

PEMBERIAN SUKROSA KONSENTRASI 1%, 2%, DAN 4% SELAMA 28 HARI MENINGKATKAN KERUSAKAN SEL HEPAR PADA IKAN ZEBRA (*Danio rerio*)

Tita Setia Wany, Noer Aini, Dini Sri Damayanti*
Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Sukrosa, sebagai gula yang banyak dikonsumsi, dapat meningkatkan kadar glukosa darah dan memicu hiperglikemia yang berisiko menyebabkan kerusakan organ, termasuk hepar. Ikan zebra (*Danio rerio*) dipilih sebagai model hewan coba karena kesamaan genomnya dengan manusia dan kemiripan sistem organ. Meskipun telah ada penelitian mengenai pemberian sukrosa, belum ada yang mengkaji pengaruh konsentrasi sukrosa 1%, 2%, dan 4% terhadap kerusakan hepar pada ikan zebra. Penelitian ini bertujuan untuk mengonfirmasi hubungan antara hiperglikemia dan kerusakan hepar dengan menggunakan ikan zebra sebagai model.

Metode: Penelitian secara eksperimental dengan menggunakan posttest-only control design pada ikan zebra. Kelompok penelitian terdiri dari tiga kelompok perlakuan dengan konsentrasi sukrosa 1%, 2%, dan 4%, serta satu kelompok kontrol tanpa pemberian sukrosa. Masing-masing kelompok terdiri dari 30 ekor ikan zebra. Diberikan selama 28 hari. Pembuatan preparat histologi hepar dengan pewarnaan hematoxylin-eosin (HE) dilakukan untuk mendeteksi adanya kerusakan sel hepatosit yaitu nekrosis (piknosis, karioreksis, kariolisis, dan membrane lisis) serta steatosis hepatosit menggunakan mikroskop trinokuler dengan pembesaran 400x, 10 per lapang pandang dan 3 pengamat. Analisis data menggunakan uji Kruskal Wallis dan uji Mann-Whitney ($p < 0.05$).

Hasil: Rerata jumlah sel yang mengalami karioreksis pada kelompok 4% (327.5 ± 4.45) berbeda secara signifikan dibandingkan kelompok normal (40.99 ± 3.5), kelompok 1% (164.94 ± 20.33), kelompok 2% (255.33 ± 22.25). Begitupula pada variabel piknosis, kariolisis, dan membrane lisis. Rerata jumlah sel yang mengalami steatosis pada kelompok 4% (347.83 ± 13.61) berbeda secara signifikan dibandingkan kelompok normal (104.95 ± 0.13), kelompok 1% (144.56 ± 2.29), dan kelompok 2% (279.11 ± 7.98).

Kesimpulan: Terdapat perbedaan signifikan pada rerata jumlah sel yang mengalami nekrosis dan steatosis pada ikan zebra yang diberikan sukrosa konsentrasi 1%, 2%, dan 4%. Semakin tinggi konsentrasi sukrosa maka semakin banyak jumlah sel hepar yang mengalami nekrosis dan steatosis.

Kata Kunci: Sukrosa, hiperglikemia, hepar, steatosis, nekrosis, *Danio rerio*.

*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 ADMINISTERING SUCROSE AT CONCENTRATIONS OF 1%, 2%, AND 4% ON LIVER CELL DAMAGE IN ZEBRAFISH (*Danio rerio*)

Tita Setia Wany, Noer Aini, Dini Sri Damayanti*
Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

ABSTRACT

Introduction: Sucrose, as a widely consumed sugar, can increase blood glucose levels and trigger hyperglycemia, which poses a risk of causing organ damage, including to the liver. Zebrafish (*Danio rerio*) were chosen as an animal model due to their genomic similarity to humans and the resemblance of their organ systems. Although there have been studies on the administration of sucrose, none have examined the effects of sucrose concentrations of 1%, 2%, and 4% on liver damage in zebrafish. This study aims to confirm the relationship between hyperglycaemia and liver damage using zebrafish as a model.

Methods: This study employs experimental research using a posttest-only control design with zebrafish as subjects. The research group consists of three treatment groups with sucrose concentrations of 1%, 2%, and 4%, and one control group without sucrose administration. Each group consists of 30 zebrafish. The experiment was conducted over a period of 28 days. The preparation of liver histology specimens with haematoxylin-eosin (HE) staining was performed to detect hepatocyte cell damage, namely necrosis (pyknosis, karyorrhexis, karyolysis, and membrane lysis) as well as hepatocyte steatosis using a trinocular microscope with 400x magnification, 10 per field of view, and 3 observers. Data analysis used the Kruskal-Wallis test and the Mann-Whitney test ($p < 0.05$).

Results: The average number of cells undergoing karyorrhexis in the 4% group (327.5 ± 4.45) was significantly different compared to the normal group (40.99 ± 3.5), the 1% group (164.94 ± 20.33), and the 2% group (255.33 ± 22.25). The same was observed for the variables of pyknosis, karyolysis, and membrane lysis. The average number of cells undergoing steatosis in the 4% group (347.83 ± 13.61) was significantly different compared to the normal group (104.95 ± 0.13), the 1% group (144.56 ± 2.29), and the 2% group (279.11 ± 7.98).

Conclusion: There is a significant difference in the average number of cells experiencing necrosis and steatosis in zebrafish given sucrose concentrations of 1%, 2%, and 4%. The higher the sucrose concentration, the greater the number of liver cells experiencing necrosis and steatosis.

Keywords: Sucrose, hyperglycemia, liver, steatosis, necrosis, *Danio rerio*.

*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

Saat ini konsumsi sukrosa pada anak meningkat seiring dengan perubahan gaya hidup¹. Konsumsi sukrosa secara berlebihan baik dalam minuman maupun makanan dapat memicu terjadinya hiperglikemia. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Magriplis (2021), konsumsi sukrosa lebih dari 10% dari kebutuhan kalori memicu terjadinya hiperglikemia dan obesitas pada anak². Obesitas merupakan faktor resiko terjadinya Diabetes mellitus tipe 2³. Selain itu, hiperglikemia kronis juga dapat meningkatkan stress oksidatif di hepar yang dapat memicu terjadinya nekrosis dan steatosis sel hepatosit. Pernyataan ini didukung oleh hasil penelitian yang dilakukan oleh Mobasheri (2023) yang membuktikan bahwa hiperglikemia meningkatkan resiko terjadinya nekrosis dan steatosis sel hepatosit⁴.

Diet yang mengandung sukrosa di usus akan dipecah menjadi glukosa dan fruktosa oleh enzim amilase. Kedua jenis monosakarida ini berkontribusi terhadap peningkatan kadar glukosa darah. Hiperglikemia kronis akan menyebabkan gangguan metabolisme, termasuk peningkatan lipolisis dan produksi asam lemak bebas yang berlebihan. Asam lemak bebas ini kemudian terakumulasi di hepar, yang pada akhirnya berkontribusi pada proses patologis di organ tersebut⁵. Selain itu, jaringan adiposit yang mengalami resistensi insulin akan melepaskan faktor proinflamasi seperti tumor necrosis factor- α (TNF- α) dan hormon leptin, yang semakin memperburuk kondisi tersebut dengan meningkatkan stres oksidatif pada mitokondria. Stres oksidatif ini, ditambah dengan hiperglikemia, menyebabkan produksi radikal bebas yang dapat memicu peradangan dan akhirnya berujung pada kerusakan sel hepatosit dalam bentuk steatosis dan nekrosis⁵.

Untuk memahami mekanisme kerusakan sel hepar pada kondisi hiperglikemi dibutuhkan model hewan coba. Salah satu model hewan yang telah banyak digunakan dalam penelitian terkait hiperglikemia adalah ikan zebra (*Danio rerio*). Ikan zebra dipilih karena memiliki struktur genom yang mirip dengan manusia hingga 70%, serta pemeliharaannya yang mudah dan sistem organ yang mirip dengan mamalia, termasuk sistem saraf, kardiovaskuler, dan sistem pencernaan. Penelitian yang melibatkan ikan zebra sebagai model hiperglikemia menunjukkan bahwa pemberian sukrosa pada konsentrasi 2% secara bertahap dapat menyebabkan peningkatan kadar sukrosa dalam darah yang bertahan hingga 8 minggu⁶. Namun demikian penelitian berkaitan dengan efek pemberian sukrosa belum dilakukan sehingga hal ini merupakan peluang bagi peneliti untuk membuktikan pengaruh pemberian sukrosa dengan konsentrasi 1%, 2%, dan 4% terhadap kerusakan organ hepar pada ikan zebra dan mengonfirmasi teori yang ada mengenai hubungan antara hiperglikemia dan kerusakan organ, khususnya hepar.

