

**KOMBUCHA DAUN SIRSAK (*Annona muricata*) PADA DOSIS 1,25% DAPAT
MENURUNKAN DIAMETER GLOMERULUS DAN MENURUNKAN JUMLAH
NEKROSIS TUBULUS KONTORTUS PROKSIMAL GINJAL IKAN ZEBRA
(*Danio rerio*) YANG DIINDUKSI SUKROSA 4%**

Muhammad Hilmi Firdaus, Dini Sri Damayanti, Aris Rosidah

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: fermentasi herbal daun sirsak diketahui memiliki kandungan komponen bioaktif seperti flavonoid fenol yang berpotensi sebagai antioksidan dan antihiperglikemia. Studi ini dimaksudkan untuk membuktikan pengaruh kombucha lembaran tanaman sirsak terhadap diameter glomerulus dan jumlah nekrosis tubulus kontortus proksimal ginjal ikan zebra jantan yang diinduksi sukrosa 4%.

Metode: Riset ini memakai metode eksperimen dengan desain kontrol pasca tes. Ikan zebra (*Danio rerio*) jantan dikelompokkan ke dalam lima bagian, termasuk kontrol negatif dan positif (KP, sukrosa 4%), dan tiga kelompok perlakuan: P1 (kombucha daun sirsak 1,25%), P2 (2,5%), dan P3 (5%) yang dikombinasikan dengan sukrosa 4%. Perlakuan diberikan selama 28 hari. jaringan ginjal dibuat dalam preparate histologi dengan pewarnaan Hematoxylin-Eosin. Diameter glomerulus dan jumlah nekrosis tubulus proksimal diamati pada 5 lapang pandang menggunakan mikroskop BX53M dan dianalisis dengan *software ImageJ* memakai analisis statistik ANOVA satu arah dan Kruskal-Wallis dilanjutkan Mann-Whitney.

Hasil: Pemberian sukrosa 4% (KP) secara signifikan meningkatkan diameter glomerulus ($p < 0,004$) dan jumlah nekrosis tubulus proksimal ($p < 0,001$) dibandingkan KN. Perlakuan P1 menunjukkan penurunan signifikan diameter glomerulus ($p < 0,02$) dan nekrosis tubulus ($p < 0,001$) dibandingkan KP. Namun, dosis P2 dan P3 tidak menunjukkan perbedaan signifikan terhadap KP ($p > 0,857$ dan $p > 1,000$).

Kesimpulan: Kombucha daun sirsak mampu menurunkan diameter glomerulus dan jumlah nekrosis tubulus kontortus proksimal ginjal ikan zebra jantan yang diinduksi sukrosa 4%, pada dosis 1,25%.

Kata Kunci: Kombucha daun sirsak, *Danio rerio*, diameter glomerulus, nekrosis tubulus, Hiperglikemia.

*Penulis Korespondensi :

Dr. dr. Dini Sri Damayanti, M.Kes

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

Jl. MT Haryono 193 Malang, Jawa Timur Indonesia 65144

+62-341-578920

Email: (dinisridamayanti@unisma.ac.id)

**SOURSOP LEAF KOMBUCHA (*ANNONA MURICATA*) AT A DOSE OF 1,25%
CAN REDUCES GLOMERULAR DIAMETER AND PROXIMAL TUBULAR
NECROSIS IN ZEBRAFISH (*DANIO RERIO*) INDUCED WITH 4% SUCROSE**

Muhammad Hilmi Firdaus, Dini Sri Damayanti, Aris Rosidah

Faculty of Medicine, Universitas Islam Malang

ABSTRACT

Background: Kombucha derived from soursop leaves (*Annona muricata*) contains active biologically active substances like flavonoids phenols, which are recognized for their oxidative and glucose-lowering effects; the research assessed kombucha soursop leaves on glomerular diameter and proximal convoluted tubule necrosis in the kidneys of male zebrafish (*Danio rerio*) induced with 4% sucrose.

Methods: This controlled laboratory experiment using post-intervention grouping; male zebrafish were split into five sets (KP, 4% sucrose), and three treatment groups receiving 1.25% (P1), 2.5% (P2), and 5% (P3) kombucha soursop leaf extract combined with 4% sucrose for 28 days. Kidney histological sections were prepared using Hematoxylin-Eosin staining. Glomerular diameter and proximal tubule necrosis were observed in five fields of view under a BX53M trinocular microscope and analyzed using ImageJ software. Data interpretation was carried out with One-way ANOVA and Kruskal-Wallis, followed by Mann-Whitney analysis.

Results: Administration of 4% sucrose (KP) significantly increased glomerular diameter ($p < 0.004$) and proximal tubular necrosis ($p < 0.001$) compared to the negative control (KN). Treatment with 1.25% kombucha (P1) significantly reduced both glomerular diameter ($p < 0.02$) and necrosis ($p < 0.001$) compared to KP. However, no significant differences were found in P2 and P3 compared to KP ($p > 0.857$ and $p > 1.000$).

