

POTENSI KOMBUCHA DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L) MENURUNKAN KADAR GLUKOSA DAN MEMPERBAIKI HISTOLOGI PANKREAS IKAN ZEBRA (*Danio rerio*) YANG DIINDUKSI SUKROSA 4%.

Andiny Tarisa Anwar, Aris Rosidah, Dini Sri Damayanti*
Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Konsumsi sukrosa termasuk faktor predisposisi hiperglikemia. Hiperglikemia kronis berdampak pada struktur dan fungsi sel β pankreas. Kombucha memiliki potensi antihiperglikemia dengan meningkatkan sensitivitas sel β pankreas dan mengurangi stres oksidatif karena mengandung fenol yang bersifat aktif. Daun sirsak mengandung flavonoid yang terbukti menurunkan kadar glukosa darah. Penelitian ini bertujuan mengeksplorasi efek kombucha daun sirsak terhadap kadar glukosa darah dan histologi pankreas pada ikan zebra yang diinduksi sukrosa selama 28 hari.

Metode: Penelitian ini menggunakan *true eksperimental laboratorium* dengan desain *post test control only*. Penelitian ini menggunakan ikan zebra jantan dewasa, terbagi 2 kelompok kontrol negatif (KN) dan positif (KP) serta 3 kelompok perlakuan dosis 1,25% (P1), 2,5% (P2), 5% (P3) ($n = 5$) selama 28 hari. Kadar glukosa darah diukur menggunakan glukotest. Analisa data menggunakan *One way Anova* dilanjut uji LSD. Luas Islet langerhans dan persentase hialinisasi pankreas diukur menggunakan *ImageJ* pada 5 lapang pandang, 3x ulangan. Analisa data menggunakan *Uji Kruskall Wallis* dan *Pairwise Comparisons*.

Hasil: Pemberian dosis 1,25% menurunkan 43% kadar glukosa darah dibandingkan KP ($p=0,005$). Pemberian dosis 1,25% meningkatkan 20% luas islet langerhans dibandingkan KP ($p=0,035$), dan menurunkan 83% persentase hialinisasi pankreas ikan zebra dibandingkan KP ($p=0,016$). Sedangkan dosis 2,5% dan 5% meningkatkan kadar glukosa darah, persentase hialinisasi jaringan pankreas dan menurunkan luas area islet langerhans pankreas ikan zebra.

Kesimpulan: Pemberian kombucha daun sirsak dosis 1,25% dapat menurunkan kadar glukosa dan memperbaiki histologi pankreas ikan zebra. Sedangkan dosis 2,5% dan 5% meningkatkan kadar glukosa dan tidak memperbaiki histologi pankreas ikan zebra.

Kata Kunci: Daun sirsak; Hiperglikemia; Histologi Islet Langerhans; Ikan Zebra, Kombucha

*Korespondensi: Dr. dr. Dini Sri Damayanti, M.kes

Jl. MT Haryono Gg. VIII G No.915, Kota Malang, Jawa Timur 65144

Email: dinisridamayanti@unisma.ac.id

POTENTIAL OF SOURSOP LEAF KOMBUCHA (*Annona muricata* L) TO REDUCE GLUCOSE LEVELS AND IMPROVE PANCREATIC HISTOLOGY OF ZEBRA FISH (*Danio rerio*) INDUCED BY 4% SUCROSE.

Andiny Tarisa Anwar, Aris Rosidah, Dini Sri Damayanti*
Faculty of Medicine, Islamic University of Malang

ABSTRACT

Introduction: Sucrose consumption is a predisposing factor for hyperglycemia. Chronic hyperglycemia affects structure and function of pancreatic β cells. Kombucha has antihyperglycemic potential by increasing sensitivity of pancreatic β cells and reducing oxidative stress because it contains active phenols. Soursop leaves contain flavonoids that have been shown to lower blood glucose levels. This study aims to explore the effects of soursop leaf kombucha on blood glucose levels and pancreatic histology in zebrafish induced by sucrose for 28 days.

Methods: This study used a true laboratory experimental design with a post-test control-only design. This study involved adult male zebrafish, divided into 2 negative control groups (KN) and positive (KP) and 3 treatment groups with doses of 1,25% (P1), 2,5% (P2), and 5% (P3) ($n = 5$) for 28 days. Blood glucose levels were measured using a glukotest. Data analysis used one-way ANOVA followed by the LSD test. The area of the islet of Langerhans and the percentage of pancreatic hyalinization were measured using ImageJ in 5 fields of view, repeated 3 times. Data analysis used Kruskal-Wallis test and pairwise comparisons.

Results: Administration of a dose of 1,25% decreased 43% of blood glucose levels compared to KP ($p = 0.005$). Administration of a dose of 1,25% increased 20% of the area of islet langerhans compared to KP ($p = 0.035$), and decreased 83% of the percentage of pancreatic hyalinization of zebrafish compared to KP ($p = 0.016$). While doses of 2,5% and 5% increased blood glucose levels, the percentage of pancreatic tissue hyalinization and decreased the area of islet langerhans of zebrafish pancreas.

Conclusion: Administration of soursop leaf kombucha at a dose of 1,25% reduce glucose levels and improve the histology of the zebrafish pancreas. While doses of 2,5% and 5% increase glucose levels and do not improve the histology of zebrafish pancreas.

Keywords: Hyperglycemia, Zebra Fish, Kombucha, Soursop Leaves, Islet Langerhans Morphology

*Corresponding author : Dr. dr. Dini Sri Damayanti, M.kes

Jl. MT Haryono Gg. VIII G No.915, Kota Malang, Jawa Timur 65144

Email: dinisridamayanti@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Hiperglikemia didefinisikan sebagai kadar glukosa darah tinggi yang melampaui batas normal. Kadar gula darah puasa yang melebihi 126 mg/dL, pengukuran glukosa darah acak yang mencapai atau melampaui 200 mg/dL, dan konsentrasi glukosa dua jam setelah makan yang sama dengan atau lebih dari 200 mg/dL menunjukkan metabolisme glukosa yang tidak normal¹. Gangguan ini merupakan ciri diabetes melitus, yang dapat disebabkan oleh resistensi dan insufisiensi insulin (tipe 2) atau penyebab autoimun (tipe 1)¹. Kondisi ini merupakan ciri khas diabetes melitus, yang dapat disebabkan oleh faktor autoimun (tipe 1) atau defisiensi dan resistensi insulin (tipe 2)¹. Gula darah tinggi, atau hiperglikemia, merupakan hasil dari kombinasi faktor risiko yang mencakup elemen yang dapat diubah seperti gaya hidup dan kebiasaan makan dan faktor bawaan seperti genetika dan usia yang tidak dapat diubah². Hiperglikemia kronis dapat menyebabkan komplikasi seperti kerusakan mikrovaskular dan makrovaskular, yang dapat mengakibatkan retinopati, neuropati, nefropati, dan penyakit jantung³.

