu\text{m}$; $0.120 \pm 0.016 \mu\text{m}$ compared to the N group of $0.027 \pm 0.012 \mu\text{m}$ with $p < 0.05$. The higher the concentration of sucrose given, the greater the effect on the organ.

Conclusion: Sucrose induction at all concentrations caused an increase in the degree of inflammation and the extent of damage to the intestinal villi. The greatest damage occurred at 4% sucrose induction.

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

*Correspondence: Dr. dr. Dini Sri Damayanti, M.Kes (dinisridamayanti@unisma.ac.id)

Faculty of Medicine, University of Islam Malang

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

PENDAHULUAN

Konsumsi gula, terutama sukrosa, dalam pola makan modern terus meningkat dan telah dikaitkan dengan berbagai gangguan metabolik, seperti diabetes melitus dan inflamasi kronis pada saluran cerna¹. Dalam usus halus, enzim sukrosa-isomaltase mencerna sukrosa, yang merupakan disakarida yang terdiri dari glukosa dan fruktosa². Produk glukosa dan fruktosa tersebut sebagian besar diserap, sementara sisanya dapat mencapai usus besar dan menyebabkan disbiosis mikrobiota yang berujung pada inflamasi usus³. Gangguan inflamasi kronis usus diketahui dapat menyebabkan kerusakan struktural, termasuk kerusakan pada vili intestinal yang penting untuk fungsi pencernaan dan absorpsi nutrisi⁴.

Untuk memahami mekanisme efek sukrosa pada usus, penelitian biomedis membutuhkan model hewan yang mampu merepresentasikan patologi manusia secara akurat untuk memahami mekanisme penyakit, termasuk gangguan metabolik seperti diabetes dan inflamasi usus. Salah satu hewan model yang semakin populer dalam penelitian biomedis adalah ikan zebra (*Danio rerio*)⁵. Ikan zebra memiliki berbagai keunggulan sebagai model penelitian, seperti genetik yang serupa dengan manusia, dengan 70% genomnya homolog terhadap manusia, dan 84% gen yang terkait penyakit manusia juga terdapat pada ikan zebra⁶.

Ikan zebra (*Danio rerio*) juga mempunyai sistem fisiologis yang mirip dengan mamalia, termasuk sistem pencernaan, jantung, dan saraf⁷. Selain memiliki kemiripan sistem organ, tetapi mereka juga memiliki struktur histologis usus yang serupa dengan mamalia. Ini membuat ikan zebra (*Danio rerio*) sebagai model yang sempurna untuk studi metabolisme dan inflamasi⁸. Selain itu, ikan zebra murah dan mudah diperoleh, memiliki siklus hidup yang cepat, dan tubuhnya transparan selama fase larva, yang membuatnya mudah diamati⁹.

Dalam konteks penelitian gangguan metabolik, penggunaan ikan zebra sebagai model untuk induksi sukrosa bertujuan untuk memahami dampak konsumsi gula tinggi terhadap sistem pencernaan, khususnya usus. Sukrosa, yang dipecah menjadi glukosa dan fruktosa di usus halus, telah dikaitkan dengan disbiosis mikrobiota, penurunan produksi Short-Chain Fatty Acids (SCFA), dan peningkatan inflamasi usus¹⁰. Pada ikan zebra, penelitian tentang efek diet tinggi gula telah menunjukkan bahwa inflamasi kronis dapat menyebabkan kerusakan pada struktur vili intestinal, termasuk disintegrasi epitel dan atrofi vili⁴.

Penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Gleeson, *et al.* (2007) dan Carnovali, *et al.* (2016) menunjukkan bahwa induksi gula, termasuk glukosa dan sukrosa pada ikan zebra dapat menyebabkan perubahan histologi intestinal, termasuk inflamasi dan kerusakan vili intestinal.

Dengan menggunakan ikan zebra sebagai model, efek konsentrasi sukrosa yang berbeda dapat dianalisis untuk memahami hubungan antara tingkat inflamasi dan kerusakan struktural usus. Penelitian ini penting untuk mengembangkan pemahaman tentang mekanisme molekuler inflamasi kronis dan potensial dampaknya pada kesehatan manusia.

METODE PENELITIAN

Desain, Tempat, Waktu, Kode Etik Penelitian

Jenis penelitian laboratorium dilakukan secara *in vivo* dengan menggunakan desain penelitian "*posttest-only control*". Tahap pemeliharaan, aklimatisasi, pemeriksaan kadar glukosa darah, pembedahan ikan uji, dan fiksasi dilaksanakan di Laboratorium Budidaya Ikan, Divisi Reproduksi Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan (FPIK), Universitas Brawijaya, Malang. Tahap dehidrasi, perendaman, pencetakan, pemotongan, pewarnaan, mounting, pengamatan dan skoring jaringan dilaksanakan di Laboratorium Patologi Anatomi dan Histologi, Fakultas Kedokteran (FK), Universitas Brawijaya, Malang. Penelitian akan dilaksanakan 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 *Danio Rerio* Sebagai Hewan Coba

Penelitian ini menggunakan ikan zebra (*Danio rerio*) jantan berusia 4-5 bulan (fase dewasa yang sehat). Ikan zebra didapatkan dari Laboratorium Budidaya Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan (FPIK), Universitas Brawijaya, Malang. Ikan zebra berjenis kelamin jantan memiliki ciri warna yang lebih cerah daripada ikan zebra betina, perut yang ramping, dan gerak yang sangat gesit. Penelitian ini terdiri atas 4 kelompok yaitu kelompok kontrol (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 akuarium yang berisi 2L air. Penggantian air induksi dilakukan setiap 2 hari sekali untuk menghindari pertumbuhan bakteri atau mikroorganisme yang tidak diharapkan¹¹.