Conclusion: Soursop leaf kombucha at a dose of 1.25% is effective in reducing glomerular diameter and proximal convoluted tubule necrosis in the kidneys of zebrafish induced with 4% sucrose.

Keywords: Soursop leaf kombucha, *Danio rerio*, glomerular diameter, tubular necrosis, hyperglycemia.

Corresponding Author:

Dr. dr. Dini Sri Damayanti, M.Kes

Faculty of Medicine, Universitas Islam Malang

Jl. MT Haryono 193, Malang, East Java, Indonesia 65144

Phone: +62-341-578920

Email: dinisridamayanti@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Diabetes melitus merupakan gangguan metabolik dengan ciri utama tingginya kadar gula darah. Hiperglikemia disebabkan oleh resistensi insulin, baik secara absolut maupun relatif¹. Gejala khas pada DM yaitu polidipsi, poliuri serta rasa lapar berlebihan, sementara gejala sekunder berupa luka yang lambat membaik, penglihatan penglihatan buram dan gangguan fungsi seksual pada pria². Diabetes melitus dapat menyebabkan komplikasi pada makrovaskular dan mikrovaskular. Komplikasi makrovaskular umumnya mengenai organ jantung sedangkan mikrovaskular dapat terjadi pada organ mata dan ginjal³. Prevalensi DM pada penduduk usia produktif di Indonesia sebesar 6,5% dari populasi. Namun hanya sekitar 1,8% yang terdiagnosis. Selain itu prevalensi gangguan fungsi ginjal sebanyak 1,7% dan hanya 0,3% yang teridentifikasi secara klinis. Lebih spesifik lagi komplikasi Diabetik Nefropati (DN) pada DM sebesar 4% tetapi hanya 0,6% kasus yang terdiagnosis⁴.

Salah satu faktor yang dapat memicu timbulnya hiperglikemia adalah asupan sukrosa berlebih. Sukrosa adalah jenis gula yang umum dikonsumsi dalam kehidupan sehari-hari. Sukrosa ini mempunyai 2 molekul monosakarida yaitu molekul glukosa dan molekul fruktosa⁵. Pola makan tinggi gula dapat meningkatkan risiko terjadinya diabetes melitus selain itu konsumsi gula yang berlebihan dapat meningkatkan berat badan⁶. Pencegahan Diabetes Melitus tipe 2 (DM2) dapat dilakukan dengan mengonsumsi bahan herbal yaitu kombucha. Kombucha memiliki kandungan antioksidan, serta dapat menurunkan kadar hiperglikemia, proses fermentasi dalam pembuatan kombucha menghasilkan metabolit sekunder seperti flavonoid, fenol, asam organik dan

etanol⁹. Daun sirsak telah digunakan sebagai obat herbal yaitu sebagai anti hiperglikemia, anti oksidan dan anti inflamasi¹⁰. Daun sirsak ini mengandung senyawa aktif acetogin, flavonoid, terpenoid, fenol, tannin dan saponin¹¹.

Model DM2 dapat digunakan pada hewan uji, salah satunya adalah ikan zebra (*zebrafish*). Ikan zebra memiliki sejumlah keunggulan sebagai hewan model penelitian, antara lain kemampuan menghasilkan ratusan embrio dalam sekali bertelur, siklus reproduksi yang cepat, serta kemudahan dalam proses pemeliharaan dan pembiakannya.¹² Berdasarkan penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ikan zebra yang direndam dalam larutan sukrosa 4% selama 28 hari mengalami peningkatan kadar glukosa darah yang signifikan¹³ dan menyebabkan pembesaran diameter glomerulus serta nekrosis pada sel tubulus kontortus proksimal ginjal *zebrafish*¹⁴.

METODE PENELITIAN

Desain studi ini termasuk kategori eksperimen laboratorium *true experimental* dengan desain penelitian *post test group control only* pada *zebrafish* (*Danio rerio*) yang diinduksi sukrosa 4% dan kombucha daun sirsak 1,25%, 2,5% dan 5% Waktu penelitian dilakukan pada bulan Januari–Februari 2025, bertempat berlokasi di Laboratorium Zebrafish dan laboratorium penelitian FK Unisma (FK UNISMA). Studi ini disetujui secara etik oleh Komite Etik Rumah Sakit terkait Islam Malang No.49/KEPK/RSI-U/X/2024.