Salah satu penyebab utama hiperglikemia adalah konsumsi sukrosa berlebihan. Hasil penelitian oleh Pasmans *et.al* terbukti bahwa pemberian sukrosa 50 gr dalam 200 ml minuman dapat meningkatkan kadar glukosa darah pada laki laki dan wanita sehat⁴. Hiperglikemia kronis memicu kelainan metabolisme yang berkontribusi pada berbagai kondisi patologis, termasuk vasokonstriksi, peningkatan angiogenesis, dan kematian sel³. Peningkatan reaktif oksigen spesies (ROS) akibat hiperglikemia dapat menyebabkan apoptosis sel β pankreas, yang berujung pada penurunan sekresi insulin³. Penurunan ini diiringi dengan peningkatan produksi Islet Amyloid Polypeptide (IAPP) yang menyebabkan hialinisasi di pankreas⁵. Adanya penurunan densitas sel β di islet langerhans dan adanya hialinisasi merupakan tanda patognomonis histologi pada pasien diabetes tipe 2⁶.

Tujuan pengobatan hiperglikemia adalah pengendalian glukosa darah. Kombucha merupakan salah satu minuman fermentasi yang terbukti dapat menurunkan kadar gula darah. Tingginya kadar polifenol dan flavonoid dalam kombucha diduga mampu memberikan efek antihiperglikemia⁷. Senyawa polifenol dan flavonoid mampu menghambat aktivitas α amylase sehingga mengurangi penyerapan glukosa dan menekan peningkatan glukosa

darah⁸. Disamping itu senyawa polifenol dan flavonoid juga mempunyai efek meningkatkan sensitivitas sel β pankreas, menurunkan stres oksidatif pada pankreas melalui mekanisme antioksidan⁸. Daun dari tanaman sirsak sering digunakan sebagai bahan herbal dalam pembuatan kombucha, karena kaya akan senyawa bioaktif termasuk flavonoid, alkaloid, terpenoid, dan zat fenolik yang dikenal karena potensi terapeutiknya⁹. Adanya senyawa aktif tersebut diduga berkaitan dengan efek antihiperglikemia dengan mekanisme sebagai antioksidan, meningkatkan sensitivitas reseptor insulin dan menghambat enzim α amylase⁹.

Penelitian model diabetes melitus membutuhkan hewan uji. Ikan zebra (*Danio rerio*) dianggap sebagai organisme yang ideal untuk mempelajari diabetes karena kemiripan genetiknya yang substansial dengan manusia, memiliki sekitar 70% dari total struktur genetik dan sekitar 84% gen yang terkait dengan penyakit manusia¹⁰. Ikan zebra dapat digunakan untuk mengamati perubahan histologis pada jaringan pankreas¹¹. Pada penelitian sebelumnya membuktikan bahwa ikan zebra yang diinduksi sukrosa 4% selama 28 hari mengalami perubahan signifikan dalam penurunan luas dan diameter pulau langerhans pankreas ikan zebra¹². Penelitian tersebut menunjukkan bahwa ikan zebra berpotensi sebagai model yang efektif untuk penelitian diabetes dan hiperglikemia.

Berdasarkan penjelasan di atas, terdapat beberapa penelitian yang telah mengkaji efek kombucha daun sirsak sebagai agen antidiabetes. Akan tetapi saat ini, belum terdapat penelitian yang mengeksplorasi kombinasi antara kombucha dan daun sirsak sebagai antihiperglikemia pada ikan zebra. Dengan demikian penelitian ini menggunakan kombucha daun sirsak sebagai antihiperglikemia yang dilakukan pada ikan zebra model hiperglikemia dengan induksi sukrosa 4% selama 28 hari. Tujuan dari penelitian eksperimental in vivo ini adalah untuk mengamati dan mengevaluasi dampak kombucha, yang dibuat dengan daun sirsak, terhadap konsentrasi glukosa darah dan struktur mikroskopis jaringan pankreas pada ikan zebra yang diinduksi dengan sukrosa 4%.

METODE PENELITIAN

Desain, Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini menerapkan rancangan *post-test group control only* dan metodologi *true eksperimen laboratorium*. Riset ini dilakukan pada bulan Desember 2024 hingga Februari 2025. Penelitian eksperimental ini dilakukan di Laboratorium Khusus Ikan Zebra

di Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang, yang dilengkapi untuk penelitian biomedis. Ikan Zebra yang digunakan dalam penelitian ini dikembangkan di Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Brawijaya Malang dan dideterminasi di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan (FPIK) Universitas Airlangga Surabaya dengan nomor /ULMKILP/UA.FPK/10/2024. Penelitian ini telah memperoleh persetujuan dari *Health Research Ethics Committee* Rumah Sakit Islam Universitas Malang dengan Nomor: No.49/KEPK/RSI-U/X/2024.

Alat dan Bahan Penelitian

Bahan berupa serbuk daun sirsak (*Annona muricata*), SCOBY 50gr dan starter kombucha 30ml dari Organik Product bysya, kantong teh, dan air 1000ml. Peralatan yang digunakan berupa kompor, jar kaca, panci enamel, pengaduk kaca, akuarium kapasitas 2L, pH meter (Ohaus), Mikroskop Olympus bx53, lampu akuarium, Aerator akuarium, dan Filter set akuarium.

Pengambilan Sampel Daun Sirsak

Penelitian ini menggunakan simplisia bubuk yang berasal dari daun sirsak, yang telah diautentikasi dan diidentifikasi secara formal oleh Laboratorium Materia Medika Herbal yang berlokasi di Batu, Jawa Timur, dengan nomor referensi 000.9.3/2962/102.20/2024.

Pembuatan Kombucha Daun Sirsak

Metode untuk menyiapkan kombucha mengikuti langkah-langkah prosedural yang diuraikan dalam penelitian ilmiah yang dilakukan oleh Damayanti dan Bintari (2024). Tahap awal pembuatan kombucha daun sirsak adalah perebusan 1000ml air hingga mendidih. Selanjutnya, ditambahkan 12g serbuk daun sirsak dalam kantong teh dan dididihkan selama 5 menit. Setelah itu, dilakukan penambahan 100gr gula dan pengadukan. Larutan dituangkan ke dalam jar steril hingga suhu $\pm 25^{\circ}\text{C}$. Selanjutnya, dicampurkan starter kombucha 30g dan SCOBY sebanyak 50g. Jar ditutup rapat dan ditempatkan pada ruangan yang terhindar dari matahari dan suhu $\pm 25^{\circ}\text{C}$ selama 5-7 hari. Analisa pH dilakukan setelah 5-7 hari dengan menggunakan pH meter dengan pH sekitar 3-5¹³.

Perlakuan Hewan Coba

Organisme uji terdiri dari ikan zebra jantan dewasa, masing-masing berukuran panjang antara 3 hingga 5 sentimeter, dan desain eksperimental mencakup lima kelompok berbeda dengan berbagai kondisi perlakuan. Kelompok eksperimen meliputi kelompok kontrol awal, kelompok kontrol positif yang

diberi sukrosa 4%, dan tiga kelompok perlakuan yang menerima sukrosa 4% dan kombucha yang terbuat dari daun sirsak dalam konsentrasi masing-masing 1,25%, 2,5%, dan 5%.

Setiap kelompok terdiri dari 5 ulangan berdasarkan rumus *Federer (1991)*:

Dengan jumlah sampel :

$$(p - 1)(n - 1) \geq 15$$

$$4(n - 1) \geq 15$$

$$n = 5$$

Keterangan:

p = jumlah perlakuan

n = jumlah pengulangan / minimum sampel penelitian

Masing-masing kelompok terdiri dari 12 ekor ikan zebra dalam 2L air, hewan coba diaklimatisasi selama 7 hari sebelum perlakuan dimulai, selama aklimatisasi hewan coba diberi makan 2x/hari, pH air 6,0-8,1. Air yang digunakan adalah air jernih dengan suhu 26-28°C. Pergantian air dilakukan setiap 2 hari untuk menjaga kebersihan lingkungan hewan coba.