METODE PENELITIAN

Desain, Waktu, dan Tempat Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental laboratorium dengan *Posttest-Only Control Design* secara *in vivo*. Sampel penelitian ini terdiri dari empat kelompok perlakuan, yaitu kelompok kontrol negatif (KN) yang tidak diberi pemberian, serta tiga kelompok perlakuan yaitu K1 (pemberian sukrosa 1%), K2 (pemberian sukrosa 2%), dan K3 (pemberian sukrosa 4%). Masing-masing kelompok terdiri dari 30 ekor ikan zebra (*Danio rerio*). Penelitian ini telah memperoleh persetujuan etik dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang dengan nomor sertifikat No.077/LE.003/X/03/2023.

Penelitian ini dilaksanakan di dua tempat yang berbeda. Tahap pemeliharaan, aklimatisasi, pengukuran sukrosa darah, pembedahan, dan fiksasi akan dilakukan di Laboratorium Budidaya Ikan, Divisi Reproduksi Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan (FPIK), Universitas Brawijaya, Malang, pada bulan Agustus hingga September 2023. Selanjutnya, tahap dehidrasi, perendaman, pencetakan, pemotongan, pewarnaan, mounting, pengamatan, dan skoring jaringan akan dilaksanakan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang, pada bulan Oktober hingga Desember 2023.

Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan ikan zebra (*Danio rerio*) jantan berusia 3-4 bulan yang diperoleh dari Laboratorium Budidaya Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan (FPIK), Universitas Brawijaya, Malang. Ikan dengan panjang 3-5 cm ini telah melalui proses identifikasi dan sertifikasi oleh Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga, dengan nomor 71/ULMKILP/UA.FPK/12/2023. Pemilihan spesimen jantan didasarkan pada karakteristik fisik yang khas (warna lebih cerah, perut ramping, dan gerakan gesit) serta untuk meminimalkan variasi hormonal.

Sebelum perlakuan, ikan menjalani proses aklimatisasi selama 7 hari dalam kondisi terkontrol (suhu air 28°C, siklus terang-gelap 14:10 jam) dengan pemberian pakan pelet komersial tiga kali sehari. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap dengan empat kelompok perlakuan: kontrol (KN), sukrosa 1% (K1), 2% (K2), dan 4% (K3). Setiap kelompok terdiri dari 30 ekor ikan yang dibagi dalam 5 unit akuarium berisi 2L air (6 ekor/akuarium) sebagai ulangan. Selama 28 hari perlakuan, air media diganti setiap 48 jam untuk menjaga kualitas air dan mencegah kontaminasi mikroba.

Pemilihan model *Danio rerio* didasarkan pada beberapa pertimbangan: (1) kesamaan genetik ~70% dengan manusia, (2) sistem hepatis yang homolog, (3) kemudahan pemeliharaan, dan (4) etika penelitian yang lebih sederhana dibanding vertebrata tingkat tinggi. Setelah periode perlakuan, ikan dibedah untuk pengambilan organ hepar dengan memperhatikan protokol kesejahteraan hewan.

Pembuatan Preparat Histologi Hepar dengan Pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE)

Proses pewarnaan jaringan hepar dilakukan dengan teknik hematoxylin-eosin (H&E) mengikuti protokol standar. Preparat jaringan terlebih dahulu dideparafinisasi menggunakan xylol I, II, dan III masing-masing selama 5 menit. Tahap rehidrasi dilakukan melalui serangkaian alkohol dengan konsentrasi menurun (96%, 80%, dan 70%) masing-masing selama 5 menit, kemudian dibilas dengan air suling. Jaringan diwarnai dengan hematoxylin Meyer selama 7 menit untuk menandai inti sel, dilanjutkan pembilasan dengan air mengalir selama 5 menit. Pewarnaan sitoplasma dilakukan menggunakan eosin selama 10 detik. Preparat kemudian didehidrasi kembali melalui larutan alkohol dengan konsentrasi meningkat (70%, 80%, dan 96%) masing-masing selama 5 menit, dan diklarifikasi dengan xylol I, II, dan III.

Perhitungan Derajat Kerusakan Sel Hepar

Preparat jaringan hepar diamati menggunakan mikroskop trinokuler Olympus IX53 dengan perbesaran 400 kali. Pengambilan gambar dilakukan secara sistematis dengan pola zig-zag untuk memastikan representasi seluruh area jaringan. Kriteria penilaian kerusakan sel ditetapkan sebagai berikut: (1) Nekrosis hepatosit ditandai dengan adanya piknosis (pengkerutan inti sel), karioreksis (fragmentasi inti), kariolisis (pelarutan inti sel), dan membran sel lisis; (2) Steatosis diidentifikasi melalui adanya vakuola lemak intrasitoplasmik yang jelas.

Proses kuantifikasi dilakukan oleh tiga pengamat independen yang telah terlatih untuk meminimalkan bias subjektif. Setiap pengamat menghitung jumlah sel yang menunjukkan kriteria kerusakan pada 10 bidang pandang acak dari setiap preparat. Data hasil pengamatan dicatat dalam Microsoft Excel dan dianalisis untuk mendapatkan nilai rata-rata per kelompok.

Teknik Analisis Data

Analisis data dilakukan secara kuantitatif menggunakan program SPSS versi 26.0. Data deskriptif disajikan dalam bentuk rata-rata $\pm$ standar deviasi. Distribusi data numerik dinilai dengan uji Shapiro-Wilk. Pengujian hypothesis dilakukan dengan uji non parametrik Kruskal-Wallis. Selanjutnya uji post-hoc Mann-Whitney dilakukan untuk mengkonfirmasi perbedaan antar kelompok. Hasil uji statistik dianggap signifikan jika p-value < 0.05 .

HASIL DAN ANALISA DATA

Karakteristik Sampel Penelitian

Karakteristik sampel penelitian merupakan data dasar ikan zebra (*Danio rerio*) yang menjadi sampel penelitian, termasuk jumlah sampel, usia, jenis kelamin, rata-rata berat badan, jenis pemberian, dan waktu pemberian. Karakteristik dasar ini penting diketahui untuk memastikan homogenitas populasi sampel, meminimalisir bias, dan menjaga validitas hasil penelitian. Karakteristik sampel penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1.

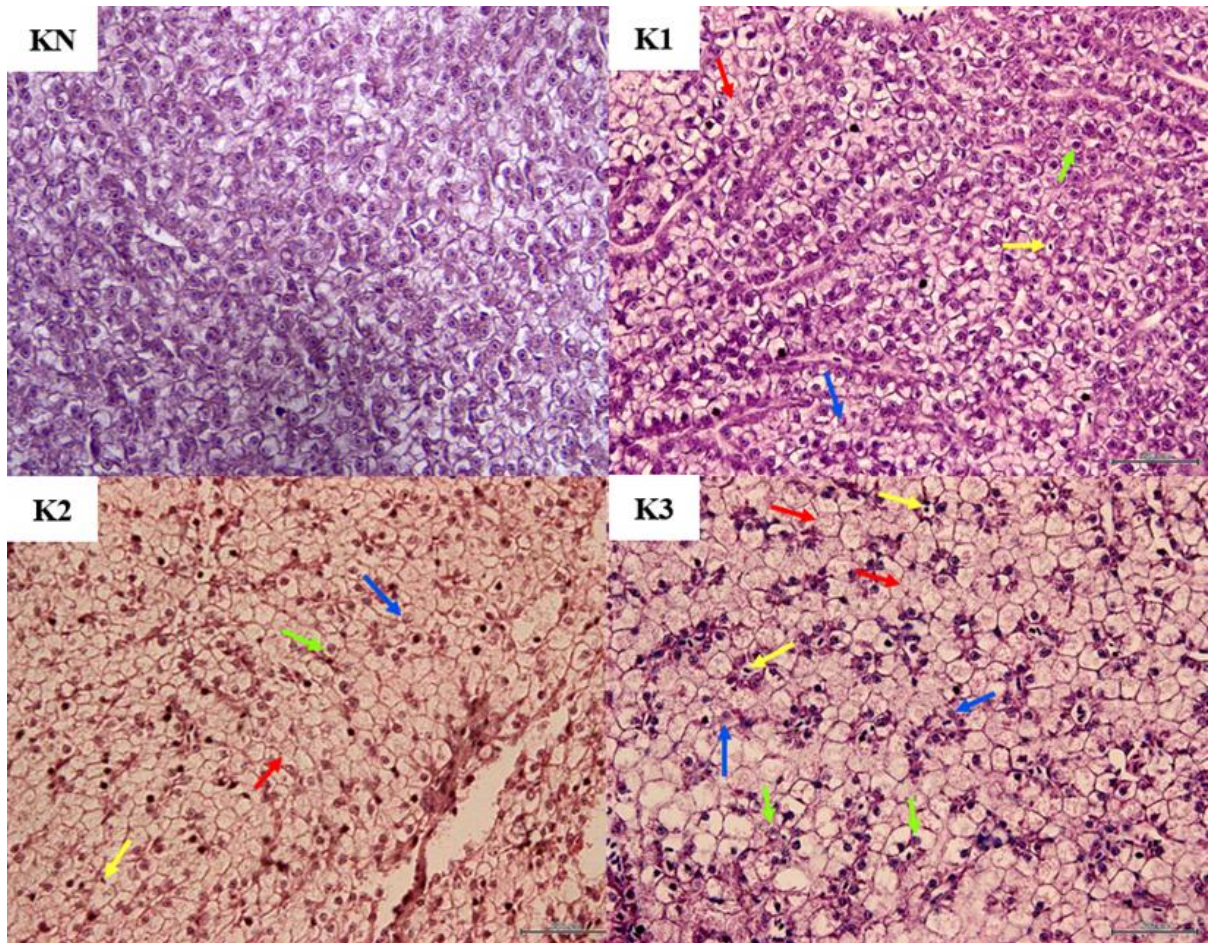
Tabel 1. Karakteristik Dasar Sampel Penelitian