Sampel dan Pengelompokan Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini adalah ikan zebra (*Danio rerio*) dari indukan lokal Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan UB dan sudah di determinasi di Fakultas

Ilmu Kelautan dan Perikanan UNAIR sesuai dengan nomor determinasi 53/ULMKILP/UA.FPK/10/2024. Ikan zebra (*Danio rerio*) jantan dewasa dengan berat 0,4-1 gram, usia 4-5 bulan, kondisi sehat dan tidak cacat. Ikan zebra jantan dikelompokkan menjadi 5 kelompok secara *random sampling* (Tabel 1) yang diletakkan dalam kolam yang terisi 2 liter air¹⁵. Air induksi diganti setiap 2 hari sekali untuk menghindari pertumbuhan bakteri atau mikroorganisme lainnya¹⁶

Tabel 1. Pengelompokan Hewan Coba

Kelompok	Jumlah (n)	Perlakuan
Kontrol Negatif (KN)	5	•Tanpa Sukrosa 4%
Kontrol Positif (KP)	5	•Sukrosa 4%
Perlakuan 1 (P1)	5	•Sukrosa 4% •Kombucha Daun Sirsak 1,25%
Perlakuan 2 (P2)	5	•Sukrosa 4% •Kombucha Daun Sirsak 2,5%
Perlakuan 3 (P3)	5	•Sukrosa 4% •Kombucha Daun Sirsak 5%

Pembuatan Kombucha Daun Sirsak (*Annona muricata*)

Proses fermentasi kombucha diawali dengan persiapan serbuk daun sirsak yang diperoleh dari Laboratorium Materia Medika Batu bidang herbal dengan nomor 000.9.3/2962/102.20/2024 yang dimasukkan ke dalam kantong teh sebanyak 12 gram, lalu rebus air sebanyak 1 liter hingga mendidih. Kantong teh daun sirsak dimasukkan kedalam air rebusan selama 5 menit. Air yang telah direbus gula kristal 10% (b/v) diinkorporasikan dan diaduk. Ekstrak

sirsak dimasukkan ke dalam wadah kaca steril dan disegel erat, dinginkan sampai suhu 25°C. Starter kombucha SCOBY ditambahkan pada larutan daun sirsak sebanyak 5% (v/v) kemudian toples kaca ditutup rapat menggunakan ditutup serbet kertas dan diikat agar tidak terkontaminasi partikel asing. Toples disimpan pada Lokasi terhindar sinar matahari langsung pada disimpan pada suhu kamar (25°C) selama 10 hingga 14 hari sebelum pengambilan sampel setelah hari ke 10-14 dengan mengecek pH sebesar 3-5¹⁸.

Pemberian Kombucha Daun Sirsak pada Hewan Coba

Semua ikan diadaptasikan dengan kondisi laboratorium yang konstan dengan frekuensi pemberian pakan pelet 2 kali setiap hari. Pergantian air dilakukan 2 hari sekali untuk menjaga lingkungan hidup ikan uji agar tetap bersih¹⁶. Dosis kombucha daun sirsak yang digunakan untuk penelitian ini sebanyak 1,25%, 2,5% dan 5% . Setelah 7 hari, *zebrafish* diberi perlakuan dengan penambahan sukrosa 4% dan kombucha daun sirsak dengan kadar 1,25%, 2,5% dan 5% selama 28 hari ke dalam tangki akuarium, air diganti tiap 2 hari sekali dengan cara membuang 1,5 liter air dan menggantikan dengan jumlah yang sama yang berisi campuran sukrosa 4%, air dan kombucha daun sirsak ¹⁹.

Pembuatan Preparat Histologi

Preparasi jaringan ginjal dimulai dengan fiksasi difiksasi dalam larutan formalin PBS 10% selama 1 hari, selanjutnya dilakukan trimming dan dehidrasi menggunakan. Setelah itu, jaringan dijernihkan dengan xylol, dilanjutkan *embedding* dalam parafin cair dan pemotongan menggunakan mikrotom setebal 4–5 µm. Potongan jaringan ditempatkan di atas gelas objek, dikeringkan, lalu diwarnai dengan *Hematoxylin Eosin* (HE). Terakhir, dilakukan mounting dan sampel

diperiksa menggunakan mikroskop pembesaran 400 kali.²⁰.

Perhitungan Jumlah Sel Nekrosis Tubulus kontortus proksimal

Proses penghitungan jumlah sel tubulus kontortus proksimal yang mengalami nekrosis secara histologi dengan pembesaran 400x, yang diamati dengan mikroskop trinokuler BX53M di lima bidang pandang, dianalisis melalui *software image J* oleh 3 pengamat yang berbeda. Jumlah sel nekrosis ditandai dengan adanya perubahan pada sel berupa inti piknotik, karioreksis, dan kariolisis. Perhitungan jumlah sel nekrosis tiap lapang pandang (LP) dapat menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ Sel nekrosis} = \frac{a}{b} \times 100\%$$

Keterangan :

a = jumlah sel nekrosis

b = 200 sel per lapang pandang

Pengamatan diameter glomerulus

Pengamatan diameter glomerulus dilakukan dengan cara mengukur diameter glomerulus dari 8 penjuru, kemudian dihitung rata-rata dari 8 penjuru tersebut. Pengukuran dilakukan secara histologi dengan pewarnaan HE, perbesaran 400x, yang diamati dengan mikroskop trinokuler BX53M dianalisis pada lima lapangan pengamatan memakai *software image J* oleh 3 pengamat yang berbeda.