Ikan zebra dilakukan proses aklimatisasi di laboratorium dalam kondisi penyinaran gelap selama 10 jam, suhu air 28°C, dan diberi pakan pelet 3 kali setiap hari: pagi, siang, dan sore. Setelah dilakukan proses aklimatisasi, air akuarium yang berisi ikan zebra diinduksi dengan larutan sukrosa selama 28 hari. Selama proses penginduksian, ikan zebra tetap diberi makan supaya hasil pengamatan yang didapatkan murni berasal dari efek sukrosa, bukan dari stres maupun defisiensi nutrisi¹². Pada hari terakhir (hari ke-29),

ikan zebra dipuasakan selama lebih dari 12 jam yang selanjutnya hewan coba akan dieuthanasia menggunakan air dingin bersuhu 16°C selama 10 menit. Setelah ikan zebra tidak sadar, ikan dilakukan pembedahan dengan cara ikan zebra diletakkan di atas papan bedah serta bagian ekor dan badan ditusuk dengan jarum supaya mempermudah pembedahan. Kemudian dilakukan pengambilan organ intestinal ikan zebra. Selanjutnya, organ tersebut diblok dengan paraffin untuk dilakukan preparasi histologi dengan pewarnaan HE.

Pembuatan Preparat Histologi Intestinal dengan Pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE)

Untuk membuat preparat, organ usus direndam dalam buffer formalin fosfat 10% selama 24 jam. Setelah organ intestinal dilakukan perendaman, organ diiris dengan ketebalan ± 3 mm agar dapat dimasukkan ke dalam kaset dan diproses dalam pemrosesan *tissue processor*. Organ intestinal yang berada di dalam kaset selanjutnya didehidrasi menggunakan alkohol 70%, 80%, dan 96% selama 2 jam. Kemudian dijernihkan dengan memasukkan kaset ke dalam xylol 1, xylol II, dan xylol III.

Setelah proses penjernihan selesai, jaringan dimasukkan 2 kali ke dalam paraffin cair pada suhu 56°C selama 2 jam. Setelah itu, jaringan diambil dengan pinset dan diblok dengan paraffin. Jaringan yang telah diblok selanjutnya dilakukan pemotongan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4-5 μm . Setelah jaringan dipotong dan dikembangkan di atas air dalam *waterbath*, gunakan gelas objek untuk menangkapnya. Kemudian, jaringan dikeringkan pada suhu kamar untuk diwarnai dengan Hematoxylin Eosin (HE). Setelah dilakukan pewarnaan, preparat dikeringkan dan dilakukan mounting dengan lem¹³.

Perhitungan Derajat Inflamasi Vili Intestinal

Preparat vili usus yang telah diamati dengan menggunakan Mikroskop Trinokuler Olympus IX53 dengan perbesaran 400x akan dilakukan pengambilan gambar menggunakan alur zig-zag yang kemudian jumlah infiltrasi sel radang dihitung secara manual. Perhitungan dilakukan dengan memilih sel radang kronik yang berbentuk oval atau bilobed, ukuran 12-15 μm , inti bilobus berwarna gelap, dan mengandung granula eosinofilik berwarna merah muda terang pada pewarnaan HE¹⁴. Selain menghitung jumlah sel radang, perhitungan sel epitelial normal juga dilakukan untuk mengukur derajat inflamasi pada vili intestinal. Perhitungan dilakukan oleh 3 orang pengamat yang berbeda untuk menghilangkan bias. Kemudian, data hasil perhitungan akan dimasukkan ke dalam tabel *dummy table*. Hasil perhitungan dari 3 orang pengamat akan dilakukan perhitungan rata-

rata kelompok untuk mendapatkan jumlah hasilnya¹⁵. Selanjutnya, perhitungan derajat inflamasi dapat dilakukan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$(\%) = \frac{a}{b} \times 100\%$$

Rumus 1. Proporsi perhitungan sel radang pada intestinal

Keterangan: a = sel radang kronis dalam 1 lapang pandang. b = sel epitelial normal dalam 1 lapang pandang

Perhitungan Luas Area Kerusakan Vili Intestinal

Preparat intestinal sudah dilakukan preparasi dan pewarnaan HE selanjutnya diamati dengan Mikroskop Trinokuler OLYMPUS IX53 dengan perbesaran 400x. Selanjutnya preparat difoto dan dipindahkan ke aplikasi *ImageJ*. Selanjutnya dilakukan perhitungan luas area kerusakan intestinal dengan mengukur area vili intestinal yang mengalami disintegrasi jaringan epitel. Pengukuran luas area kerusakan intestinal dilakukan oleh 3 orang pengamat yang berbeda untuk menghilangkan bias. Penghitungan pada aplikasi *ImageJ* menggunakan menu biner untuk memilih area yang yang hendak diukur. Area yang dipilih merupakan jaringan epitel yang mengalami disintegrasi dengan melihat struktur vili yang ada di sampingnya untuk memastikan bahwa kerusakan epitel bukan dari kesalahan pada proses pemotongan. kemudian pilih menu *measure* untuk mengetahui hasil luas area yang diukur. Hasil pengukuran dari tiap pengamat dirata-rata untuk mendapatkan hasilnya. Selanjutnya, perhitungan luas area kerusakan vili intestinal dapat dilakukan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$(\%) = \frac{a}{b} \times 100\%$$