Setelah periode aklimatisasi, hewan coba diberikan perlakuan dengan menambahkan sukrosa 4% dan kombucha daun sirsak 1,25%, 2,5%, 5% selama 28 hari dalam akuarium zebrafish. Pergantian air dilakukan dengan membuang 1,5L air dan diganti dengan jumlah 1,5L air yang telah berisi sukrosa 4% dan kombucha daun sirsak 25, 50, dan 100ml yang dilarutkan dalam 2 liter.

Pengukuran Kadar Glukosa Darah Ikan Zebra

darah ikan zebra merujuk pada penelitian Eames, *et. al.* (2017) dan Ranjan S, *et al.* (2018). Pengukuran menggunakan perangkat *Nesco Multi Check* dengan satuan mg/dL. Proses dimulai anestesi ikan dalam air es suhu 12-17°C selama 10 menit¹⁴. Setelah ikan menunjukkan tanda penurunan kesadaran, bagian ekor posterior ikan dipotong¹¹. Darah yang keluar ditempelkan pada strip *Nesco glucose test*. Kadar glukosa darah normal ikan zebra berkisar antara 50-75mg/dL, sedangkan kondisi hiperglikemia jika kadar glukosa darah melebihi 75mg/dL¹⁵.

Pengamatan Histologi Perubahan Morfologi Islet Langerhans (Luas Area, % Hialinisisasi)

Preparat histologi merujuk pada metode oleh Soesilawati P, (2020), meliputi fiksasi, dehidrasi, clearing, pemotongan, pewarnaan *Hematoxylin Eosin (HE)*, dan Mounting¹⁶. Pengamatan histologi luas area islet langerhans dan persentase hialinisisasi jaringan pankreas menggunakan mikroskop

Olympus bx53 dengan perbesaran 400x pada 5 lapang pandang. Pengukuran dilakukan dengan bantuan *software ImageJ* oleh 3 orang pengamat yang berbeda. Pengukuran luas islet langerhans menggunakan *tools area measure*, dan pengukuran persentase hialinisasi menggunakan *tools area fraction measure*, dengan perhitungan :

$$\text{Persentase area hialinisasi pankreas} = \left(\frac{\text{area hialinisasi}}{\text{jumlah total area pankreas}} \right) \times 100\%^{17}.$$

Teknik Analisis Data

Data kadar glukosa darah dan nilai rata-rata histologi pankreas dianalisa dengan *software SPSS* edisi 27 dengan pengujian normalitas dan homogenitas ($p > 0,05$). Pengujian kadar glukosa darah dilakukan dengan One Way-ANOVA dan uji Pos-Hoc LSD karena data menunjukkan distribusi normal dan keseragaman ($p < 0,05$). Sebaliknya, data histologi pankreas yang tidak normal maupun tidak homogen ($p < 0,05$) diuji menggunakan metode Kruskal-Wallis dan Pairwise Comparisons pada ambang signifikansi ($p < 0,05$).

HASIL PENELITIAN

Karakteristik Hewan Coba

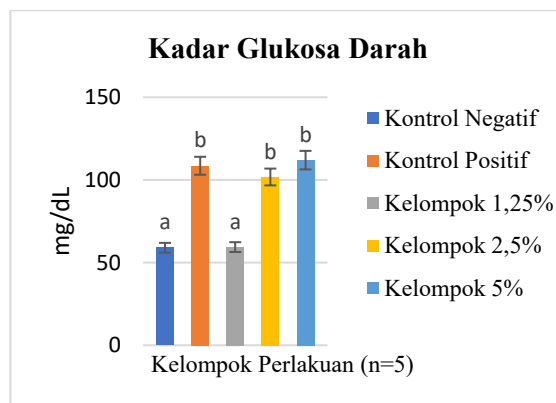
Data karakteristik hewan uji dapat ditemukan pada **Tabel 1**.

	Kontrol Negatif (KN)	Kontrol Positif (KP)	Induksi 1,25% (P1)	Induksi 2,5% (P2)	Induksi 5% (P3)
Konsentrasi	-	Sukrosa 4%	Sukrosa 4% dan kombucha daun sirsak 1,25% (25 ml)	Sukrosa 4% dan kombucha daun sirsak 2,5% (50 ml)	Sukrosa 4% dan kombucha daun sirsak 5% (100 ml)
Populasi	Ikan zebra	Ikan zebra	Ikan zebra	Ikan zebra	Ikan zebra
Jumlah (Ekor)	5	5	5	5	5
Jenis Kelamin	Jantan	Jantan	Jantan	Jantan	Jantan
Usia	4-5 bulan	4-5 bulan	4-5 bulan	4-5 bulan	4-5 bulan
Durasi	28 hari	28 hari	28 hari	28 hari	28 hari

Tabel 1. Karakteristik Hewan Coba

Efek Kombucha Daun Sirsak Terhadap Kadar Glukosa Darah Ikan Zebra (*Danio rerio*)

Gambar 1 mengilustrasikan hasil pengukuran glukosa darah yang diambil dari semua kelompok perlakuan dan kontrol ikan zebra selama penelitian.