Analisis Data

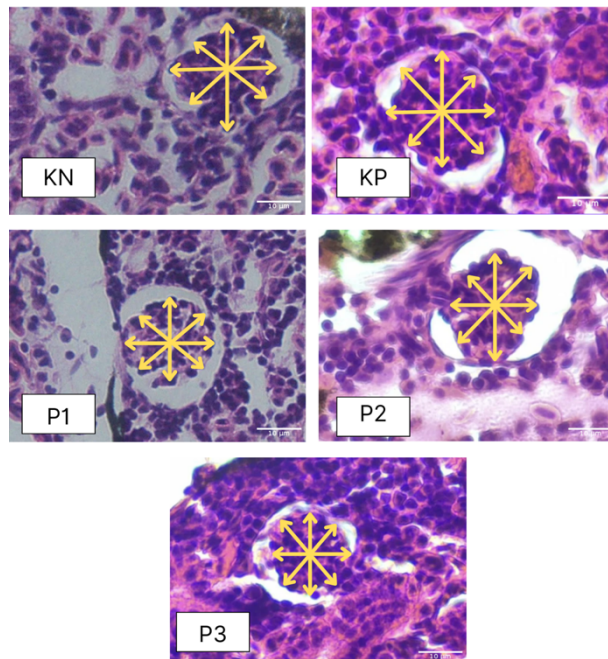
Data histologi ginjal diolah dan dianalisis menggunakan software *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) 26.0 for Windows. Analisis data yang dilakukan pada variabel diameter glomerulus menggunakan analisa uji *Kruskal Wallis* dikarenakan pada uji normalitas data tidak terdistribusi secara normal dengan nilai ($P < 0,05$), sedangkan pada analisis data yang dilakukan pada variabel nekrosis TKP menggunakan analisa uji *One-Way ANOVA* dikarenakan pada uji normalitas dan homogenitas hasil data menunjukkan normal dan homogen dengan nilai ($P > 0,05$).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel *Danio rerio* yang digunakan pada penelitian ini memiliki karakteristik yakni berjenis kelamin jantan dewasa dengan berat 0,4-1 gram, usia 4-5 bulan, kondisi sehat dan tidak cacat. Induksi untuk hiperglikemia diberi sukrosa 4% dan untuk induksi perlakuan diberikan kombucha daun sirsak diberikan perlakuan 1,25%, 2,5%, dan 5%, masing-masing diulang lima kali. KN merupakan kelompok normal/tanpa induksi, KP merupakan kelompok positif/induksi sukrosa 4%, P1 merupakan kelompok dengan induksi sukrosa 4% + dosis kombucha daun sirsak 1,25 %, P2 merupakan kelompok dengan induksi sukrosa 4% + dosis kombucha daun sirsak 2,5% dan P3 merupakan kelompok dengan induksi sukrosa 4% + dosis kombucha daun sirsak 5%.

Hasil Paparan Kombucha Daun Sirsak (*Annona muricata*) Terhadap Histologi Diameter Glomerulus Ginjal pada Ikan Zebra (*Danio rerio*)

Efek pemberian kombucha daun sirsak (*Annona muricata*) terhadap Terhadap Histologi Diameter Glomerulus Ginjal (*Danio rerio*) dapat dilihat pada Gambar 1.



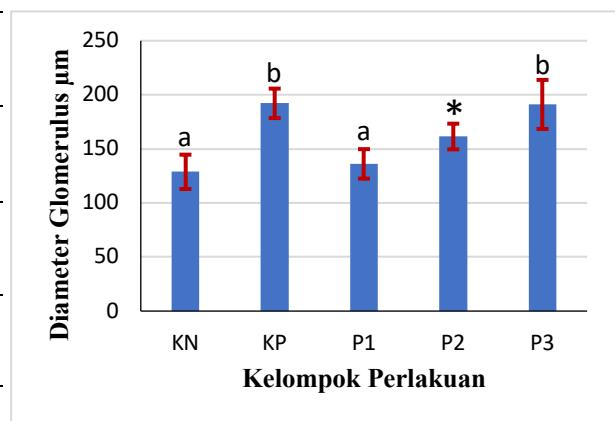
Gambar 1. Struktur Histologis Diameter Glomerulus Ginjal Ikan Zebra (*Danio rerio*) (H&E skala batang: 10µm 400x).