Rumus 1. Proporsi perhitungan luas area kerusakan vili intestinal

Keterangan: a = Luas area vili yang mengalami disintegrasi epitel dalam 1 lapang pandang. b = Luas area vili intestinal dalam 1 lapang pandang

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 Way Anova* untuk perbedaan antar kelompok dengan derajat signifikansi $p < 0,05$. Hasil perbandingan antara masing – masing kelompok setelah dilakukan uji *One Way Anova* jika terdapat signifikansi maka dilanjutkan dengan menggunakan uji *tukey*.

HASIL DAN ANALISA DATA

Karakteristik Hewan Coba *D. rerio*

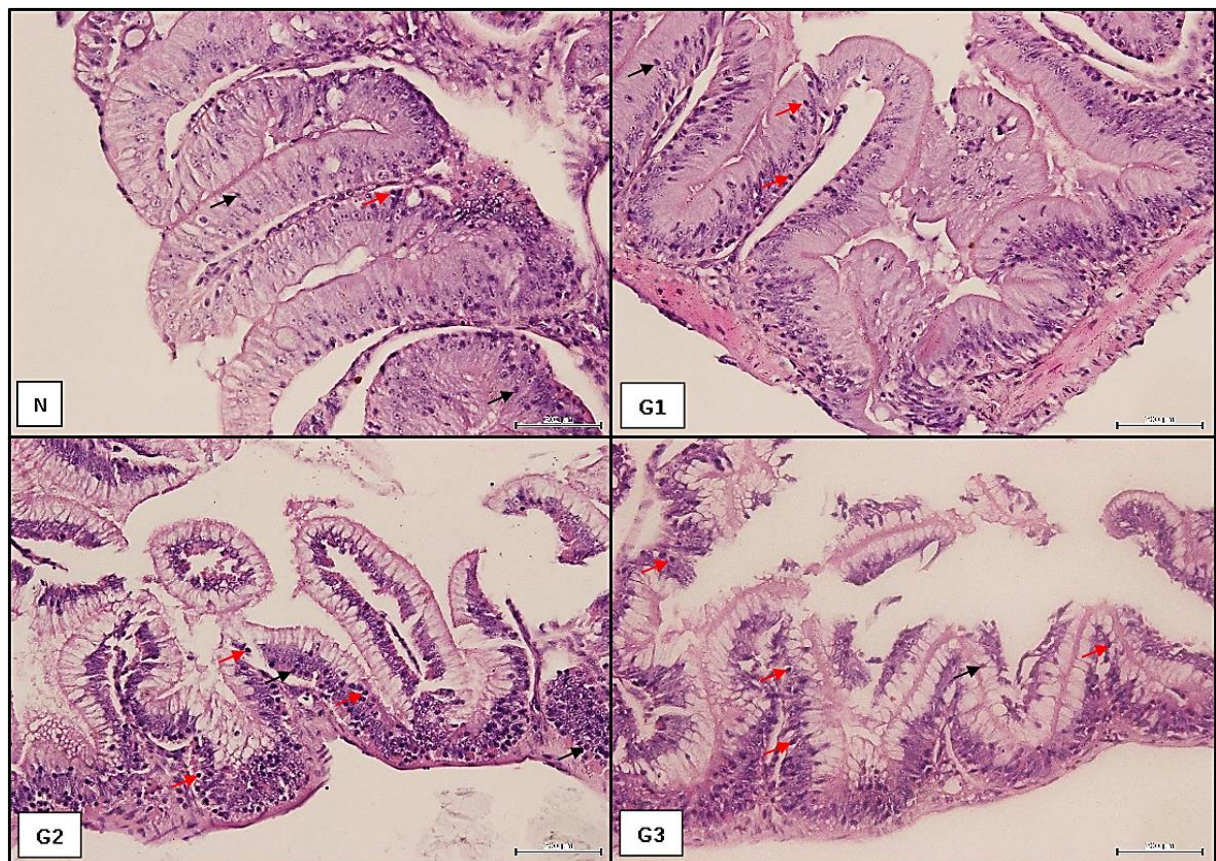
Karakteristik hewan coba dapat dilihat pada **Tabel 1**

Tabel 1. Karakteristik Hewan Coba

	N	G1	G2	G3
Konsentrasi	0%	1%	2%	4%
Populasi	Ikan zebra	Ikan zebra	Ikan zebra	Ikan zebra
Jumlah (Ekor)	30	30	30	30
Jenis Kelamin	Jantan	Jantan	Jantan	Jantan
Usia	4-5 Bulan	4-5 Bulan	4-5 Bulan	4-5 Bulan
Durasi	28 Hari	28 Hari	28 Hari	28 Hari

Efek Induksi Sukrosa Terhadap Derajat Inflamasi Vili Intestinal

Hasil perhitungan derajat inflamasi vili intestinal dapat dilihat pada **Gambar 1** dan **Tabel 2**