Karakteristik	KN	K1	K2	K3
Jenis sample	Ikan zebra	Ikan zebra	Ikan zebra	Ikan zebra
Usia	3-4 bulan	3-4 bulan	3-4 bulan	3-4 bulan
Jumlah sampel	30	30	30	30
Jenis kelamin	Jantan	Jantan	Jantan	Jantan
Δ Rata-rata peningkatan berat badan	0.02 gram	0.16 gram	0.24 gram	0.34 gram
Jenis pemberian sukrosa	Tanpa pemberian sukrosa	Pemberian sukrosa 1%	Pemberian sukrosa 2%	Pemberian sukrosa 4%
Waktu pemberian sukrosa	28 hari	28 hari	28 hari	28 hari

Keterangan: Sampel yang digunakan *Danio rerio*, jenis kelamin jantan, usia 3-5 bulan dengan pemberian selama 28 hari. KN merupakan kelompok kontrol tanpa pemberian, K1 adalah kelompok dengan pemberian sukrosa 1%, K2 adalah kelompok dengan pemberian 2%, dan K3 adalah kelompok dengan pemberian sukrosa 4%.

Pengaruh Pemberian Sukrosa terhadap Derajat Nekrosis Hepatosit Ikan Zebra

Hasil nekrosis sel hepatosit akibat pemberian sukrosa 1%, 2%, dan 4% ditampilkan pada Gambar 1, kemudian dilakukan perhitungan rata-rata jumlah sel yang rusak yang disajikan pada Tabel 2.



Gambar 1: Histopatologi nekrosis sel hepatosit ikan zebra (*Danio rerio*) perbesaran 400x, pewarnaan HE

Keterangan: A = Kelompok kontrol (KN), B = Kelompok konsentrasi 1% (K1), C = Kelompok konsentrasi 2% (K2), D = Kelompok konsentrasi 4% (K3). Warna kuning (→) menunjukkan adanya piknosis, yang ditandai dengan penyusutan nukleus atau nukleus yang tampak kecil. Warna hijau (→) menggambarkan karioreksis, yang terlihat dengan nukleus yang pecah menjadi fragmen-fragmen kecil. Warna biru (→) menunjukkan kariolisis, yang ditandai dengan nukleus yang tampak hancur atau larut, disertai hilangnya kromatin dan struktur nuklear yang tidak terlihat. Sementara itu, warna merah (→) mengindikasikan membran lisis, yang ditandai dengan hilangnya kontur sel akibat pembengkakan dan ruptur.

Tabel 2. Rata Rata Jumlah Hepatosit yang Mengalami Nekrosis Akibat Pemberian Sukrosa 1%, 2%, dan 4%

Kelompok	Piknosis	Karioreksis	Kariolisis	Membran Lisis	Total Nekrosis
KN	65.55±2.72	40.99±3.5	44±2.27	41.55±1.09	192±11,76
K1	159.28±23.1 ^a	164.94±20.33 ^a	172.05±11.93 ^a	186.94±20.03 ^a	680±11,95 ^a
K2	268.05±24.86 ^{a,b}	255.33±22.25 ^{a,b}	275.27±10.66 ^{a,b}	245.11±7.57 ^{a,b}	1044±13,39 ^{a,b}
K3	318.11±14.49 ^{a,b,c}	327.5±4.45 ^{a,b,c}	324.55±24.12 ^{a,b,c}	301.66±33.03 ^{a,b,c}	1272±11,55 ^{a,b,c}
Total	811,00	788,78	813,11	775,28	

Keterangan: Data dalam Mean ± Standar deviasi. Total Nekrosis adalah Jumlah sel yang mengalami piknosis, karioreksis, kariolisis, dan membrane lisis. KN = Kelompok normal (kelompok kontrol), K1 = Kelompok konsentrasi 1%, K2 = Kelompok konsentrasi 2%, K3 = Kelompok konsentrasi 4%.

*Data telah dianalisis dengan uji Kruskal-Wallis untuk mengonfirmasi adanya perbedaan jumlah nekrosis antar kelompok perlakuan ($p \leq 0,05$). Notasi huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan signifikan antar kelompok berdasarkan uji Mann Whitney.

a. berbeda secara signifikan dengan kelompok normal

b. berbeda secara signifikan dengan kelompok 1%

c. berbeda secara signifikan dengan kelompok 2%

Berdasarkan Gambar 1, panel B, C, dan D menunjukkan perubahan histopatologis pada beberapa sel, yang meliputi piknosis, karioreksis, kariolisis, dan membran lisis, yang masing-masing ditandai dengan panah berwarna tertentu pada setiap

panel. Panel A hingga D menunjukkan perubahan yang berbeda pada setiap kelompok perlakuan, dengan perubahan yang semakin jelas seiring dengan peningkatan konsentrasi perlakuan. Piknosis, yang ditandai dengan warna kuning, menunjukkan

perubahan inti sel yang mengecil dan mengeras. Karioreksis, yang ditandai dengan warna hijau, menunjukkan pecahnya inti sel menjadi fragmen-fragmen kecil. Kariolisis, yang ditandai dengan warna biru, menggambarkan larutnya materi nukleus. Membran lisis, yang ditandai dengan warna merah, menunjukkan kerusakan pada membran sel yang mengarah pada pembentukan lubang atau kehancuran struktur seluler. Perubahan-perubahan ini mencerminkan berbagai tingkat kerusakan yang terjadi pada sel berdasarkan konsentrasi yang diberikan. Selanjutnya, pada Tabel 2, Tabel ini

menunjukkan rata-rata jumlah total nekrosis akibat pemberian sukrosa pada konsentrasi 1%, 2%, dan 4% pada Kelompok Normal (KN), K1 (1%), K2 (2%), dan K3 (4%). Proses nekrosis ditandai dengan perubahan inti seperti piknosis, karioreksis, kariolisis, dan membran lisis. Hasilnya menunjukkan peningkatan total nekrosis signifikan antar kelompok perlakuan. Temuan ini mengindikasikan bahwa konsentrasi sukrosa yang lebih tinggi meningkatkan nekrosis secara signifikan. Hasil analisa korelasi antara perlakuan induksi sukrosa dengan total nekrosis sel hepatosit dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Analisis Uji Korelasi Spearman antara perlakuan dengan total nekrosis

		Perlakuan	Total Nekrosis
Spearman's rho	Perlakuan	Correlation Coefficient	1.000
		Sig. (2-tailed)	0.969**
		N	< 0.001
	Total Nekrosis	N	24
		Correlation Coefficient	0.969**
		Sig. (2-tailed)	1.000
		N	< 0.001
		N	24