Keterangan:

Menunjukkan gambaran mikroskopis struktur histologi diameter glomerulus ginjal ikan zebra (*Danio rerio*) pada kelompok KN, KP, P1, P2, P3 dengan perbesaran 400 kali. Pengamatan diameter glomerulus dilakukan dengan mengukur diameter glomerulus dari 8 penjur

Kelompok	n	Diameter Glomerulus (µm) (Rata-rata ± SD)
KN	5	128.79 ± 15.87 ^a
KP	5	192.14 ± 13.62 ^b
P1	5	136.14 ± 13.63 ^a
P2	5	161.45 ± 11.88 [*]
P3	5	191.13 ± 22.70 ^b

Keterangan :



Keterangan:

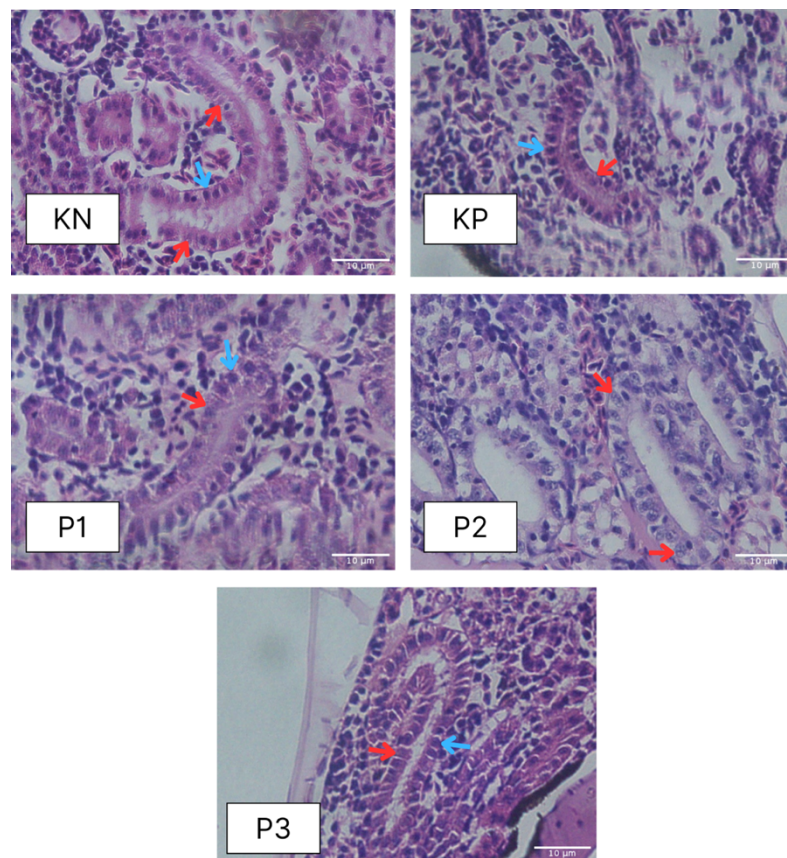
- Notasi huruf yang sama menyatakan tidak ada beda bermakna
- Notasi huruf yang berbeda menyatakan ada beda bermakna
- Tanda (*) menyatakan tidak berbeda bermakna terhadap semua kelompok

Tabel rerata $\pm$ SD diameter glomerulus. Kontrol negatif (KN), kontrol positif induksi sukrosa 4% (KP), induksi sukrosa 4%+kombucha daun sirsak 1,25% (P1), induksi sukrosa 4%+kombucha daun sirsak 2,5% (P2), induksi sukrosa 4%+ kombucha daun sirsak 5%(P3).

Berdasarkan hasil penelitian pada hasil uji Kruskal Wallis pemberian sukrosa 4% terbukti secara bermakna meningkatkan diameter glomerulus dibandingkan kelompok KN, dengan nilai $p < 0,004$. Pada uji Post Hoc Kruskal Wallis Perlakuan pada kelompok P1 menunjukkan penurunan diameter glomerulus secara bermakna dibandingkan KP ($p < 0,02$). Sementara itu, pada dosis P2 ($p > 0,857$) dan P3 ($p > 1,000$), tidak terdapat perbedaan bermakna dibandingkan kelompok KP. Selain itu, didapatkan juga perbedaan bermakna antara KN dan P3 ($P < 0,008$).

Hasil Paparan Kombucha Daun Sirsak (*Annona muricata*) Terhadap Histologi Nekrosis Tubulus Kontortus Proksimal Ginjal pada Ikan Zebra (*Danio rerio*)

Efek pemberian kombucha daun sirsak (*Annona muricata*) terhadap Terhadap Histologi Nekrosis Tubulus Kontortus Proksimal Ginjal (*Danio rerio*) dapat dilihat pada Gambar 2.