Gambar 1. Histopatologi Infiltrasi Sel Radang Vili Intestinal Ikan Zebra (*Danio rerio*) dengan Perbesaran 400x dan Pewarnaan HE

Keterangan: N : Kelompok Normal (tanpa induksi), G1 : Kelompok Induksi 1%, G2 : Kelompok Induksi 2%, G3 : Kelompok Induksi 4%. Panah Hitam : Sel epitelial normal, Panah Merah : Infiltrasi sel radang kronis

Tabel 2. Rata-Rata Jumlah Infiltrasi Sel Radang dan Luas Area Kerusakan Vili Intestinal Ikan Zebra (*D.rerio*) Pasca Induksi Sukrosa Selama 28 Hari

Kelompok	N	Derajat Inflamasi	Luas Area Kerusakan
		Mean $\pm$ sd (%)	Mean $\pm$ sd (μm^2)
N	6	13.756 $\pm$ 1.56	0.028 $\pm$ 0.011
G1	6	30.106 $\pm$ 4.201	0.078 $\pm$ 0.017
G2	6	44.328 $\pm$ 4.871	0.085 $\pm$ 0.015
G3	6	58.456 $\pm$ 5.270	0.114 $\pm$ 0.019

Pada histopatologi vili intestinal ikan zebra yang dapat dilihat pada **Gambar 1** terdapat sel goblet normal (panah hitam) dan sel radang (panah merah). Pada gambar jika dibandingkan dengan

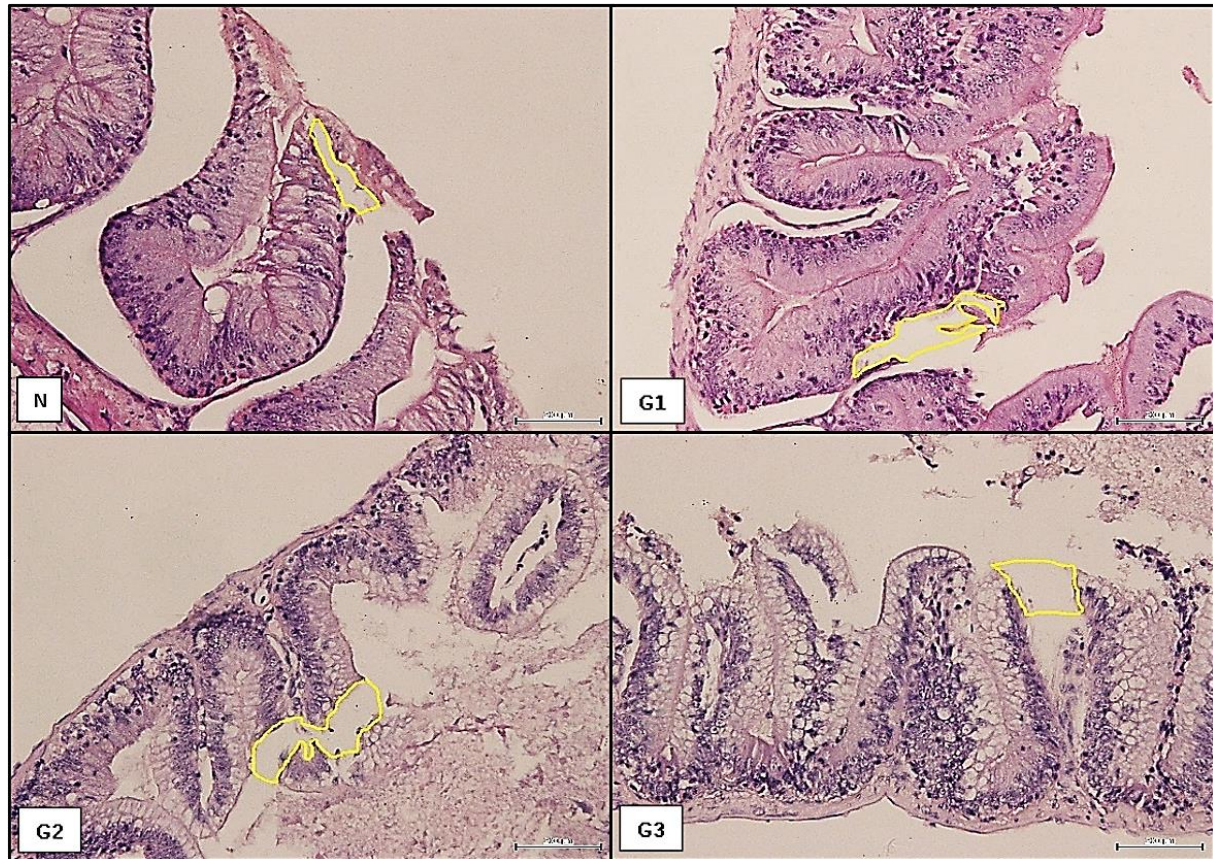
kelompok normal dan kelompok perlakuan induksi sukrosa 1%, 2%, dan 4% didapatkan peningkatan jumlah infiltrasi sel radang. Hasil penelitian menunjukkan bahwa induksi sukrosa dapat

menyebabkan peningkatan jumlah infiltrasi sel radang pada vili intestinal ikan zebra (*D.rerio*) dibandingkan N $p < 0,05$. Peningkatan jumlah infiltrasi sel radang pada vili intestinal ikan zebra (*D.rerio*) berturut-turut adalah 16%, 30%, dan 44% pada kelompok G1, G2, G3 dibandingkan dengan kelompok kontrol N.