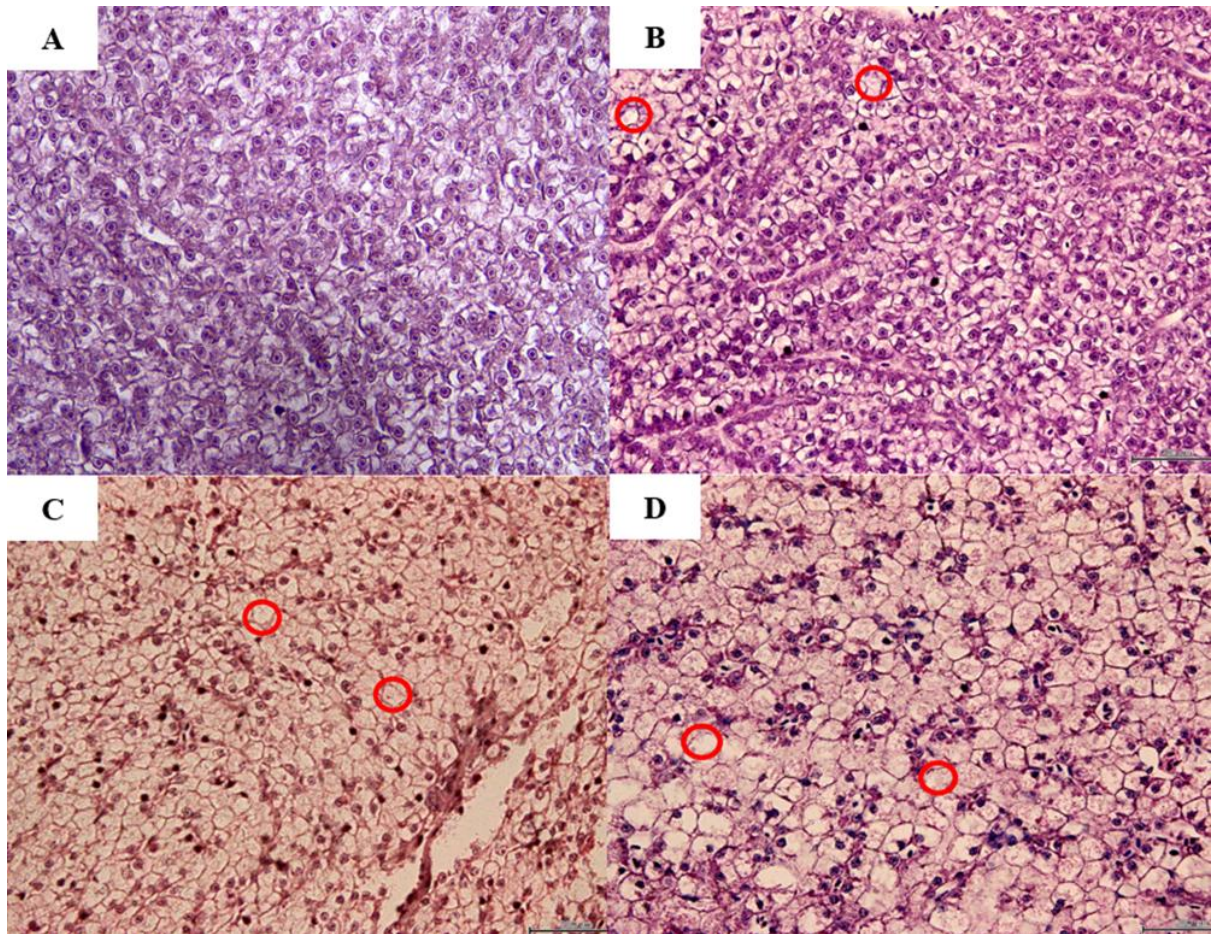
Keterangan: Hasil uji korelasi Spearman antara empat parameter morfologi sel, yaitu piknosis, karioreksis, kariolisis, dan membran lisis. Pasangan variabel dengan notasi “**” menunjukkan korelasi yang sangat kuat dan signifikan pada tingkat signifikansi 0,01 (2-tailed).

Berdasarkan Tabel 3, hasil uji korelasi Spearman antara perlakuan dengan total nekrosis. Pada uji ini, terdapat dua variabel yang dianalisis, yaitu perlakuan dan total nekrosis. Spearman's rho, yang digunakan untuk mengukur kekuatan dan arah hubungan antara dua variabel ordinal atau tidak berdistribusi normal, menunjukkan bahwa ada korelasi positif yang sangat kuat antara perlakuan dengan total nekrosis, dengan koefisien korelasi sebesar 0,969. Tanda “**” menunjukkan bahwa korelasi ini sangat signifikan pada tingkat signifikansi 0,01 (2-tailed), yang berarti hubungan antara kedua variabel ini sangat kuat dan dapat dipastikan tidak terjadi karena kebetulan.

Selain itu, nilai signifikansi untuk korelasi antara perlakuan dan total nekrosis adalah kurang dari 0,001, yang menunjukkan bahwa hubungan ini sangat signifikan secara statistik. Kedua variabel ini, yang melibatkan empat parameter morfologi sel (piknosis, karioreksis, kariolisis, dan membran lisis), menunjukkan bahwa semakin intensif perlakuan, semakin besar total nekrosis yang terjadi. Hal ini mengindikasikan adanya hubungan yang erat antara perlakuan yang diberikan dan peningkatan tingkat nekrosis pada sampel yang dianalisis.

Pengaruh Pemberian Sukrosa terhadap Derajat Steatosis Hepatosit Ikan Zebra

Sel hepatosit yang mengalami steatosis ditunjukkan pada Gambar 2 dan hasil perhitungan rata-rata derajat steatosis dapat dilihat di Tabel 4.



Gambar 2: Histopatologi steatosis sel hepatosit ikan zebra (*Danio rerio*) perbesaran 400x, pewarnaan HE

Keterangan: A = Kelompok kontrol (KN), B = Kelompok konsentrasi 1% (K1), C = Kelompok konsentrasi 2% (K2), D = Kelompok konsentrasi 4% (K3). Lingkaran merah menunjukkan sel yang mengalami steatosis yang ditandai dengan vakuola besar di dalam sitoplasma hepatosit.

Rata-rata jumlah sel yang mengalami steatosis dapat dilihat pada Tabel 4. Tabel tersebut menunjukkan bahwa pemberian sukrosa dengan konsentrasi 1%, 2%, dan 4% menyebabkan kerusakan sel hepar pada ikan zebra, yang ditandai dengan tingginya rata-rata

jumlah sel hepatosit yang mengalami steatosis pada semua kelompok. Semakin tinggi dosis semakin banyak hepatosit yang mengalami steatosis $p < 0.05$. Hasil analisa jumlah hepatosit yang mengalami steatosis dapat dilihat pada tabel 4 dibawah ini.

Tabel 4. Rata Rata Jumlah Hepatosit yang Mengalami Steatosis Akibat Pemberian Sukrosa 1%, 2%, dan 4%

Kelompok	Steatosis
KN	104,95±0,13
K1	144,56±2,29 ^a
K2	279,11±7,98 ^{a,b}
K3	347,83±13,61 ^{a,b,c}

Keterangan: Data dalam bentuk Mean ± Standar deviasi. KN = Kelompok normal (kelompok kontrol), K1 = Kelompok konsentrasi 1%, K2 = Kelompok konsentrasi 2%, K3 = Kelompok konsentrasi 4%

*Data telah dianalisis dengan uji Kruskal-Wallis untuk mengkonfirmasi adanya hubungan antara nekrosis dengan pemberian sukrosa ($p \leq 0,05$). Notasi huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan signifikan antar kelompok berdasarkan uji Mann Whitney.

a. berbeda secara signifikan dengan kelompok normal

b. berbeda secara signifikan dengan kelompok 1%

c. berbeda secara signifikan dengan kelompok 2%

Hasil analisa korelasi antara perlakuan pemberian sukrosa 1%, 2% dan 4% terhadap jumlah sel yang mengalami steatosis didapatkan adanya hubungan positif yang signifikan dengan tingkat keeratan hubungan sebesar 97%. Makna dari

hasil tersebut adalah 97% terjadinya steatosis pada penelitian ini disebabkan karena faktor induksi sukrosa. Hasil analisa korelasi tersebut dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Analisis Uji Korelasi Spearman Antara Pemberian Sukrosa dengan Steatosis Hepatosit

Spearman's rho	Steatosis	Steatosis	Perlakuan
		Correlation Coefficient	1.000
		Sig. (2-tailed)	0.974**
		N	24
	Perlakuan	Correlation Coefficient	0.974**
		Sig. (2-tailed)	< 0.001
		N	24

Keterangan: Hasil uji korelasi Spearman antara modifikasi konsentrasi sukrosa dengan steatosis. Pasangan variabel dengan notasi **** menunjukkan korelasi yang sangat kuat dan signifikan pada tingkat signifikansi 0,01 (2-tailed).

Hasil uji korelasi Spearman pada Tabel 5 menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang sangat kuat dan signifikan antara perlakuan pemberian sukrosa dan tingkat steatosis hepatosit, dengan nilai koefisien korelasi sebesar 0,974 dan signifikansi (p) < 0,001. Ini berarti bahwa semakin tinggi atau semakin intens perlakuan sukrosa yang diberikan, maka semakin tinggi pula derajat steatosis yang

terjadi pada sel hati. Steatosis hepatosit sendiri merupakan akumulasi abnormal lemak dalam sel hati yang umumnya mencerminkan gangguan metabolisme lipid akibat beban nutrisi berlebih, termasuk konsumsi sukrosa. Korelasi yang sangat tinggi ini menunjukkan bahwa perlakuan berperan penting dalam memicu proses patologi pada hati, khususnya dalam konteks pembentukan steatosis.