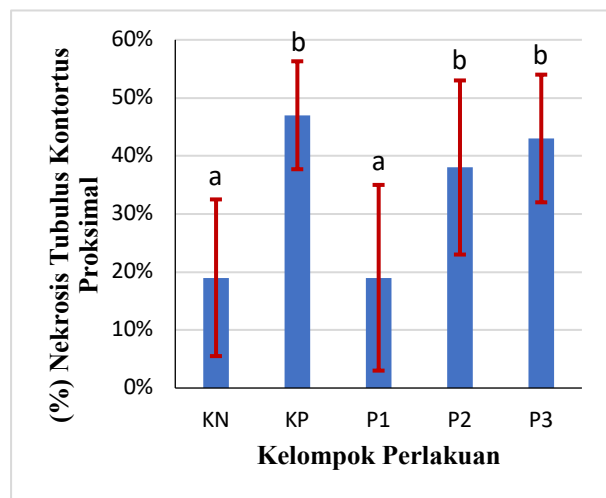


Gambar 2. Struktur Histologis Nekrosis TKP Ginjal Ikan Zebra (*Danio rerio*) (H&E skala batang: 10µm 400x)

Keterangan:

Menunjukkan gambaran mikroskopis struktur histologi nekrosis TKP ginjal ikan zebra (*Danio rerio*) pada kelompok KN,KP,P1,P2,P3 dengan perbesaran 400 kali. Sel TKP normal ditunjukkan tanda panah biru dan sel nekrosis TKP ditunjukkan tanda panah merah.

Kelompok	n	Sel Nekrosis Tubulus (Rata-rata $\pm$ SD)
KN	5	19% $\pm$ 14% ^a
KP	5	47% $\pm$ 9% ^b
P1	5	19% $\pm$ 16% ^a
P2	5	38% $\pm$ 15% ^b
P3	5	43% $\pm$ 11% ^b



Keterangan:

- Notasi huruf yang sama menyatakan tidak ada beda bermakna
- Notasi huruf yang berbeda menyatakan ada beda bermakna

Keterangan :

Tabel rerata $\pm$ SD nekrosis TKP. Kontrol negatif (KN), kontrol positif induksi sukrosa 4% (KP), induksi sukrosa 4%+kombucha daun sirsak 1,25% (P1), induksi sukrosa 4%+kombucha daun sirsak 2,5% (P2), induksi sukrosa 4%+ kombucha daun sirsak 5%(P3).

Berdasarkan hasil penelitian pada hasil uji One-Way ANOVA pemberian sukrosa 4% terbukti secara bermakna meningkatkan jumlah nekrosis TKP dibandingkan kelompok KN, dengan nilai $p < 0,001$. Pada uji Post Hoc One-Way ANOVA Perlakuan pada kelompok P1 menunjukkan penurunan jumlah nekrosis TKP secara bermakna dibandingkan KP ($p < 0,001$). Sementara itu, pada dosis P2 ($p > 1,000$) dan P3 ($p > 1,000$), tidak terdapat perbedaan bermakna dibandingkan kelompok KP. Selain itu, didapatkan juga perbedaan bermakna antara KN dan P2, P3 ($P > 0,003$; $P > 0,001$).

Pengaruh Pemberian Sukrosa 4 % pada Ginjal Ikan Zebra (*Danio rerio*)

Berdasarkan hasil analisa data pada diameter glomerulus didapatkan perbedaan secara signifikan dengan kelompok KN. Ini konsisten dengan studi sebelumnya yang dilakukan oleh¹⁴ bahwasanya pemberian sukrosa 4% dapat meningkatkan diameter glomerulus ikan zebra. Sukrosa termasuk dalam golongan disakarida karena tersusun atas dua jenis gula sederhana, yaitu glukosa dan fruktosa. Kandungan glukosa yang tinggi dalam sukrosa dapat menyebabkan lonjakan glukosa darah bila dikonsumsi dalam

jumlah besar. Dibandingkan dengan jenis gula lainnya seperti fruktosa dan laktosa, sukrosa memiliki indeks glikemik yang lebih tinggi, yaitu sekitar 63–73, sedangkan fruktosa berada pada kisaran 17–24 dan laktosa 44–48. Indeks glikemik sendiri merupakan indikator yang menunjukkan seberapa besar suatu makanan memengaruhi kenaikan glukosa darah. Pangan dengan indeks glikemik tinggi cenderung menyebabkan lonjakan menyebabkan lonjakan gula darah, sedangkan pangan rendah IG menaikkan kadar secara perlahan.²¹