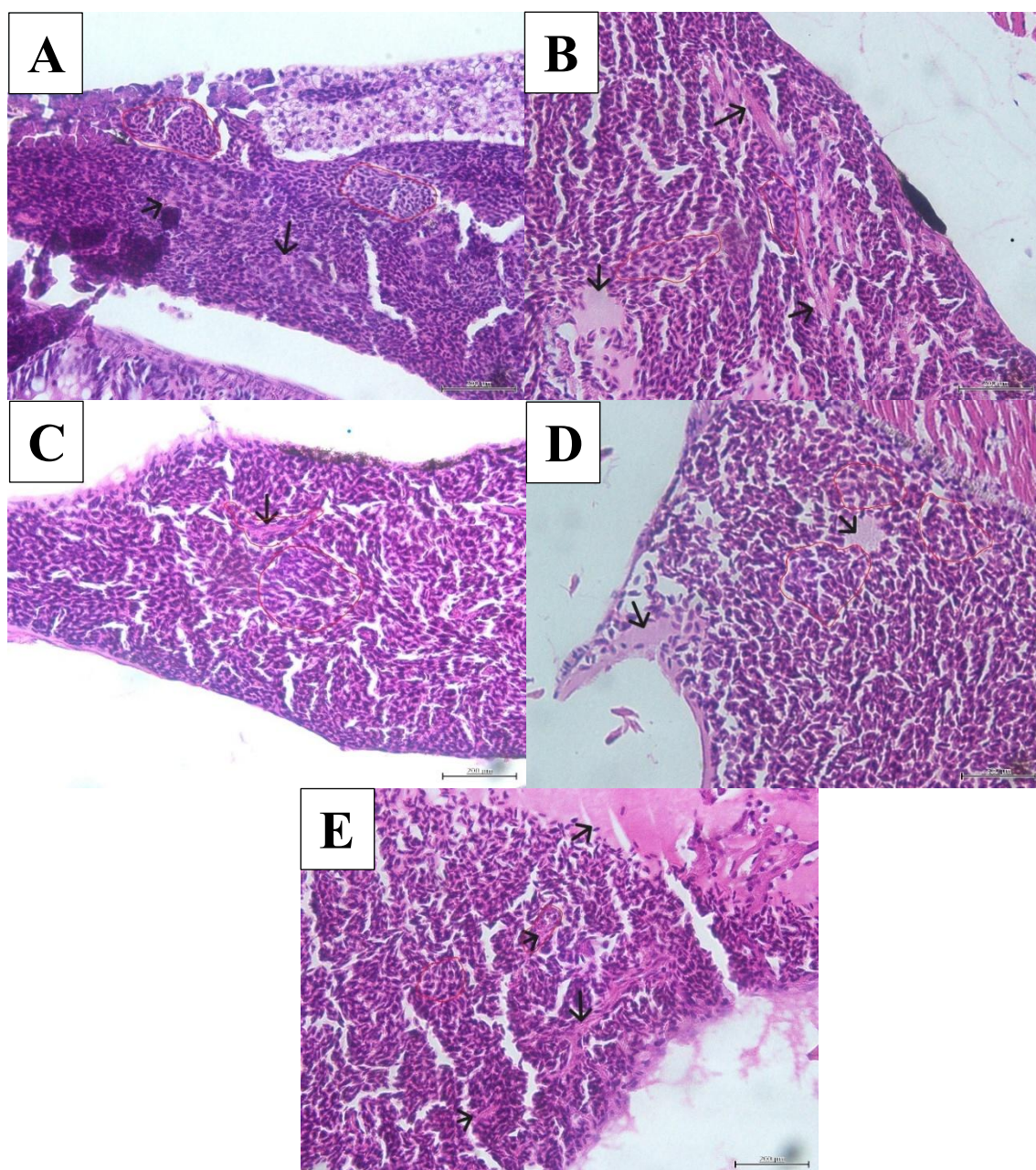
Gambar 1. Histogram Kadar Glukosa Darah Ikan Zebra.

Keterangan: a,b = menunjukkan perbedaan efek ($P < 0,05$)

Pemberian larutan sukrosa 4% menyebabkan peningkatan kadar glukosa darah yang signifikan dibandingkan dengan yang diamati pada kelompok kontrol negatif, dengan signifikansi statistik $p = 0,001$. Pemberian kombucha dosis 1,25% dan 2,5% menurunkan kadar glukosa darah 45,3% dan 6,27% dibandingkan KP ($p = 0,005$) dan ($p = 0,595$). Sedangkan kombucha dosis 5% meningkat kurang lebih 3% dibandingkan KP. Sementara itu, pada kelompok perlakuan 1,25%, 2,5%, 5%, terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$). Pemberian dosis 1,25% menurunkan kadar glukosa darah mendekati KN ($p = 0,463$).

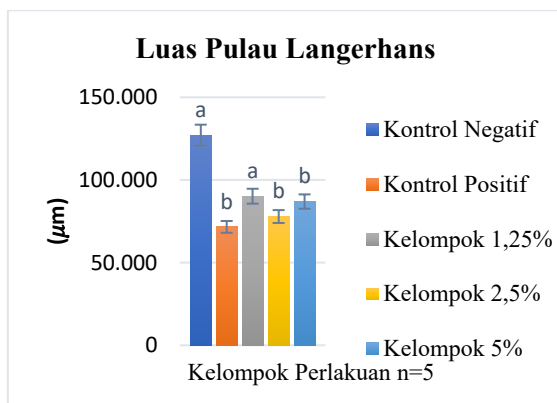
Efek Kombucha Daun Sirsak Terhadap Histologi Pankreas Ikan Zebra (*Danio rerio*)

Gambar 3 menyajikan data mengenai luas permukaan pulau Langerhans di pankreas, sedangkan **Gambar 4** menampilkan persentase jaringan pankreas yang mengalami hialinisasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok kontrol positif menunjukkan luas pulau Langerhans yang jauh lebih kecil dan tingkat hialinisasi pankreas yang lebih besar jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif, dengan nilai-p masing-masing ($p = 0,006$) dan ($0,01$). Pada P1 terjadi peningkatan luas area islet langerhans sebesar 20% dan penurunan persentase hialinisasi pankreas sebesar 83% dibandingkan kelompok positif ($p = 0,035$) dan ($p = 0,016$). Walau begitu, tidak terdapat perbedaan bermakna antara KP dan kelompok P2 serta P3 ($p = 0,83$) dan ($p = 0,302$). Hasil evaluasi menunjukkan bahwa kelompok P1 memiliki perbedaan signifikan dibandingkan dengan P2 maupun P3. Sebaliknya, kelompok P2 tidak menampilkan perbedaan bermakna terhadap kelompok P3.



Gambar 2. Histopatologi Pankreas Ikan Zebra (*Danio rerio*) dengan Perbesaran 400x dan Pewarnaan HE

Keterangan : A : Kelompok Normal (tanpa induksi), B: Kelompok Induksi Sukrosa 4% , C: Kelompok Induksi sukrosa 4% dan Kombucha Daun Sirsak 1,25%, D: Kelompok Induksi sukrosa 4% dan Kombucha Daun Sirsak 2,5%, E: Kelompok Induksi sukrosa 4% dan Kombucha Daun Sirsak 5%. Panah Hitam : Area Hialinisasi Pankreas. Garis Merah : Islet Langerhans.



Gambar 4. Histogram Luas Area Islet Langerhans Ikan Zebra

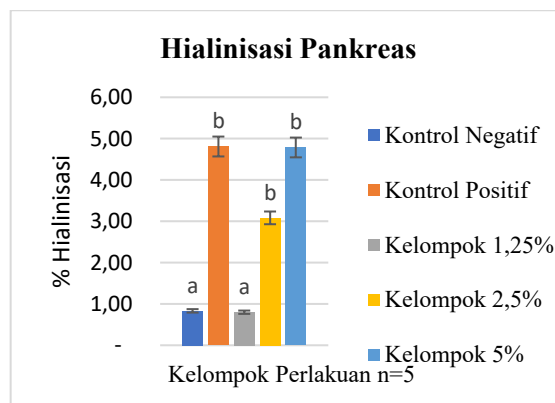
Keterangan: a,b = menunjukkan perbedaan efek ($P < 0,05$, Uji Kruskal Wallis dan Pairwise Comparisons)

PEMBAHASAN

Karakteristik Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan hewan coba Ikan zebra (*Danio rerio*) jantan dewasa dengan ukuran 1-3 cm yang aktif bergerak dan memiliki warna cerah. Pemilihan jantan bertujuan agar selama proses perlakuan tidak terjadi pembuahan dan tidak dipengaruhi oleh hormonal yang terjadi pada ikan betina¹⁸. Ikan zebra yang digunakan berusia 4-5 bulan karena pada fase dewasa ikan zebra telah mencapai kematangan fisik dan dapat menyesuaikan dengan paparan glukosa dibandingkan ikan zebra pada usia 1-3 tahun¹⁹. Proses induksi dilakukan selama 28 hari yang bertujuan peningkatan kadar glukosa secara subkronis dapat merusak islet langerhans pankreas ikan zebra¹². Penggunaan metode induksi sukrosa dipilih dengan mempertimbangkan kerusakan islet langerhans secara apoptosis yang dipicu oleh glukotoksitas sehingga menyebabkan diabetes melitus tipe 2 pada manusia²⁰. Selain itu, penggunaan sukrosa mengacu pada pola makan yang tinggi sukrosa dapat meningkatkan resistensi insulin yang dalam kondisi kronis menyebabkan apoptosis sel pankreas pada ikan zebra¹⁹. Ikan zebra dipilih sebagai hewan coba dikarenakan memiliki kemiripan 70% gen dengan manusia, dan 84% gen yang terkait dengan penyakit yang ada di manusia¹⁹. Penelitian ini secara khusus dirancang untuk menguji efek fisiologis kombucha yang terbuat dari daun sirsak terhadap pengaturan glukosa darah dan kondisi struktural jaringan pankreas pada ikan zebra.