PEMBAHASAN

Karakteristik Sampel Penelitian

Desain karakteristik sampel dalam penelitian ini disusun untuk memastikan bahwa setiap kelompok perlakuan memiliki kondisi dasar yang seragam, sehingga efek yang diamati merupakan akibat dari perlakuan yang diberikan, bukan karena perbedaan faktor biologis atau lingkungan lainnya. Hal ini sejalan dengan prinsip validitas internal dalam penelitian eksperimental, di mana kontrol terhadap variabel bebas dan pengganggu sangat penting untuk menghasilkan data yang akurat dan dapat dipercaya⁷.

Penelitian menggunakan ikan zebra sebagai sampel populasi. Alasan pemilihan hewan coba tersebut adalah ukuran tubuh yang kecil sehingga tidak membutuhkan ruangan yang besar untuk perawatan, biaya perawatan lebih murah, memiliki kesamaan genetik sebesar 70% dengan manusia, mudah dikembangbiakkan⁸, histologi hepar, dan jalur metabolisme lipid yang homolog dengan mamalia, sehingga menjadikannya platform relevan dalam studi hepatotoksitas dan penyakit metabolik, termasuk *Non-Alcoholic Fatty Liver Disease* (NAFLD)⁹.

Homogenitas dalam hal jenis kelamin, usia, dan kondisi lingkungan pemeliharaan juga menjadi perhatian utama dalam penelitian ini. Jenis kelamin ikan zebra dipilih jantan dengan alasan untuk menghindari bias penelitian, karena pada ikan zebra betina terdapat hormon Estrogen, terutama estradiol, yang berfluktuasi akibat siklus reproduksi¹⁰. Perubahan hormonal ini dapat memengaruhi perilaku, fisiologi, dan ekspresi gen yang menyebabkan hasil eksperimen menjadi tidak konsisten. Estrogen juga berperan sebagai antioksidan endogen sehingga dapat mengurangi stress oksidatif akibat hiperglikemia hepar¹¹. Hasil penelitian yang dilakukan oleh peneliti sebelumnya membuktikan bahwa pemberian 17 beta estradiol pada tikus betina tua dapat meningkatkan kadar SOD, MDA, dan Glutathion sebesar 18%, 15% dan 11% dibandingkan tikus tua tanpa perlakuan.

Penelitian juga membuktikan bahwa pemberian 17 beta estradiol dapat menurunkan lipid peroksidasi dan perbaikan histologi dari hepar tikus

tua dibandingkan kontrol positif¹². Pada ikan zebra jantan yang dilakukan partial hepatektomi, setelah pemberian estrogen menyebabkan penurunan mediator inflamasi sehingga meregulasi proses regenerasi dari sel hepatosit, dibandingkan kontrol positif yang tidak mendapatkan estrogen¹³. Penggunaan ikan zebra jantan membantu meminimalkan variabilitas tersebut^{10,11}. Selain itu, ikan zebra jantan memproduksi hormon testosteron yang kadarnya relatif lebih stabil dan tidak mengalami fluktuasi siklik seperti estrogen pada betina. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Li et al. (2019) menunjukkan bahwa hormon testosteron tidak mempunyai kemampuan untuk mencegah terjadinya kerusakan hepar. Hasil penelitian tersebut melaporkan bahwa ikan zebra model hepatoma dan diterapi dengan testosteron akan semakin meningkatkan proliferasi dan progresivitas hepatoma secara signifikan dibandingkan dengan kelompok model hepatoma yang mengalami knockout reseptor androgen. Temuan ini menunjukkan bahwa testosteron tidak memiliki efek sebagai hepatoprotektor¹⁴.

Pemilihan ikan zebra usia 3-4 bulan dalam penelitian ini dilakukan karena pada rentang usia tersebut, ikan zebra telah memasuki fase dewasa secara biologis. Siklus hidup ikan zebra dimulai dari tahap embrio (0-3 hari setelah pembuahan), kemudian masuk ke tahap larva (3-30 hari), lanjut ke tahap juvenil atau remaja (30-90 hari), dan akhirnya mencapai usia dewasa pada umur ≥ 90 hari. Menurut Parichy (2009), pada usia 3-4 bulan, organ reproduksi ikan zebra sudah matang dan hormonnya mulai stabil¹⁵. Hal ini menunjukkan bahwa ikan zebra sudah siap bereproduksi dan secara fisiologis lebih stabil, sehingga lebih ideal digunakan dalam penelitian. Dengan menggunakan ikan zebra yang sudah dewasa, hasil yang diperoleh diharapkan lebih konsisten dan tidak terpengaruh oleh perubahan biologis yang masih terjadi pada tahap perkembangan sebelumnya.

Adapun alasan penggunaan jumlah sampel ikan zebra sebanyak 30 ekor perkelompok sesuai

aturan OECD bahwa setiap liter diisi 5-6 ekor ikan zebra. Disamping itu jumlah tersebut dilakukan untuk menghindari hilangnya data karena risiko kematian yang tinggi dari induksi sukrosa¹⁶. Seluruh sampel dipelihara dalam kondisi lingkungan yang dikendalikan, yaitu suhu air dipertahankan pada 26-28°C dan pH pada kisaran 7,2. Pengendalian variabel lingkungan ini bertujuan untuk meminimalkan adanya variabel pengganggu yang dapat memengaruhi hasil penelitian, khususnya dalam hal respon fisiologis dan biokimiawi terhadap perlakuan sukrosa¹⁷.

Pembuatan model ikan zebra dengan kondisi hiperglikemia dapat dikembangkan melalui pendekatan genetik maupun non-genetik. Pendekatan non-genetik dilakukan melalui induksi diet dan pemberian obat. Induksi diet yang sering digunakan untuk menyebabkan hiperglikemia pada ikan zebra antara lain adalah induksi glukosa, induksi sukrosa, induksi diet tinggi lemak menggunakan kuning telur, serta diet tinggi kolesterol yang digabung dengan induksi tinggi glukosa¹⁸. Dalam penelitian ini, pemberian larutan sukrosa dilakukan dengan berbagai konsentrasi 1%, 2%, dan 4%. Pemberian sukrosa diketahui dapat memicu kondisi hiperglikemia pada ikan zebra, sebagaimana telah dibuktikan dalam beberapa penelitian sebelumnya. Salah satu penelitian yang dilakukan oleh Ranjan & Sharma (2018) melaporkan bahwa perendaman ikan zebra dewasa dalam larutan sukrosa berkonsentrasi 83,25 mM selama 14 hari mampu meningkatkan kadar glukosa darah secara signifikan¹⁹. Hasil serupa juga ditemukan oleh Benchoula dkk (2019), yang menunjukkan bahwa perendaman ikan zebra dewasa dalam larutan sukrosa dengan konsentrasi 1%, 2% dan 4% selama 28 hari menyebabkan peningkatan kadar glukosa darah, yang mengindikasikan terjadinya hiperglikemia²⁰.

Beberapa penelitian sebelumnya, sebagaimana dilaporkan oleh Zang et al. (2018), juga menunjukkan bahwa pemberian glukosa dengan variasi konsentrasi dan durasi pemberian (selama 2 bulan, 14 hari, dan 28 hari) dapat menginduksi terjadinya hiperglikemia pada ikan zebra⁹. Penelitian ini menggunakan pemberian sukrosa selama 28 hari berdasarkan Hasil penelitian eksplorasi awal yang telah dilakukan sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian sukrosa 4% selama 7 hari sudah dapat meningkatkan kadar glukosa darah dibandingkan kelompok kontrol. Kadar glukosa darah akibat pemberian sukrosa 2% sebesar 116 mg/dL, pemberian sukrosa 3% sebesar 163 mg/dL, dan pemberian sukrosa 4% sebesar 198 mg/dL. Sementara itu, kadar glukosa darah pada ikan zebra tanpa pemberian sukrosa hanya sebesar 38 mg/dL. Adapun kadar glukosa darah normal pada ikan zebra berada dalam kisaran 50-75 mg/dL²⁰. Berdasarkan temuan tersebut, pemberian selama 28 hari dijadikan acuan dalam penelitian ini untuk mengetahui efek hiperglikemia kronis akibat pemberian sukrosa dengan konsentrasi 1%, 2% dan 4% terhadap berbagai organ ikan zebra.

Hasil penelitian kelompok juga menunjukkan bahwa pemberian sukrosa selama 28 hari menyebabkan terjadinya peningkatan kadar glukosa darah ikan zebra dibandingkan kelompok normal. Pemberian sukrosa dengan konsentrasi 1% , 2% dan 4 % meningkatkan kadar glukosa darah secara berurutan sebesar 131,67 mg/dL, 137,83 mg/dL, dan 188,67 mg/dL dibandingkan kelompok normal 84,17 mg/dL²¹. Peningkatan kadar glukosa darah diduga terjadi karena sukrosa yang masuk kedalam saluran pencernaan akan dipecah menjadi glukosa dan fruktosa di dalam usus ikan zebra. Kedua monosakarida tersebut kemudian diserap melalui saluran cerna dan masuk kedalam sirkulasi darah, sehingga menyebabkan terjadinya hiperglikemia⁵.