Kondisi gula darah yang terlalu tinggi yang menjadi pemicu utama

berbagai perubahan dalam ginjal. Ketika tubuh menghadapi hiperglikemia, sistem metabolisme glukosa normal tidak mampu menangani kelebihan gula ini, sehingga tubuh mengalihkan pemrosesan glukosa melalui jalur alternatif yang disebut jalur poliol. Penggunaan jalur poliol ini menghasilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dalam jumlah berlebih. ROS ini bertindak seperti racun yang menyebabkan stres oksidatif pada sel-sel ginjal. Akibatnya, terjadi peradangan baik secara lokal di ginjal maupun sistemik di seluruh tubuh. Peradangan ini kemudian memicu serangkaian kerusakan pada berbagai struktur ginjal²². ROS menyebabkan kelainan patologis ginjal yang umum terlihat adalah terjadinya perubahan ukuran ginjal atau hipertrofi sel glomerulus. Paparan hiperglikemia yang berkepanjangan menyebabkan kerusakan glomerulus, yang ditandai dengan penebalan *glomerular basement membrane* (GBM) dan ekspansi mesangial, di mana sel-sel mesangial mengalami hipertrofi dan proliferasi, yang semakin memperburuk fungsi filtrasi ginjal^{23,22}.

Pengaruh Pemberian Kombucha Daun Sirsak (*Annona muricata*) Terhadap Diameter glomerulus ginjal Ikan Zebra (*Danio rerio*)

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa pemberian kombucha daun sirsak dosis 1,25% menunjukkan penurunan diameter glomerulus secara signifikan dibandingkan KP. Pada kelompok P1 terjadi penurunan diameter glomerulus dibandingkan kelompok KP, menunjukkan adanya perbaikan struktur glomerulus. Efek ini kemungkinan berasal dari senyawa aktif dalam kombucha daun sirsak seperti flavonoid dan asetogenin yang berperan sebagai antioksidan dan antiinflamasi, sehingga menekan pembentukan ROS dan

memperbaiki stres oksidatif yang menjadi penyebab hipertrofi glomerulus²⁵. Hal ini juga sejalan dengan fungsi daun sirsak sebagai anti hiperglikemia¹⁰. Daun sirsak memiliki efek inhibisi terhadap enzim pencernaan karbohidrat, yaitu α -glukosidase dan α -amilase. Kedua enzim ini berperan penting dalam proses pemecahan karbohidrat kompleks menjadi glukosa sederhana yang kemudian diserap ke dalam darah. Dengan menghambat aktivitas enzim tersebut, daun sirsak secara efektif dapat memperlambat penyerapan glukosa dan membantu menurunkan kadar gula darah. Senyawa flavonoid yang terkandung dalam daun sirsak, memiliki afinitas ikatan yang tinggi terhadap α -glukosidase. Interaksi ini menghambat kerja enzim tersebut dalam metabolisme glukosa, sehingga berkontribusi terhadap efek anti hiperglikemia²⁶.

Senyawa aktif yang terkandung dalam daun sirsak seperti senyawa fenolik seperti klorogenat, kafeat, tanat, ferulat, askorbat, serta rutin memiliki potensi sebagai agen antiinflamasi. Aktivitas antiinflamasi ini sebagian besar dikaitkan dengan kemampuan senyawa fenolik dan flavonoid dalam menghambat ROS melalui mekanisme antioksidan. Dalam proses fisiologis seperti pembentukan ATP, tubuh secara alami menghasilkan ROS dan spesies nitrogen reaktif (RNS) sebagai produk sampingan. Kedua senyawa ini memiliki peran imunologis ketika dalam kadar normal, namun jika kadarnya berlebihan dapat menyebabkan stres oksidatif yang berdampak pada kerusakan jaringan dan penyakit kronis^{27,10}.

Fenol dan flavonoid yang diproduksi oleh tanaman sirsak berfungsi sebagai mekanisme perlindungan alami terhadap lingkungan ekstrem, serta turut berperan dalam mendorong pertumbuhan. Aktivitas

antioksidan dari flavonoid dipengaruhi oleh struktur kimianya, termasuk jumlah dan posisi gugus hidroksil, konfigurasi molekul, dan potensi pengikatan ion logam secara khelasi²⁸. Oleh karena itu, senyawa fenolik dan flavonoid bersifat antiinflamasi melalui eliminasi radikal bebas ROS dan RNS banyak terbentuk selama proses inflamasi, termasuk pada kerusakan glomerulus. Dengan terperangkapnya radikal bebas oleh gugus hidroksil dalam struktur senyawa tersebut, maka respon inflamasi yang berlebihan dapat ditekan. Penekanan inflamasi inilah yang berkontribusi pada penurunan hipertrofi glomerulus, karena inflamasi kronis akibat stres oksidatif diketahui mempercepat pembesaran sel mesangial dan penebalan membran glomerulus²⁹. Oleh karena itu, pemberian kombucha daun sirsak yang mengandung senyawa antiinflamasi tersebut diyakini mampu menghambat proses inflamasi pada glomerulus dan menurunkan diameternya secara bertahap ke arah normal.