Penyertaan kombucha yang berasal dari daun sirsak dalam penelitian ini dimaksudkan untuk meningkatkan khasiat pengobatan tanaman tersebut dengan



Gambar 3. Histogram Presentase Hialinisasi Pankreas Ikan Zebra

Keterangan: a,b = menunjukkan perbedaan efek ($P < 0,05$, Uji Kruskal Wallis dan Pairwise Comparisons)

meningkatkan ketersediaan unsur-unsur bioaktifnya. Daun sirsak banyak mengandung senyawa fenol. Proses fermentasi pada pembuatan kombucha dapat menarik senyawa fenol lebih banyak dan bersifat lebih aktif dibandingkan rebusan daun sirsak²¹.

Dalam penelitian ini, dosis kombucha daun sirsak yang diberikan adalah 1,25%, 2,5%, dan 5%, yang masing-masing dipilih berdasarkan potensi efek terapeutiknya. Konsentrasi dosis ini ditentukan berdasarkan temuan eksperimen sebelumnya, termasuk temuan oleh Damayanti dkk. (2024), yang melaporkan bahwa median konsentrasi mematikan (LC50) kombucha daun sirsak adalah 58 gram per liter. Berdasarkan hasil tersebut, maka dosis eksplorasi kombucha daun sirsak yang digunakan sebesar $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$ dan 1 kali dosis toksik.

Efek Induksi Sukrosa 4% Terhadap Kadar Glukosa Darah, Luas Area Islet Langerhans Dan Hialinisasi Pankreas

Hasil penelitian didapatkan induksi sukrosa 4% selama 28 hari menyebabkan terjadinya peningkatan kadar glukosa darah, menurunkan luas area, meningkatkan hialinisasi dibandingkan kelompok normal. Hasil penelitian ini sangat sesuai dengan hasil penelitian Salsabila *et al.*, (2024) yang mendokumentasikan bahwa menginduksi ikan zebra dengan sukrosa 4% menyebabkan peningkatan glukosa darah sekitar 55% dibandingkan dengan kelompok kontrol yang tidak diobati¹². Menurut Yashilva *et al.*, (2024), induksi sukrosa 4% secara kronis menyebabkan peningkatan resistensi insulin perifer dan peningkatan produksi insulin²².

Ketika sukrosa masuk ke dalam saluran pencernaan ikan zebra sukrosa dipecah menjadi

glukosa dan fruktosa oleh enzim sukrosa sintase dan enzim maltase²³. Selanjutnya, melalui *sodium-glucose Linked Transporter-1 (SGLT-1)* dan *glukosa Transporter (GLUT-2)* terjadi absorpsi di intestinal dan didistribusi melalui pembuluh darah sehingga terjadi peningkatan kadar glukosa darah. Ketika kadar glukosa darah meningkat, secara normal sel-sel beta pankreas akan merespons dengan memproduksi insulin, yang bertugas untuk menurunkan kadar glukosa darah dengan meningkatkan penyerapan glukosa oleh sel-sel tubuh²⁰.

Kondisi hiperglikemia yang terjadi secara terus menerus menyebabkan peningkatan pembentukan *Reactive Oxygen Species (ROS)* di sel beta pankreas melalui beberapa mekanisme utama³. Mekanisme pertama melalui jalur poliol. Hiperglikemia meningkatkan aktivitas enzim aldose reduktase, yang mengubah glukosa menjadi sorbitol. Proses ini menggunakan NADPH, kofaktor penting untuk enzim antioksidan seperti glutathion reduktase. Penurunan ketersediaan NADPH mengurangi kemampuan sel untuk menetralkan ROS, sehingga meningkatkan stres oksidatif. Selain itu, penumpukan sorbitol dapat menyebabkan kerusakan osmotik pada sel³.

Mekanisme biokimia sekunder melibatkan *Advanced Glycation End-products (AGEs)*, yang diproduksi ketika kadar gula darah yang tinggi mendorong glikasi non-enzimatik biomolekul seperti protein, lemak, dan asam nukleat. AGEs dapat berinteraksi dengan reseptor RAGE di permukaan sel, memicu produksi ROS melalui aktivasi NADPH oksidase dan jalur pensinyalan pro-oksidan lainnya. Mekanisme ketiga hiperglikemia mengaktifkan protein kinase C (PKC). aktivasi PKC yang berlebihan dapat meningkatkan produksi ROS melalui aktivasi NADPH oksidase dan disfungsi mitokondria³.

Menurut Salsabila *et al.*, (2024) peningkatan kadar glukosa darah kronis memicu stres oksidatif dan inflamasi yang berdampak pada apoptosis sel β pankreas, sehingga penurunan luas area islet langerhans¹². Hiperglikemia kronis juga dapat memicu resistensi insulin sehingga meningkatkan produksi insulin dan *islet amyloid polypeptide (IAPP)*. Secara normal IAPP akan disekresikan bersama insulin sebagai respons peningkatan kadar glukosa darah, tingginya permintaan sekresi insulin pada kondisi resistensi insulin menyebabkan ketidakseimbangan *insulin-degrading enzyme (IDE)* yang seharusnya mendegradasi IAPP²⁴, selain itu kondisi resistensi insulin juga menyebabkan gangguan

pemrosesan N-terminal proIAPP untuk menjadi IAPP, gangguan pada pemrosesan N-terminal proIAPP berfungsi sebagai nukleus tempat IAPP dapat terakumulasi dan membentuk amiloid²⁵. Kondisi ini akan meningkatkan deposit IAPP di jaringan pankreas. Pembentukan amiloid merupakan mediator utama apoptosis dari sel di pulau langerhans⁵.

Efek Kombucha Daun Sirsak Terhadap Kadar Glukosa Darah Ikan Zebra

Hasil penelitian membuktikan bahwa pemberian kombucha 1,25% mampu menurunkan kadar glukosa darah ikan zebra yang diinduksi sukrosa 4%. Kandungan senyawa fenol yang tinggi dan bersifat aktif dalam kombucha diduga bertanggung jawab terhadap potensi farmakologi tersebut. Di Indonesia, daun sirsak dikenal luas dan secara tradisional digunakan sebagai obat alami untuk mengelola kadar gula darah tinggi²⁶. Penelitian yang dilakukan oleh Damayanti dan Bintari (2024) menunjukkan bahwa kombucha yang terbuat dari daun sirsak mengandung 132 mg flavonoid yang setara dengan quercetin per gram dan 130 mg kandungan fenolik yang setara dengan asam galat per gram. Kombucha daun sirsak juga terbukti mempunyai potensi antioksidan dan antibakteri. Potensi antioksidan kombucha daun sirsak 2x lebih kuat dibandingkan kombucha bunga telang dan 3x lebih kuat dibandingkan kombucha kombinasi bunga telang dan daun sirsak¹³.