Efek Induksi Sukrosa Terhadap Luas Area Kerusakan Vili Intestinal Ikan Zebra (*D.rerio*)

Hasil perhitungan luas area kerusakan vili intestinal ikan zebra (*D.rerio*)

Berdasarkan data yang terdapat pada **Tabel 2**, didapatkan bahwa N berbeda signifikan dengan kelompok G1, G2, dan G3. Semakin tinggi konsentrasi sukrosa, semakin besar persentase jumlah sel yang mengalami peradangan.



Gambar 2. Histopatologi Luas Area Kerusakan Vili Intestinal Ikan Zebra (*Danio rerio*) dengan Perbesaran 400x dan Pewarnaan HE

Keterangan: N : Kelompok Normal (tanpa induksi), G1 : Kelompok Induksi 1%, G2 : Kelompok Induksi 2%, G3 : Kelompok Induksi 4%. Garis kuning : luas area kerusakan (struktur vili intestinal yang mengalami disintegrasi epitel)

Pada histopatologi intestinal yang dapat dilihat pada **Gambar 2** didapatkan peningkatan luas area kerusakan vili intestinal pada kelompok induksi 1%, 2%, dan 4% secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hasil Analisa data yang dapat dilihat pada **Tabel 2** menunjukkan bahwa induksi sukrosa menyebabkan terjadinya peningkatan luas area kerusakan vili intestinal pada ikan zebra (*D.rerio*) yaitu 5%, 6%, dan 9% pada kelompok G1, G2, dan G3 dibandingkan kelompok normal. Berdasarkan data, antara kelompok kontrol (normal) dengan kelompok perlakuan (G1, G2, G3) didapatkan hasil yang signifikan. Semakin tinggi kadar sukrosa, semakin besar persentase luas area kerusakan pada vili intestinal.

PEMBAHASAN

Karakteristik Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini yaitu ikan zebra (*Danio rerio*) dewasa untuk melihat derajat inflamasi dan luas area kerusakan pada vili intestinal ikan zebra. Ikan zebra (*Danio rerio*) telah menjadi salah satu model penting dalam penelitian biomedis dan fisiologi. Keunggulan utama dari ikan ini adalah embrionya yang transparan, memungkinkan pengamatan perkembangan organ secara langsung, serta kemampuan reproduksi yang tinggi, dimana ikan betina dapat menghasilkan ratusan telur setiap minggu¹⁶. Selain itu, ikan zebra memiliki kesamaan genom dengan manusia hingga 80%, menjadikannya model yang relevan untuk penelitian penyakit manusia¹⁷. Penelitian ini

menganut rumus Federer (1991) dengan menggunakan sampel sebanyak 6 ekor ikan zebra dari setiap kelompok perlakuan. Pada penelitian ini, setiap kelompok terdiri dari 30 ekor yang diletakkan di 5 akuarium yang berbeda. Masing-masing akuarium diisi 6 ekor ikan zebra dengan air sebanyak 2L. Hal ini dilakukan untuk menghindari kemungkinan terburuk yang diakibatkan adanya kematian pada hewan coba.

Ikan zebra (*Danio rerio*) yang digunakan pada penelitian ini merupakan ikan zebra dewasa (4-5 bulan) berjenis kelamin jantan. Pemilihan ikan zebra dengan jenis kelamin jantan karena memiliki konsistensi fisiologis yang lebih baik dibandingkan betina, yang dapat terpengaruh oleh siklus reproduksi dan fluktuasi hormonal. Hal ini penting untuk memastikan bahwa hasil penelitian tidak dipengaruhi oleh variabilitas hormonal yang dapat terjadi pada ikan betina¹⁷.

Derajat Inflamasi Vili Intestinal Ikan Zebra (*Danio rerio*) Setelah Induksi Sukrosa 1%, 2%, dan 4% Selama 28 Hari

Hasil penelitian menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi sukrosa yang telah diberikan dalam air akuarium berbanding lurus dengan peningkatan jumlah infiltrasi sel radang kronis pada ikan zebra. Peningkatan jumlah infiltrasi sel radang kronis masing-masing kelompok perlakuan sebesar 16%, 30%, dan 44% dibandingkan normal. Hal ini diduga akibat dari induksi sukrosa yang menyebabkan ikan zebra mengalami kondisi hiperglikemia kronis. Kondisi hiperglikemia telah dikonfirmasi pada jurnal milik Salsabil, (2024) dimana kadar glukosa darah ikan zebra yang telah diinduksi sukrosa 2% dan 4% mengalami peningkatan sebesar 25% dan 35%¹⁸. Dengan adanya peningkatan glukosa darah tersebut akan berdampak pada beberapa organ terutama intestinal.

Secara teori, di dalam tubuh manusia sukrosa yang dikonsumsi akan masuk ke dalam tubuh melalui saluran pencernaan. Di intestinal sukrosa akan dipecah menjadi glukosa dan fruktosa¹⁹. Glukosa dan fruktosa selanjutnya akan diserap dan dibawa ke hepar untuk disimpan sebagai glukogen dan trigliserida²⁰. Pada proses ini membutuhkan insulin. Jika kadar glukosa yang dikonsumsi tinggi, maka penyerapan glukosa dan fruktosa akan meningkat dan menyebabkan terjadinya resistensi insulin²¹. Sehingga glukosa dalam darah tidak semua dapat diubah menjadi glikogen dan trigliserida. Akibatnya terjadi kondisi hiperglikemia²².