Pengaruh Pemberian Sukrosa terhadap Jumlah Nekrosis Hepatosit Ikan Zebra

Peningkatan jumlah nekrosis inti hepatosit pada ikan zebra akibat pemberian sukrosa menunjukkan pola hubungan yang konsisten dan signifikan terhadap peningkatan konsentrasi sukrosa. Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopis, jumlah sel yang mengalami nekrosis yang terdiri dari piknosis, karioreksis, kariolisis dan membran lisis mengalami peningkatan secara bertahap mulai dari kelompok kontrol (KN), kelompok perlakuan konsentrasi 1% (K1), kelompok perlakuan konsentrasi 2% (K2), hingga mencapai jumlah tertinggi pada kelompok perlakuan konsentrasi 4% (K3). Peningkatan yang progresif ini menunjukkan adanya kecenderungan bahwa semakin tinggi konsentrasi sukrosa yang diberikan, semakin besar pula jumlah nekrosis inti hepatosit.

Secara statistik, uji kruskal-wallis menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara keempat kelompok ($p < 0,05$), yang kemudian diperkuat dengan uji lanjutan mann-Whitney, dimana setiap perbandingan antara kelompok menunjukkan perbedaan signifikan. Hal ini mengindikasikan bahwa peningkatan jumlah total nekrosis inti hepatosit memang meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi sukrosa.

Uji korelasi Spearman menunjukkan adanya hubungan yang sangat kuat dan bermakna antara konsentrasi sukrosa dengan jumlah total nekrosis, dengan nilai koefisiensi korelasi $\rho = 0,969$ dan nilai signifikansi $p < 0,001$. Korelasi positif yang sangat tinggi ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi sukrosa secara konsisten diikuti oleh peningkatan jumlah total hepatosit yang mengalami nekrosis, sehingga dapat disimpulkan adanya hubungan dosis-respons yang kuat dan bermakna secara biologis dan statistik.

Pada konsentrasi sukrosa 1%, tubuh ikan zebra mulai mengalami stres metabolik ringan akibat peningkatan kadar glukosa dan fruktosa dalam darah. Fruktosa dan glukosa diserap melalui saluran cerna dan memasuki sirkulasi sitemik, lalu didistribusikan ke hepar²². Proses ini menyebabkan akumulasi glukosa intraseluler, yang kemudian mengalami glikasi non-enzimatik dan membentuk senyawa *Advanced Glycation End Product* atau AGEs²³.

Senyawa AGEs ini kemudian berikatan dengan reseptor RAGE (*Receptor for Advanced Glycation End Products*) yang terdapat pada membran hepatosit. Ikatan ini memicu aktivasi jalur sinyal inflamasi dan pembentukan radikal bebas berupa *Reactive Oxygen Species* (ROS)²⁴. Pada tahap ini, jumlah ROS yang terbentuk belum besar, tetapi cukup untuk memicu stres oksidatif ringan yang berdampak pada struktur inti sel, sehingga muncul tanda awal nekrosis berupa piknosis, yaitu kondensasi kromatin sebagai bentuk awal dari nekrosis inti hepatosit²⁵.

Pada konsentrasi sukrosa 2%, kerusakan sel akibat stres metabolik menjadi semakin berat dan telah melampaui batas adaptasi seluler pada hepatosit. Kondisi ini ditandai dengan peningkatan kadar *Advanced Glycation End Product* (AGEs) dan *Reactive Oxygen Species* (ROS), yang menyebabkan kerusakan pada DNA dan membran organel intraseluler karena peroksidasi lipid dan fragmen protein²⁶. Selain itu, aktivasi jalur inflamasi melalui NF- κ B berperan dalam meningkatkan ekspresi sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan IL-6, memperparah kondisi stres intraseluler²⁷. Stres oksidatif yang berlangsung bersamaan dengan respons inflamasi menyebabkan perubahan morfologis berupa karioreksis dan kariolisis, yang merupakan indikator morfologi dari kerusakan sel tahap lanjut.

Pada konsentrasi 4% jumlah nekrosis hepatosit ikan zebra meningkat secara drastis. Hal ini berkaitan dengan paparan glukosa dan fruktosa yang tinggi menyebabkan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang berlebihan, disfungsi mitokondria, serta kerusakan membran sel yang mengarah pada lisis dan pelepasan isi intraseluler ke ruang ekstraseluler²⁸. Selain itu, fruktosa juga berperan dalam mengakibatkan disfungsi metabolik hepatosit melalui stimulasi proses *lipogenesis de novo* (DNL), yaitu pembentukan lemak baru dari gula. Proses ini diatur oleh peningkatan ekspresi faktor transkripsi *Sterol Regulatory Element-Binding Protein-1c* (SREBP-1c) dan *Carbohydrate Response Element-Binding Protein* (ChREBP). Kedua jalur ini menginduksi ekspresi enzim lipogenik seperti acetyl-CoA carboxylase (ACC) dan *fatty acid synthase* (FASN), yang meningkatkan sintesis asam lemak dan trigliserida dalam sitoplasma hepatosit²⁹.

Peningkatan konsentrasi sukrosa menunjukkan korelasi positif yang signifikan terhadap keparahan kerusakan hepatosit, sebagaimana ditunjukkan oleh progresi morfologis yang jelas dari perubahan nukleus awal, seperti piknosis, diikuti oleh karioreksis dan kariolisis, hingga mencapai lisis membran sebagai fase akhir dari proses nekrosis *irreversible*, sehingga pola kerusakan ini mencerminkan mekanisme dosis-respons nekrosis yang jelas.

Pengaruh Pemberian Sukrosa terhadap Jumlah Steatosis Hepatosit Ikan Zebra

Peningkatan jumlah hepatosit yang mengalami steatosis pada ikan zebra menunjukkan hubungan yang konsisten dan signifikan terhadap

peningkatan konsentrasi sukrosa yang diberikan. Berdasarkan data pada Tabel 4, kelompok kontrol negatif (KN) menunjukkan jumlah steatosis terendah yaitu $104,95 \pm 0,13$. Setelah diberikan sukrosa 1% (K1), jumlah steatosis meningkat menjadi $144,56 \pm 2,29$; lalu meningkat tajam pada konsentrasi 2% (K2) sebesar $279,11 \pm 7,98$; dan mencapai jumlah tertinggi pada konsentrasi 4% (K3) sebesar $347,83 \pm 13,61$. Uji Kruskal-Wallis menunjukkan adanya perbedaan bermakna antar kelompok ($p < 0,05$), yang kemudian diperkuat oleh uji lanjutan Mann-Whitney, di mana seluruh perbandingan antar kelompok (KN–K1, K1–K2, K2–K3) menunjukkan perbedaan signifikan. Selain itu, hasil uji korelasi Spearman menghasilkan nilai koefisien korelasi $\rho = 0,974$ dengan signifikansi $p < 0,001$, yang menunjukkan adanya hubungan positif sangat kuat antara peningkatan konsentrasi sukrosa dengan jumlah hepatosit yang mengalami steatosis.

Pada kelompok perlakuan 1%, pemberian sukrosa mulai menimbulkan perubahan metabolik ringan yang ditandai dengan peningkatan awal jumlah hepatosit yang mengalami steatosis dibandingkan kelompok kontrol. Secara fisiologis, sukrosa yang terlarut dalam air akan dipecah di saluran cerna menjadi glukosa dan fruktosa. Glukosa diserap melalui transporter GLUT dan masuk ke dalam sirkulasi darah, sedangkan fruktosa dimetabolisme lebih dominan di hati melalui jalur fruktolisis. Metabolisme fruktosa di hepatosit bersifat cepat dan melewati kontrol fosfofruktokinase, yang menyebabkan peningkatan input substrat lipogenesis³⁰. Akumulasi glukosa dan fruktosa yang berlebih di dalam hepatosit akan diubah menjadi asam lemak melalui proses *lipogenesis de novo* (DNL). Aktivasi jalur ini dimediasi oleh peningkatan ekspresi faktor transkripsi seperti ChREBP (*Carbohydrate-Responsive Element Binding Protein*), yang merespon tingginya kadar gula darah dan memicu sintesis asam lemak serta trigliserida di dalam sitoplasma hepatosit³¹. Meskipun pada dosis ini belum terjadi inflamasi berat atau kerusakan sel parenkim, akumulasi lipid intraseluler yang terbentuk secara perlahan mulai terlihat dalam bentuk vakuola kecil dalam sitoplasma, yang merupakan ciri steatosis ringan.