Mekanisme antihiperglikemia dari kombucha daun sirsak diduga melalui mekanisme melalui penghambatan α -amilase. Santhi *et al.*, (2022) menemukan bahwa ekstrak metanol daun sirsak pada konsentrasi 600 mikrogram secara efektif menghambat aktivitas enzim α -amilase sebanyak 49%²⁷. Mekanisme lain kombucha daun sirsak untuk menurunkan kadar glukosa darah melalui peningkatan aktivitas *glucagon like peptide-1 (GLP-1)*. Penelitian oleh Handayani, *et al* (2020) membuktikan bahwa ekstrak etanol daun sirsak dosis 5% mg/KgBB mampu meningkatkan sekresi GLP-1 pada tikus model diabetes yang diberikan ekstrak etanol daun sirsak selama hari 14 hari²⁸. Induksi kombucha daun sirsak juga dapat menurunkan resistensi dan meningkatkan sekresi insulin²⁸. Penelitian *in vivo* sebelumnya yang dilakukan pada tikus mengungkapkan bahwa senyawa flavonoid dapat berkontribusi pada peningkatan sekresi insulin, penurunan kadar glukosa darah abnormal, dan perbaikan komplikasi terkait diabetes yang berasal dari ketidakseimbangan profil lipid²⁹.

Kombucha daun sirsak juga mempunyai potensi sebagai antioksidan untuk menurunkan kadar glukosa darah. Mekanisme kombucha daun sirsak sebagai antioksidan dengan membentuk senyawa fenol aglikon yaitu menghilangkan glukosa pada senyawa fenol sehingga senyawa fenol lebih aktif dan mudah diserap intestinal²¹. Pernyataan tersebut dibuktikan oleh Sadewo *et. al* (2021) bahwa kombucha daun sirsak memiliki senyawa fenol yang lebih aktif dan memiliki potensi antioksidan. Mekanisme senyawa fenol pada kombucha daun sirsak sebagai antioksidan dengan penangkapan radikal bebas (*Radical scavenging*)³⁰, senyawa fenol dalam kombucha daun sirsak dapat mendonorkan atom hidrogen ke radikal bebas dan mencegah reaksi berantai yang ditimbulkan oleh radikal³¹. Selain itu mekanisme senyawa fenol dapat menetralkan radikal bebas dengan mentransfer elektron tunggal ke radikal bebas³².

Pemberian kombucha daun sirsak pada konsentrasi 2,5% dan 5% menyebabkan penurunan gula darah yang lebih signifikan, yang menunjukkan bahwa dosis 2,5% mungkin sudah optimal untuk mencapai efektivitas maksimal kandungan fenoliknya. Temuan ini sesuai dengan penelitian sebelumnya oleh Esmawati, (2015) yang melaporkan bahwa pemberian ekstrak daun sirsak secara signifikan mengurangi glukosa darah pada tikus dengan dosis 150 mg per kilogram berat badan. Namun, Esmawati, (2015) juga mencatat bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan secara statistik pada kadar gula darah di antara berbagai kelompok yang diobati dalam penelitian tersebut³³.

Menurut Yulianti *et. al* (2019) dosis ekstrak daun sirsak yang paling efektif pada tikus ditemukan sebesar 250 mg per kilogram berat badan, sehingga pada dosis yang lebih tinggi dari *maximally effective dose* tidak memberikan efek yang lebih tinggi terhadap penurunan kadar Malondialdehid (MDA)³⁴. Berdasarkan temuan ini, penggunaan kombucha daun sirsak dengan konsentrasi 5% pada kelompok perlakuan melebihi dosis efektif optimal, tidak menunjukkan manfaat tambahan jika dibandingkan dengan dosis 2,5%.

Efek Kombucha Daun Sirsak Terhadap Perubahan Morfologi (Luas Islet langerhans, % Hialiniasasi) Pankreas Ikan Zebra Model Induksi Sukrosa 4 %

Hasil penelitian didapatkan bahwa pemberian kombucha daun sirsak pada P1

meningkatkan luas area islet langerhans dan menurunkan persentase hialiniasasi jaringan pankreas secara signifikan dibandingkan kontrol positif. Hasil ini kemungkinan besar disebabkan oleh adanya senyawa fenolik dalam kombucha, yang memiliki kemampuan untuk menurunkan kadar glukosa darah. Dalam kondisi fisiologis, kadar glukosa yang tinggi merangsang pankreas untuk melepaskan insulin, hormon insulin dapat menstimulasi ekspresi gen yang terlibat dalam proliferasi dan menghambat apoptosis (kematian sel terprogram) sel beta. Pada kondisi resistensi insulin (kondisi sel-sel tubuh kurang responsif terhadap insulin), sel beta pankreas dapat meningkatkan massa dan fungsi (termasuk proliferasi) untuk mengkompensasi dan mempertahankan kadar glukosa darah yang normal, peningkatan sekresi insulin berbarengan dengan peningkatan sekresi IAPP, sehingga akumulasi IAPP yang tinggi menyebabkan hialiniasasi pada pankreas⁶.

Pemberian kombucha daun sirsak pada P1 dapat meningkatkan luas islet langerhans dibandingkan KP, dan menurunkan persentase area hialiniasasi pankreas dibandingkan KP. Hal ini berkaitan dengan potensi kombucha daun sirsak menurunkan kadar glukosa darah sehingga tidak terjadi komplikasi dari mekanisme utama yang menyebabkan kondisi stres oksidatif yang memicu apoptosis sel β . Senyawa flavonoid yang ada pada kombucha daun sirsak meningkatkan luas islet langerhans dengan bertindak sebagai antioksidan, Flavonoid bekerja dengan cara memblokir enzim tertentu dan mengikat reseptor sel yang bertanggung jawab untuk menghasilkan radikal bebas. Flavonoid juga meningkatkan aktivitas Nrf2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2), protein yang melindungi sel dari kerusakan oksidatif³⁶. Pembentukan radikal superoksida ($O_2^{\cdot-}$), yang merupakan jenis Reactive Oxygen Species (ROS), adalah langkah awal dalam proses perusakan sel. Enzim superoksida dismutase (SOD) memainkan peran penting dalam pertahanan sel dengan mengubah radikal superoksida yang berbahaya menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) yang kurang beracun. Meskipun hidrogen peroksida sendiri bukanlah radikal bebas, ia dapat berpartisipasi dalam reaksi kimia yang melibatkan logam transisi seperti besi (Fe^{2+}), yang mengakibatkan pembentukan radikal hidroksil ($\cdot OH$) yang sangat reaktif melalui apa yang dikenal sebagai reaksi Fenton. Radikal hidroksil adalah molekul yang sangat tidak stabil dan agresif yang dapat merusak membran sel dengan

memicu proses peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid ini secara langsung merusak struktur dan fungsi membran sel, yang pada akhirnya mengakibatkan kerusakan sel³⁵. Proses netralisir radikal bebas dilakukan dengan cara memberikan satu elektronnya sehingga senyawa akan menjadi lebih stabil yaitu pada H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 ³⁵. Flavonoid juga dapat membantu meningkatkan produksi insulin dalam sel beta pankreas dengan memengaruhi jalur pensinyalan ion kalsium (Ca^{2+}), mendukung integritas struktural pulau Langerhans, dan mengurangi keberadaan jaringan hialin di pankreas³³. Hal ini didukung oleh temuan *Pratama. et al. (2020)* yang mengamati bahwa dosis ekstrak daun sirsak 150 mg/kg berat badan efektif dalam meminimalkan kerusakan pulau Langerhans pada tikus dengan diabetes yang diinduksi aloksan, dikarenakan kandungan flavonoid dan tanin ekstrak daun sirsak mampu menangkap/menetralkan radikal bebas³⁷.