Kondisi hiperglikemia kronis pada intestinal, glukosa akan mengalami glikasi diubah menjadi ROS yang dapat meningkatkan kematian sel epitel²³. Hal ini akan mengaktifkan makrofag yang ada di intestinal, terjadi peningkatan mediator inflamasi dan rekrutmen sel radang kronis sehingga jumlah sel radang semakin tinggi. Di samping itu, peningkatan radikal bebas akan menyebabkan

kematian bakteri *Lactobacillus sp.*, sehingga terjadi penurunan produksi SCFA dari hasil metabolisme oligosakarida di intestinal²⁴. Rendahnya SCFA akan semakin meningkatkan populasi dari bakteri patogen di intestinal, sehingga terjadi ketidakseimbangan mikrobiota intestinal. Hal ini semakin memicu aktivasi sel makrofag di intestinal karena teraktivasi oleh LPS dari bakteri patogen²⁵. Aktivasi makrofag akan meningkatkan rekrutmen sel radang²⁶. Pada hasil penelitian ini, intestinal ikan zebra juga mengalami kondisi yang sama yaitu meningkatnya jumlah infiltrasi sel radang. Sehingga diduga mengalami mekanisme yang sama dengan manusia.

Penelitian ini didukung dari hasil penelitian yang dilakukan Yin, *et al.* (2021) yang menyatakan bahwa diet tinggi fruktosa yang telah dilakukan pada hewan coba tikus menunjukkan respon inflamasi yang signifikan pada usus yang ditandai dengan peningkatan sitokin pro-inflamasi seperti IL-1 β dan IL-6 yang dapat mengakibatkan peningkatan jumlah infiltrasi sel radang⁴.

Pada kondisi normal dari hasil penelitian juga ditemukan adanya sel radang kronis yang jumlahnya relatif rendah. Hal ini diduga disebabkan karena makanan yang mengandung toksin maupun senyawa berbahaya yang dapat menyebabkan kerusakan dari sel yang mengaktifkan respon imun alami usus untuk menjaga kesehatan mukosa usus terhadap rangsangan lingkungan²⁷.

Peningkatan konsentrasi induksi sukrosa pada akuarium dapat meningkatkan jumlah sel radang kronis. Hal ini disebabkan semakin tinggi sukrosa yang diberikan menyebabkan resistensi insulin, sehingga menyebabkan kondisi hiperglikemia. Hiperglikemia akan merangsang pembentukan ROS yang lebih tinggi²⁸. Saat ROS mengalami peningkatan akan terjadi kerusakan sel, proses inflamasi, dan rekrutmen sel radang kronis lebih banyak²⁹.

Penelitian ini didukung oleh Carnovali, *et al.* (2016) yang menunjukkan bahwa pemberian glukosa dengan konsentrasi tinggi secara signifikan dapat meningkatkan hiperglikemia yang kemudian menyebabkan kerusakan jaringan, termasuk pada organ intestinal. Pada penelitian tersebut juga menunjukkan bahwa kadar glukosa yang tinggi dapat memicu inflamasi melalui berbagai mekanisme, termasuk peningkatan stres oksidatif dan disfungsi respon insulin¹².

Luas Area Kerusakan Vili Intestinal Ikan Zebra (*Danio rerio*) Setelah Induksi Sukrosa 1%, 2%, dan 4% Selama 28 Hari

Hasil penelitian menunjukkan adanya kerusakan pada vili intestinal ikan zebra yang telah dipapar oleh sukrosa, dengan peningkatan luas area kerusakan seiring dengan peningkatan konsentrasi sukrosa yang diberikan. Area kerusakan vili intestinal pada masing-masing kelompok perlakuan sebesar G1 (2%), G2 (7%), dan G3 (8%) berbanding signifikan dengan kelompok kontrol

yaitu N (2%). Hal ini diduga akibat dari induksi sukrosa yang diberikan pada ikan zebra menyebabkan kondisi hiperglikemia kronis.

Secara teori, glukosa tinggi di intestinal akan meningkatkan produksi ROS sehingga memicu terjadinya inflamasi, rekrutmen sel radang, kematian sel epitel *barrier*, penurunan SCFA, dan disbiosis mikrobiota di intestinal. Adanya proses inflamasi yang ditandai dengan peningkatan mediator inflamasi seperti TNF- α dan IL- β akan memicu kematian dari sel epitel intestinal. Kondisi ini menyebabkan terjadinya kerusakan dari vili yang ditandai dengan perubahan struktur pada vili intestinal, termasuk erosi epitel dan kerusakan mikrovili yang memengaruhi proses penyerapan³⁰. Pada penelitian ini, ikan zebra yang telah diinduksi juga mengalami hal yang sama dengan manusia sehingga peneliti menduga bahwa mekanisme yang dialami ikan zebra sama dengan yang dialami oleh manusia.

Pada kondisi normal juga terdapat kerusakan dari vili. Hal ini diduga karena intestinal merupakan tempat terjadinya absorpsi dari makanan³¹. Adanya bahan-bahan yang bersifat alergen atau kandungan berbahaya dalam makanan akan mengaktivasi makrofag sehingga menyebabkan terjadinya inflamasi dan peningkatan sel eosinofil³². Dengan adanya mediator inflamasi dan sel eosinofil akan menyebabkan kerusakan dari sel epitel *barrier* di intestinal. Adanya sifat regenerasi yang baik dari sel epitel di intestinal menyebabkan luas area kerusakan yang ditimbulkan dapat berkurang³³.