Pada kelompok perlakuan dengan konsentrasi sukrosa 2%, jumlah hepatosit yang mengalami steatosis meningkat signifikan dibandingkan kelompok 1%. Hal ini disebabkan oleh peningkatan akumulasi lemak dalam sel hepar akibat tingginya asupan fruktosa dan glukosa dari pemecahan sukrosa. Fruktosa meningkatkan sintesis trigliserida melalui aktivasi jalur *lipogenesis de novo*, Fruktosa dimetabolisme di hepar melalui jalur fruktolisis, melewati regulasi enzim fosfofruktokinase, sehingga memicu *lipogenesis de novo* (DNL) secara berlebihan. Aktivasi DNL ditandai oleh peningkatan ekspresi enzim lipogenik seperti SREBP-1c (*Sterol Regulatory Element-Binding Protein 1c*) dan Acetyl-CoA Carboxylase (ACC)^{30,32}. Seiring dengan peningkatan sintesis lipid, terjadi resistensi insulin awal, yang menghambat

pemanfaatan glukosa oleh jaringan dan meningkatkan lipolisis jaringan adiposa perifer. Akibatnya, terjadi lonjakan kadar *free fatty acids* (FFAs) dalam sirkulasi, yang ditangkap dan disimpan oleh hepatosit sebagai droplet lipid intraseluler. Namun, karena kapasitas oksidatif mitokondria terbatas, lipid tidak dapat dioksidasi secara efisien, sehingga menyebabkan akumulasi lipid dalam bentuk vakuola kecil di sitoplasma, dikenal sebagai steatosis mikrovessikuler^{33,34}. Kondisi ini juga memicu stres lipotoksik, yang mengaktifkan jalur inflamasi seperti NF- κ B, sehingga mulai muncul tanda-tanda inflamasi ringan di jaringan hepar³⁴.

Pada kelompok perlakuan sukrosa 4%, hepatosit ikan zebra mengalami steatosis berat yang ditandai dengan peningkatan akumulasi lipid secara masif dan perubahan morfologi sel menuju steatosis makrovessikuler. Beban glukosa dan fruktosa yang sangat tinggi memicu aktivasi berlebihan jalur *de novo lipogenesis* (DNL) di hepar melalui peningkatan ekspresi faktor transkripsi SREBP-1c (*Sterol Regulatory Element-Binding Protein 1c*) dan ChREBP (*Carbohydrate Response Element-Binding Protein*). Aktivasi lipogenesis yang berlebihan, disertai dengan gangguan oksidasi asam lemak (β -oxidation) akibat disfungsi mitokondria, menyebabkan lipid terakumulasi dalam bentuk vakuola besar di sitoplasma hepatosit^{30,35}. Disfungsi metabolik ini diperparah oleh peningkatan stres oksidatif dan lipotoksitas, yang terjadi akibat akumulasi produk metabolisme lemak serta peningkatan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS). Dalam jangka panjang, kondisi ini dapat mengarah pada kerusakan struktural organel, pembengkakan hepatosit, dan memicu proses inflamasi kronik yang dikenal sebagai necroinflammation, yaitu fase peralihan menuju Non-Alcoholic Steatohepatitis (NASH)^{32,36}.

Peningkatan konsentrasi sukrosa menunjukkan hubungan positif yang signifikan terhadap akumulasi lipid di dalam hepatosit, sebagaimana dibuktikan oleh progresi morfologis dari vakuola lemak kecil (steatosis mikrovessikuler) hingga terbentuknya vakuola besar (steatosis makrovessikuler), disertai disfungsi metabolik dan inflamasi ringan. Pola ini mencerminkan adanya mekanisme dosis-respons yang jelas pada steatosis hepatosit, di mana semakin tinggi konsentrasi sukrosa yang diberikan, semakin banyak jumlah akumulasi lemak dan gangguan fungsi sel hepar yang terjadi.

Keterbatasan Penelitian

Walaupun ikan zebra bisa digunakan sebagai model hiperglikemia, namun ukuran ikan yang sangat kecil menyebabkan kesulitan mendapatkan data yang membutuhkan ukuran organ yang lebih besar. Misalnya penelitian ini tidak mampu mengukur indikator kerusakan hepar yang lain seperti pengukuran kadar enzim transaminase yaitu SGOT dan SGPT dan SOD dan MDA hepar. Oleh sebab itu peneliti menyarankan untuk juga menggunakan hewan coba yang lebih besar untuk mendapatkan hasil yang lebih baik.

Kelemahan lain dari penelitian ini hanya menggunakan jenis ikan zebra jantan, sehingga hasilnya belum tentu sama jika diterapkan pada ikan betina. Dengan demikian penelitian kedepan juga bisa dilakukan pada jenis ikan zebra betina untuk membuktikan adanya pengaruh hormonal terutama estrogen terhadap kerusakan hepar akibat induksi sukrosa.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini, diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Pemberian sukrosa dengan konsentrasi 1%, 2%, dan 4% selama 28 hari pada ikan zebra menyebabkan peningkatan jumlah sel hepar yang mengalami nekrosis inti hepatosit dan steatosis.
2. Semakin tinggi konsentrasi sukrosa, semakin banyak sel hepar yang mengalami nekrosis inti hepatosit dan steatosis.

SARAN

Untuk penelitian selanjutnya, disarankan untuk mengeksplorasi mekanisme molekuler di balik kerusakan hepatosit akibat sukrosa, seperti analisis ekspresi gen terkait stres oksidatif atau metabolisme lipid. Penggunaan model hewan lain atau studi in vitro pada sel hepatosit manusia juga dapat meningkatkan relevansi klinis temuan ini. Selain itu, penelitian lanjutan dapat menguji intervensi potensial (seperti antioksidan atau modifikasi diet) untuk mengurangi efek hepatotoksik sukrosa. Terakhir, penting untuk melakukan studi jangka panjang guna mengamati efek kronis sukrosa terhadap fungsi hepar dan organ lainnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada dosen pembimbing atas bimbingan selama penyusunan, pelaksanaan, hingga pelaporan penelitian ini. Terimakasih juga peneliti sampaikan kepada Ikatan Orang Tua Mahasiswa (IOM) FK Unisma atas dukungan finansial untuk penelitian ini, serta kepada teman teman tim peneliti *Danio rerio*.

REFERENSI

- [1] L. Ricciuto, V. L. Fulgoni, P. C. Gaine, M. O. Scott, and L. DiFrancesco, "Trends in Added Sugars Intake and Sources Among US Children, Adolescents, and Teens Using NHANES 2001–2018," *J Nutr*, vol. 152, no. 2, pp. 568–578, Feb. 2022, doi: 10.1093/JN/NXAB395.
- [2] E. Magriplis *et al.*, "Dietary sugar intake and its association with obesity in children and adolescents," *Children*, vol. 8, no. 8, p. 676, Aug. 2021, doi: 10.3390/CHILDREN8080676/S1.
- [3] P. Chandrasekaran and R. Weiskirchen, "The Role of Obesity in Type 2 Diabetes Mellitus—An Overview," *International Journal of Molecular Sciences* 2024, Vol. 25,