Dosis kombucha daun sirsak 2,5% dan 5% pada penelitian ini tidak memperbaiki luas area islet langerhans dan persentase hialinisasi dibandingkan KP. Hal ini disebabkan oleh pemberian dosis kombucha daun sirsak terlalu tinggi menyebabkan kadar fenol yang cukup tinggi hingga memicu efek prooksidan dan menimbulkan efek sitotoksik pada pankreas ikan zebra. Menurut penelitian Retno Yulianti *et al. (2019)* pemberian ekstrak daun sirsak dosis di atas 250 mg/kg berat badan pada tikus menyebabkan penurunan aktivitas antioksidan glutathione (GSH) intraseluler³⁴. Penelitian lain menyebutkan bahwa 50% ekstrak daun sirsak meningkatkan ekspresi antioksidan *superoxide dismutase-1 (SOD1)*. Meskipun, SOD1 berfungsi mengubah superoksida menjadi oxygen (O_2) dan hidrogen peroxide (H_2O_2). Penumpukan H_2O_2 dapat menyebabkan terganggunya keseimbangan sinyal redoks yang mengubah aktivitas enzim dan jalur pensinyalan oksidasi asam amino. Penumpukan H_2O_2 tidak diatasi oleh mekanisme antioksidan lainnya, dapat menyebabkan kerusakan sel hingga apoptosis sel⁹. Flavonoid juga diketahui mengikat logam transisi seperti besi (Fe) dan tembaga (Cu), yang berpotensi meningkatkan reaksi redoks yang berkontribusi pada pembentukan spesies oksigen reaktif atau radikal bebas, Kompleks flavonoid-Cu(II) atau flavonoid-Fe(III) dapat direduksi oleh reduktan endogen (seperti askorbat atau superoksida) menjadi Cu(I) atau Fe(II). Ion logam yang direduksi ini kemudian dapat bereaksi dengan H_2O_2 (yang mungkin ada dalam sel) melalui

reaksi Fenton atau *Fenton-like*, menghasilkan radikal hidroksil ($\bullet OH$) atau spesies oksigen reaktif lainnya³⁰.

P2 dan P3 tidak meningkatkan luas area dan persentase area hialinisasi pankreas. Hal ini diduga karena sel β yang telah rusak akibat diabetes pada usia dewasa tidak dapat mengalami regenerasi. Oleh karena itu, tidak terdapat peningkatan proliferasi sel β yang berdampak pada penurunan luas area dan persentase hialinisasi jaringan pankreas. Moss J *et al. (2009)* melaporkan bahwa meskipun ikan zebra dewasa penderita diabetes menunjukkan proliferasi pankreas, hal ini tidak menyebabkan pemulihan penuh struktur histologis pankreas²³. Pernyataan lain oleh Kimmel R., *et al. (2010)* bahwa pada usia dewasa kerusakan pankreas akibat diabetes tidak mengalami regenerasi sel β pankreas sehingga tidak meningkatkan luas area islet langerhans dan menurunkan % hialinisasi jaringan pankreas³⁸.

Penelitian ini memiliki keterbatasan karena tidak dilakukan penimbangan berat badan di akhir penelitian. Oleh karena itu, tidak dapat diketahui peningkatan berat badan yang dapat memicu resistensi insulin. Keterbatasan lainnya adalah penggunaan hewan coba yang berukuran kecil, sehingga terdapat risiko kehilangan data, untuk mencegah kehilangan data sebaiknya dilakukan penambahan sampel pada setiap kelompok.

KESIMPULAN

Dari data dan pembahasan yang disajikan dalam penelitian ini, dapat disimpulkan secara wajar bahwa:

1. Pemberian kombucha daun sirsak dosis 1,25% signifikan menurunkan kadar glukosa darah ikan zebra yang diinduksi sukrosa 4%.
2. Pemberian induksi kombucha 1,25% signifikan meningkatkan luas islet langerhans dan menurunkan persentase area hialinisasi pankreas ikan zebra yang diinduksi sukrosa 4 %.

SARAN

Berdasarkan hasil eksperimen, direkomendasikan bahwa:

1. Upaya penelitian di masa mendatang harus mempertimbangkan pemantauan berat badan sebelum dan sesudah pemberian kombucha daun sirsak untuk menilai efek fisiologis tambahan.
2. Penambahan jumlah sampel pada setiap kelompok perlakuan dikarenakan adanya variabilitas data yang signifikan dan mencegah hilangnya data.

UCAPAN TERIMAKASIH

Kami menyampaikan penghargaan yang tulus kepada Parents Association (IOM), Fakultas Kedokteran, UNISMA, atas pendanaan

1. American Diabetes Association. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2020. *Diabetes Care*. 2020 Jan 1;43:S14–31.
2. Galicia-Garcia U, Benito-Vicente A, Jebari S, Larrea-Sebal A, Siddiqi H, Uribe KB, et al. Pathophysiology of type 2 diabetes mellitus. Vol. 21, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG; 2020. p. 1–34.
3. 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>
4. Pasmans K, Meex RCR, Trommelen J, Senden JMG, Vaughan EE, Van Loon LJC, et al. L-arabinose co-ingestion delays glucose absorption derived from sucrose in healthy men and women: a double-blind, randomised crossover trial. *British Journal of Nutrition*. 2022 Sep 28;128(6):1072–81.
5. Jaikaran ETAS, Clark A. Islet amyloid and type 2 diabetes: from molecular misfolding to islet pathophysiology. *Biochim Biophys Acta* [Internet]. 2001; Available from: www.bba-direct.com
6. Westermark P, Andersson A, Westermark GT. Islet amyloid polypeptide, islet amyloid, and diabetes mellitus. Vol. 91, *Physiological Reviews*. 2011. p. 795–826.
7. Kitwetcharoen H, Phung LT, Klanrit P, Thanonkeo S, Tippayawat P, Yamada M, et al. Kombucha Healthy Drink—Recent Advances in Production, Chemical Composition and Health Benefits. Vol. 9, *Fermentation*. MDPI; 2023.
8. Mendelson C, Sparkes S, Merenstein DJ, Christensen C, Sharma V, Desale S, et al. Kombucha tea as an anti-hyperglycemic agent in humans with diabetes – a randomized controlled pilot investigation. *Front Nutr*. 2023;10.
9. Mutakin M, Fauziati R, Fadhilah FN, Zuhrotun A, Amalia R, Hadisaputri YE.

penelitian ini; tim peneliti atas kolaborasi mereka yang berharga; dan Dr. H. Yudi Purnomo, M.Kes., Apt, atas partisipasinya sebagai peer reviewer.