Pernyataan ini dukung oleh penelitian Zhang, *et al.* (2019) yang menyatakan bahwa pada tikus model diabetes, kondisi hiperglikemia kronis dapat menyebabkan cedera pada mukosa usus melalui disbiosis mikrobiota usus yang kemudian akan mengaktivasi jalur inflamasi yang berujung pada kerusakan struktural pada jaringan vili intestinal³⁴.

Pada hasil data yang telah dianalisa terdapat perbedaan hasil secara signifikan antara kelompok normal dengan kelompok induksi sukrosa 1%, 2%, dan 4% sehingga dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi sukrosa yang diinduksikan terhadap ikan zebra (*Danio rerio*) akan semakin besar luas area kerusakan vili intestinal ikan zebra (*Danio rerio*). Seperti yang dinyatakan oleh Yin, *et al.* (2021) yang menyatakan bahwa peningkatan konsentrasi glukosa dapat meningkatkan derajat inflamasi dan memperbesar area kerusakan pada vili intestinal.

KESIMPULAN

1. Peningkatan konsentrasi sukrosa dapat meningkatkan derajat inflamasi organ intestinal ikan zebra (*D.rerio*)
2. Peningkatan konsentrasi sukrosa dapat meningkatkan luas area kerusakan vili intestinal ikan zebra (*D.rerio*)

SARAN.

Dengan dilakukannya penelitian ini, disarankan agar pengamatan sel radang dilakukan dengan perbesaran mikroskop sebesar 1000x supaya dapat meningkatkan ketajaman dan kejelasan visualisasi dalam mengidentifikasi jenis sel radang.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ikatan Orang tua Mahasiswa (IOM) dan Fakultas Kedokteran UNISMA, dosen pembimbing yang telah membimbing dari awal sampai akhir, dosen penguji sebagai *peer reviewer*, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan (FPIK) dan Fakultas Kedokteran (FK) Universitas Brawijaya, Mufidah dan Surtilawati sebagai pengamat, serta teman-teman tim peneliti yang membantu dalam pelaksanaan penelitian ini

DAFTAR PUSTAKA

1. Kurniasari S, Nurwinda Sari N, Warmi H. Pola Makan Dengan Kadar Glukosa Darah Pada Penderita Diabetes Melitus Tipe 2. J Ris Media Keperawatan. 2020;3(1):30–5.
2. Gericke B, Amiri M, Naim HY. The multiple roles of sucrase-isomaltase in the intestinal physiology. *Molecular and cellular pediatrics*. 2016 Dec;3:1-6.
3. Sun S, Araki Y, Hanzawa F, Umeki M, Kojima T, Nishimura N, Ikeda S, Mochizuki S, Oda H. High sucrose diet-induced dysbiosis of gut microbiota promotes fatty liver and hyperlipidemia in rats. *The Journal of nutritional biochemistry*. 2021 Jul 1;93:108621.
4. Tan R, Dong H, Chen Z, Jin M, Yin J, Li H, Shi D, Shao Y, Wang H, Chen T, Yang D. Intestinal microbiota mediates high-fructose and high-fat diets to induce chronic intestinal inflammation. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 2021 Jun 16;11:654074.
5. Brugman S. The zebrafish as a model to study intestinal inflammation. *Developmental & Comparative Immunology*. 2016 Nov 1;64:82-92.
6. Littleton RM, Hove JR. Zebrafish: a nontraditional model of traditional medicine. *Journal of ethnopharmacology*. 2013 Feb 13;145(3):677-85.
7. Adyaksa MR. Efek Kombinasi Dekokta *Centella asiatica*, *Imperata cylindrica*, dan *Ortosiphon aristatus* Terhadap Penurunan Frekuensi Denyut Jantung Embrio Ikan Zebra (*Danio rerio*). *Jurnal Kedokteran Komunitas*. 2016 Mar 1;3(1).
8. Khotimah H, Ali MM. Ikan Zebra (*Danio rerio*) Sebagai Binatang Model Pada Penelitian Biomedis dan Cara Pemeliharaannya. *Sanus Medical Journal*. 2020;1(1):8-13.