- Page 1882, vol. 25, no. 3, p. 1882, Feb. 2024, doi: 10.3390/IJMS25031882.
- [4] L. Mobasheri *et al.*, "Pathophysiology of diabetic hepatopathy and molecular mechanisms underlying the hepatoprotective effects of phytochemicals," *Biomedicine and Pharmacotherapy*, vol. 167, Nov. 2023, doi: 10.1016/j.biopha.2023.115502.
 - [5] J. Mohamed, A. H. Nazratun Nafizah, A. H. Zariyantey, and S. B. Budin, "Mechanisms of diabetes-induced liver damage: The role of oxidative stress and inflammation," *Sultan Qaboos Univ Med J*, vol. 16, no. 2, pp. e132–e141, 2016, doi: 10.18295/squmj.2016.16.02.002.
 - [6] E. McCarthy, C. J. Rowe, M. Crowley-Perry, and V. P. Connaughton, "Alternate Immersion in Glucose to Produce Prolonged Hyperglycemia in Zebrafish," *J Vis Exp*, vol. 2021, no. 171, p. e61935, May 2021, doi: 10.3791/61935.
 - [7] C. Andrade, "Internal, external, and ecological validity in research design, conduct, and evaluation," *Indian J Psychol Med*, vol. 40, no. 5, pp. 498–499, Sep. 2018, doi: 10.4103/IJPSYM.IJPSYM_334_18.
 - [8] T. Teame *et al.*, "The use of zebrafish (*Danio rerio*) as biomedical models," *Animal Frontiers*, vol. 9, no. 3, pp. 68–77, Jun. 2019, doi: 10.1093/AF/VFZ020.
 - [9] L. Zang, L. A. Maddison, and W. Chen, "Zebrafish as a model for obesity and diabetes," *Front Cell Dev Biol*, vol. 6, no. AUG, pp. 1–13, 2018, doi: 10.3389/fcell.2018.00091.
 - [10] C. Lawrence, "The husbandry of zebrafish (*Danio rerio*): A review," *Aquaculture*, vol. 269, no. 1–4, pp. 1–20, Sep. 2007, doi: 10.1016/J.AQUACULTURE.2007.04.077.
 - [11] H. Segner, "Zebrafish (*Danio rerio*) as a model organism for investigating endocrine disruption," *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, vol. 149, no. 2, pp. 187–195, Mar. 2009, doi: 10.1016/J.CBPC.2008.10.099.
 - [12] K. Hamden, S. Carreau, F. Ellouz, H. Masmoudi, and A. El Feki, "Protective effect of 17 β -estradiol on oxidative stress and liver dysfunction in aged male rats," *J Physiol Biochem*, vol. 63, no. 3, pp. 195–201, 2007, doi: 10.1007/BF03165782/METRICS.
 - [13] M. Zhu, Y. Li, D. Liu, and Z. Gong, "Estrogen receptors regulate sex disparity in the immune responses during zebrafish liver regeneration following partial hepatectomy," *Biochem Biophys Res Commun*, vol. 738, p. 150937, Dec. 2024, doi: 10.1016/J.BBRC.2024.150937.
 - [14] H. Li, Y. Li, J. W. Lu, X. Huo, and Z. Gong, "Liver-specific androgen receptor knockout attenuates early liver tumor development in zebrafish," *Scientific Reports* 2019 9:1, vol. 9, no. 1, pp. 1–11, Jul. 2019, doi: 10.1038/s41598-019-46378-3.
 - [15] D. M. Parichy, M. R. Elizondo, M. G. Mills, T. N. Gordon, and R. E. Engeszer, "Normal table of postembryonic zebrafish development: Staging by externally visible anatomy of the living fish," *Developmental Dynamics*, vol. 238, no. 12, pp. 2975–3015, Dec. 2009, doi: 10.1002/DVDY.22113;REQUESTEDJOURNAL:JOURNAL:10970177;WGROU:STR ING:PUBLICATION.
 - [16] OECD, "Test No. 203: Fish, Acute Toxicity Test," *Organisation for Economic Co-operation and Development*, Jun. 2019, doi: 10.1787/9789264069961-EN.
 - [17] X. Chen, G. Luo, J. Tan, H. Tan, and M. Yao, "Effects of carbohydrate supply strategies and biofloc concentrations on the growth performance of African catfish (*Clarias gariepinus*) cultured in biofloc systems," *Aquaculture*, vol. 517, p. 734808, Feb. 2020, doi: 10.1016/J.AQUACULTURE.2019.734808.
 - [18] A. Salehpour, M. Rezaei, A. Khoradmehr, Y. Tahamtani, and A. Tamadon, "Which Hyperglycemic Model of Zebrafish (*Danio rerio*) Suites My Type 2 Diabetes Mellitus Research? A Scoring System for Available Methods," *Front Cell Dev Biol*, vol. 9, p. 652061, Mar. 2021, doi: 10.3389/FCELL.2021.652061/XML/NLM.
 - [19] A. Sharma and A. Vella, "Glucose metabolism in Cushing's syndrome," *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, vol. 27, no. 3, pp. 140–145, 2020, doi: 10.1097/MED.0000000000000537.
 - [20] K. Benchoula *et al.*, "Optimization of hyperglycemic induction in zebrafish and evaluation of its blood glucose level and metabolite fingerprint treated with psychotria malayana Jack Leaf extract," *Molecules*, vol. 24, no. 8, Apr. 2019, doi: 10.3390/MOLECULES24081506.
 - [21] A. Salsabil, Y. R. Bintari, and D. S. Damayanti, "Hiperqlikemia dan Kerusakan Pankreas Pada Ikan Zebra yang Diinduksi Perendaman Sukrosa," *Repository UNISMA*, 2024, Accessed: May 29, 2025. [Online]. Available: <https://repository.unisma.ac.id/handle/123456789/11550>
 - [22] N. Shimizu, H. Shiraishi, and T. Hanada, "Zebrafish as a Useful Model System for Human Liver Disease," *Cells*, vol. 12, no. 18, p. 2246, Sep. 2023, doi: 10.3390/CELLS12182246.
 - [23] V. P. Singh, A. Bali, N. Singh, and A. S. Jaggi, "Advanced Glycation End Products and Diabetic Complications," *Korean J Physiol Pharmacol*, vol. 18, no. 1, pp. 1–14, 2014, doi: 10.4196/KJPP.2014.18.1.1.

- [24] C. Gerner *et al.*, “A Novel Drug Resistance Mechanism: Genetic Loss of Xeroderma Pigmentosum Complementation Group C (XPC) Enhances Glycolysis-Mediated Drug Resistance in DLD-1 Colon Cancer Cells,” *Front Pharmacol*, vol. 10, p. 456225, Sep. 2019, doi: 10.3389/FPHAR.2019.00912.
- [25] S. F. Yan, R. Ramasamy, Y. Naka, and A. M. Schmidt, “Glycation, Inflammation, and RAGE: A Scaffold for the Macrovascular Complications of Diabetes and Beyond,” *Circ Res*, vol. 93, no. 12, pp. 1159–1169, Dec. 2003, doi: 10.1161/01.RES.0000103862.26506.3D.
- [26] A. Allameh, R. Niayesh-Mehr, A. Aliarab, G. Sebastiani, and K. Pantopoulos, “Oxidative Stress in Liver Pathophysiology and Disease,” *Antioxidants*, vol. 12, no. 9, p. 1653, Sep. 2023, doi: 10.3390/ANTIOX12091653.
- [27] S. Li, M. Hong, H. Y. Tan, N. Wang, and Y. Feng, “Insights into the Role and Interdependence of Oxidative Stress and Inflammation in Liver Diseases,” *Oxid Med Cell Longev*, vol. 2016, no. 1, p. 4234061, Jan. 2016, doi: 10.1155/2016/4234061.
- [28] S. P. Tang, X. L. Mao, Y. H. Chen, L. L. Yan, L. P. Ye, and S. W. Li, “Reactive Oxygen Species Induce Fatty Liver and Ischemia-Reperfusion Injury by Promoting Inflammation and Cell Death,” *Front Immunol*, vol. 13, p. 870239, Apr. 2022, doi: 10.3389/FIMMU.2022.870239/XML/NLM.
- [29] B. Geidl-Flueck and P. A. Gerber, “Fructose drives de novo lipogenesis affecting metabolic health,” *Journal of Endocrinology*, vol. 257, no. 2, May 2023, doi: 10.1530/JOE-22-0270.
- [30] S. Softic *et al.*, “Divergent effects of glucose and fructose on hepatic lipogenesis and insulin signaling,” *J Clin Invest*, vol. 127, no. 11, pp. 4059–4074, Dec. 2017, doi: 10.1172/JCI94585.
- [31] K. W. Ter Horst and M. J. Serlie, “Fructose Consumption, Lipogenesis, and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease,” *Nutrients* 2017, Vol. 9, Page 981, vol. 9, no. 9, p. 981, Sep. 2017, doi: 10.3390/NU9090981.
- [32] K. K. Leung, P. D. James, A. Jaber, and G. M. Hirschfield, “Esophageal Stenting as Bridge Therapy to Direct Intrahepatic Portocaval Shunt for Refractory Variceal Bleeding,” *Hepatology*, vol. 73, no. 4, pp. 1618–1620, Apr. 2021, doi: 10.1002/HEP.31519.
- [33] R. M. Weeks, J. F. Z. Barenzi, and J. R. M. Wayira, “A low-cost, community-based measles outbreak investigation with follow-up action,” *Bull World Health Organ*, vol. 70, no. 3, p. 317, 1992, Accessed: Jul. 03, 2025. [Online]. Available: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2393277/>
- [34] H. Yki-Järvinen, “Non-alcoholic fatty liver disease as a cause and a consequence of metabolic syndrome,” *Lancet Diabetes Endocrinol*, vol. 2, no. 11, pp. 901–910, Nov. 2014, doi: 10.1016/S2213-8587(14)70032-4/ASSET/542C0A47-456E-431F-8B0C-C195C4EFFC40/MAIN.ASSETS/GR4.SML.
- [35] L. Tappy and K. A. Le, “Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity,” *Physiol Rev*, vol. 90, no. 1, pp. 23–46, 2010, doi: 10.1152/PHYSREV.00019.2009/ASSET/IMAGES/LARGE/Z9J0011025290007.JPEG.
- [36] S. Djafarzadeh, M. Vuda, J. Takala, M. Ochs, and S. M. Jakob, “Toll-like receptor-3-induced mitochondrial dysfunction in cultured human hepatocytes,” *Mitochondrion*, vol. 11, no. 1, pp. 83–88, Jan. 2011, doi: 10.1016/J.MITO.2010.07.010.