DAFTAR PUSTAKA

- Pharmacological Activities of Soursop (*Annona muricata* Lin.). Vol. 27, *Molecules*. MDPI; 2022.
10. Teame T, Zhang Z, Ran C, Zhang H, Yang Y, Ding Q, et al. The use of zebrafish (*Danio rerio*) as biomedical models. *Animal Frontiers*. 2019 Jun 25;9(3):68–77.
 11. 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>
 12. Salsabil A, Sri Damayanti D, Rina Bintari Y. Hyperglycemia and Pancreatic Damage in Sucrose-Immersion-Induced Zebrafish. 2024;
 13. Sri Damayanti D, Rina Bintari Y. Antibacterial And Antioxidant Potential of Three Kinds of Kombucha. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala* [Internet]. 2024; Available from: <https://doi.org/10.24815/jks.v24i3.37228>
 14. Eames Nalle SC, Franse KF, Kinkel MD. Analysis of pancreatic disease in zebrafish. *Methods Cell Biol*. 2017;138:271–95.
 15. Jörgens K, Hillebrands JL, Hammes HP, Kroll J. Zebrafish: A model for understanding diabetic complications. Vol. 120, *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes*. 2012. p. 186–7.
 16. Soesilawati Pratiwi. HISTOLOGI Kedokteran Dasar_Full. Surabaya: Airlangga University Press; 2020.
 17. Ferreira T, Rasband W. ImageJ User Guide ImageJ User Guide IJ 1.46r [Internet]. 2012. Available from: <http://fiji.sc/guide.git>.
 18. Azalia Putri Qonita Tillah N, Aini N, Sri Damayanti D. Pengaruh Induksi Sukrosa Pada *Danio Rerio* Terhadap Peningkatan Body Mass Index Dan Hipertrofi Droplet Lipid. 2024.
 19. Hardianti M, Yuniarto A, Hasimun P. Review: Zebrafish (*Danio Rerio*) Sebagai Model Obesitas dan Diabetes Melitus Tipe 2. *Jurnal Sains Farmasi &*

- Klinis. 2021 Aug 6;8(2):69.
20. Yashilva WA, Septia Rosdiana D, Syafina IA, Cahyadi Y, Lula F, Hendroyono K. Feasibility Analysis Of Experimental Biomedical Models In Cases Of Diabetes Mellitus Using Zebrafish (*Danio rerio*) Model ORGANISM. 2024;06(02):83–104. Available from: <https://doi.org/10.47522/jmk.v6i>
 21. Sadewo Baragain R, Rina Bintari Y, Sri Damayanti D. Penentuan Potensi Antioksidan Dan Kadar Total Fenol Kombucha Daun *Annona muricata* Linn. 2021.
 22. Yashilva WA, Septia Rosdiana D, Syafina IA, Cahyadi Y, Lula F, Hendroyono K. Analisis Kelayakan Model Biomedis Eksperimental Pada Kasus Diabetes Mellitus Menggunakan Model Organisme Ikan Zebra (*Danio rerio*) Feability Analysis Of Experimental Biomedical Models In Cases Of Diabetes Mellitus Using Zebrafish (*Danio rerio*) Model Organism. 2024;06(02):83–104. Available from: <https://doi.org/10.47522/jmk.v6i>
 23. Moss JB, Koustubhan P, Greenman M, Parsons MJ, Walter I, Moss LG. Regeneration of the pancreas in adult zebrafish. *Diabetes*. 2009
 29. Insulin Expression and Glucagon-Like Peptide-1 Level in Alloxan-Induced Mice. *Systematic Reviews in Pharmacy*. 2020;11(7).
 30. Muhammad Nurul Fadel, Emma Jayanti Besan. Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Pada Mencit yang Diinduksi Aloksan. *Indonesia Jurnal Farmasi* . 2020;5.
 31. Simunkova M, Barbierikova Z, Jomova K, Hudecova L, Lauro P, Alwasel SH, et al. Antioxidant vs. Prooxidant properties of the flavonoid, kaempferol, in the presence of Cu(II) ions: A ROS-scavenging activity, Fenton reaction and DNA damage study. *Int J Mol Sci*. 2021 Feb 2;22(4):1–17.
 32. Aminah, Maryam S, Baits M, Kalsum U. Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L) Berdasarkan Tempat Tumbuh Dengan Metode Perendaman DPPH. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 2016;3(1).
 24. Marzban L, Rhodes CJ, Steiner DF, Haataja L, Halban PA, Verchere CB. Impaired NH₂-terminal processing of human proislet amyloid polypeptide by the prohormone convertase PC2 leads to amyloid formation and cell death. *Diabetes*. 2006 Aug;55(8):2192–201.
 25. Paulsson JF, Andersson A, Westermark P, Westermark GT. Intracellular amyloid-like deposits contain unprocessed pro-islet amyloid polypeptide (proIAPP) in beta cells of transgenic mice overexpressing the gene for human IAPP and transplanted human islets. *Diabetologia*. 2006 Jun;49(6):1237–46.
 26. Rasyidah, Aisyah Hutasuhut M. Studi Etnobotani Dan Aktivitas Farmakologi Ekstrak Daun Sirsak. 2019;3(2):10–4.
 27. Santhi Priya A, Ajay Kumar N. Evaluation Of A-Amylase Inhibitory Action Of *Annona muricata* (Soursop Leaves). *International Journal of Pharmaceutical Research and Applications* [Internet]. 2022;7:734. Available from: www.ijprajournal.com
 28. Supri I. Handayani, Syafira N. Dewi, Marini Stephanie, Siti Nurbaya, Vivitri D. Prasasty. The Effect of *Annona muricata* Leaf Ethanolic Extract on
 33. Cao G, Sofic E, Prior RL. Original Contribution Antioxidant and Prooxidant Behavior Of Flavonoids: Structure-Activity Relationships. Vol. 22. 1997.
 34. Elis Esmawati. Pengaruh ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap kadar glukosa darah dan histologi pankreas tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi aloksan. *Etheses Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang*. 2015;
 35. Yulianti R, Adilla L, Prabowo I. Efektivitas Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata*) Terhadap Kadar Malondialdehid Hepar Tikus Diabetik Setelah Diinduksi Aloksan. *Farmasains : Jurnal Ilmiah Ilmu Kefarmasian*. 2020 Jun 17;6(2):65–71.
 36. Dwi Anggita D, Rosidah A, Sri Damayanti D. Pengaruh Ekstrak Air Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Apoptosis Sel β Pankreas dan Perubahan Morfologi Sel Langerhans Tikus Model Obesitas. 2022.

37. Zubaidah E, Ifadah RA, Kalsum U, Lyrawati D, Putri WDR, Srianta I, et al. Anti-diabetes activity of Kombucha prepared from different snake fruit cultivars. *Nutr Food Sci.* 2019 Mar 6;49(2):333–43.
38. Pratama RY, Pranitasari N, Purwaningsari D. Pengaruh Ekstrak Daun Sirsak Terhadap Gambaran Histopatologi Pankreas Rattus Norvegicus Jantan yang Diinduksi Aloksan. *Hang Tuah Medical Journal.* 2020;17:102–204.
39. Kimmel RA, Meyer D. Molecular regulation of pancreas development in zebrafish. Vol. 100, *Methods in Cell Biology.* 2010. 261–280 p.