9. Lawrence C. The Husbandry of Zebrafish (*Danio rerio*): A review. *Aquaculture*. 2007 Sep 14;269(1-4):1-20.
10. Cani PD, de Vos WM. Next-generation beneficial microbes: the case of *Akkermansia muciniphila*. *Frontiers in microbiology*. 2017 Sep 22;8:1765.
11. Salehpour A, Rezaei M, Khoradmehr A, Tahamtani Y, Tamadon A. Which hyperglycemic model of zebrafish (*Danio rerio*) suites my type 2 diabetes mellitus research? A scoring system for available methods. *Frontiers in cell and developmental biology*. 2021 Mar 15;9:652061.
12. Carnovali M, Luzi L, Banfi G, Mariotti M. Chronic hyperglycemia affects bone metabolism in adult zebrafish scale model. *Endocrine*. 2016 Dec;54:808-17.
13. Meng XH, Chen B, Zhang JP. Intracellular Insulin and Impaired Autophagy In A Zebrafish Model and A Cell Model of Type 2 Diabetes. *International Journal of Biological Sciences*. 2017;13(8):985.
14. Rothenberg ME, Hogan SP. The eosinophil. *Annu. Rev. Immunol.*. 2006 Apr 23;24(1):147-74.
15. Kurniawaty E, Carolia N. Perbedaan Jumlah Sel Radang PMN dan MN pada Luka Bakar Derajat Ii Antara Pemberian Topikal Ekstrak Sel Punca Mesenkimal Tali Pusat Manusia dengan Silver Sulfadiazine pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague Dawley. *Majority*. 2018;7(2):34-41.
16. William W. Ikan zebra (*Danio rerio*) dan Kegunaanya dalam Penelitian Fisiologi. 2017;23(64):41-6.
17. Qosimah D, Santoso S, Maftuch M, Khotimah H, Fitri LE, Suwanti LT. *Aeromonas hydrophila* induction method in adult zebrafish (*Danio rerio*) as animal infection models. *Veterinary World*. 2023 Feb;16(2):250.
18. Salsabil A. Hiperglikemi dan Kerusakan Pankreas yang Diinduksi Sukrosa. 2024;
19. Ridhani MA, Aini N. Potensi Penambahan Berbagai Jenis Gula Terhadap Sifat Sensori dan Fisikokimia Roti Manis. *Pasundan Food Technology Journal (PFTJ)*. 2021;8(3):61-8.
20. Prahastuti S. Konsumsi fruktosa berlebihan dapat berdampak buruk bagi kesehatan manusia. *Maranatha Journal of Medicine and Health*. 2011;10(2):151132.
21. Azzaky FF, Njoto I, Setiawan H, Tjandra L. Hubungan Kadar Diet Sukrosa dengan Peningkatan Kadar Gula Darah sebagai Faktor Risiko Diabetes Mellitus pada Tikus Wistar (*Rattus Norvegicus*) (Doctoral dissertation, Wijaya Kusuma Surabaya University). 2023.
22. Sudaryanto A, Setiyadi AN, Frankilawati AD. Hubungan Antara Pola Makan, Genetik Dan Kebiasaan Kerja Puskesmas Nusukan, Banjasari. *Prosiding Snst*. 2014(3):19-24.
23. Rustanti N, Nafsiah VZ, Avisha RN, Kurniawati DM, Purwanti R, Nissa C, Wijayanti HS, Afifah DN. Pengaruh yoghurt dan soyghurt kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) terhadap kadar glukosa darah, insulin serum, dan malondialdehyde tikus pra sindrom metabolik. *Jurnal Gizi Indonesia (The Indonesian Journal of Nutrition)*. 2019;8(1):60-8.
24. AP SP, Syauqy A. Pengaruh pemberian pisang kepok (*Musa Paradisiaca* Forma Typical) terhadap kadar Malondialdehyde (MDA) tikus Sprague Dawley pra-sindrom metabolik. *Journal of Nutrition College*. 2015 Oct 1;4(4):314-22.
25. Prakoeswa FR. Peranan sel limfosit dalam imunologi: Artikel review. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*. 2020;2(4):525-37.
26. Munasir Z. Respons imun terhadap infeksi bakteri. *Sari Pediatri*. 2016 Dec 6;2(4):193-7.
27. Hogan SP, Rosenberg HF, Moqbel R, Phipps S, Foster PS, Lacy P, Kay AB, Rothenberg ME. Eosinophils: biological properties and role in health and disease. *Clinical & Experimental Allergy*. 2008 May;38(5):709-50.
28. Prawitasari DS. Diabetes melitus dan antioksidan. *KELUWIH: Jurnal Kesehatan Dan Kedokteran*. 2019;1(1):48-52.
29. Rahmawati A. Mekanisme terjadinya inflamasi dan stres oksidatif pada obesitas. *El-Hayah*. 2014 Sep;5(1):1-8.
30. Min C, Fu T, Tan W, Wang T, Du Y, Huang X. Two weeks of high glucose intake is enough to induce intestinal mucosal damage and disturb the balance of the gut microbiota of rats. *Biomedical Reports*. 2022 Nov 30;18(1):9.
31. Sari ML, Sandi S, Sahara E, Ali AI, Relti R. Pengaruh Pemberian Probiotik dan Tepung Kunyit dalam Ransum Terhadap Saluran Pencernaan itik Pegagan: The Impact of Adding Probiotics and Turmeric Flour to Ducks' Meals on Their Digestive Systems. *Jurnal Ilmu Peternakan dan Veteriner Tropis (Journal of Tropical Animal and Veterinary Science)*. 2022 Jul 31;12(2):143-50.
32. Diding HP, Listyaningsih E, Subijanto AA. Pengaruh Probiotik Terhadap Gambaran Histologis Mukosa Usus Pada Mencit Balb/C Model Alergi. *Jurnal Kedokteran Yarsi*. 2008 Feb 3;16(1):006-12.
33. Noga EJ. Fish disease: diagnosis and treatment. John Wiley & Sons; 2010 Jul 7.

34. Zhang M, Lv XY, Li J, Xu ZG, Chen L. The Characterization of High-Fat Diet and Multiple Low-Dose Streptozotocin Induced Type 2 Diabetes Rat Model. *Experimental diabetes research*. 2008;2008.