Pengaruh Pemberian Kombucha Daun Sirsak (*Annona muricata*) Terhadap Nekrosis Tubulus kontortus proksimal ginjal Ikan Zebra (*Danio rerio*)

Perlakuan pada kelompok P1 menunjukkan penurunan jumlah nekrosis tubulus kontortus proksimal secara signifikan dibandingkan KP. Pemberian kombucha daun sirsak pada dosis 1,25% menunjukkan potensi protektif terhadap tubulus proksimal ginjal, terutama dalam menurunkan derajat nekrosis yang diinduksi oleh sukrosa 4%. Mekanisme perbaikan kerusakan ginjal melalui pemberian kombucha daun sirsak berkaitan erat dengan aktivitas senyawa antioksidan alami yang terkandung di dalamnya, seperti quercetin, kaempferol, rutin, isoquercetin, dan anonaine. Senyawa-senyawa ini berperan dalam menetralkan

ROS, yang dikenal sebagai pemicu utama kerusakan sel ginjal. Aktivitas antioksidan tersebut mampu menghambat rantai reaksi peroksidasi lipid pada membran fosfolipid sel-sel tubulus kontortus proksimal, sehingga mencegah kerusakan struktural sel. Beberapa jenis ROS yang berperan dalam proses stres oksidatif ini antara lain superoksida (O_2^-), radikal hidroksil ($\bullet OH$), dan hidrogen peroksida (H_2O_2), yang apabila tidak dinetralkan dapat menyebabkan stres oksidatif dan kerusakan jaringan ginjal secara progresif. Antioksidan seperti quercetin dan kaempferol memiliki gugus hidroksil ($-OH$) aktif yang dapat mendonorkan elektron untuk menetralkan ROS, sehingga menghentikan reaksi berantai dan menjaga struktur sel tubulus. Selain efek langsung pada ROS, senyawa aktif dalam daun sirsak juga meningkatkan ekspresi dan aktivitas enzim pelindung seperti SOD, CAT, GST, dan GSH sebagai antioksidan dalam tubuh (GSH). Enzim-enzim ini berperan dalam mengkonversi ROS menjadi senyawa yang tidak berbahaya. SOD mereaksikan superoksida menjadi hidrogen peroksida, kemudian dikatalisis oleh katalase dan GPx mengubah H_2O_2 menjadi air dan oksigen bebas tanpa efek toksik. Peningkatan aktivitas enzim-enzim ini mengurangi beban oksidatif di sekitar sel tubulus, yang selanjutnya mencegah nekrosis sel³². Selain efek antioksidannya, pemberian kombucha daun sirsak dosis 1,25% juga memberikan efek antiinflamasi yang berkontribusi pada penurunan nekrosis tubulus proksimal ginjal. Efek ini dimediasi oleh berbagai senyawa bioaktif antiinflamasi yang terkandung dalam daun sirsak, seperti flavonoid (quercetin, kaempferol, rutin), alkaloid (anonaine, coreximine), serta tannin dan saponin. Senyawa-senyawa tersebut

bekerja menghambat jalur molekuler inflamasi, terutama dengan menekan aktivasi faktor transkripsi NF- κ B, yang merupakan pengatur utama ekspresi gen proinflamasi seperti TNF- α , IL-1 β , dan COX-2. Flavonoid seperti quercetin dan kaempferol secara aktif menghambat pelepasan sitokin proinflamasi dari makrofag dan sel epitel ginjal, serta menekan aktivitas enzim proinflamasi seperti lipoksigenase (LOX) dan siklooksigenase (COX), sehingga

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian kombucha daun sirsak pada dosis 1,25% mampu secara signifikan menurunkan diameter glomerulus serta mengurangi jumlah

menurunkan produksi prostaglandin yang memicu inflamasi. Selain itu, alkaloid seperti anonaine memiliki kemampuan menurunkan ekspresi enzim CYP2E1, yang dikenal berperan dalam pembentukan ROS dan metabolit toksik yang memperparah inflamasi. Dengan menurunnya ekspresi TNF- α , IL-1 β , dan CYP2E1, respon inflamasi sistemik maupun lokal di jaringan ginjal dapat ditekan secara efektif^{31,32}

nekrosis pada tubulus kontortus proksimal pada ikan zebra (*Danio rerio*) yang diinduksi dengan 4% sukrosa.

DAFTAR PUSTAKA

1. Annisa A, Syafrinanda V, Fentiana N, Keperawatan Kesdam Ai, Medan B. Manajemen Hiperglikemia Pada Pasien Diabetes Melitus Tipe Ii Di Rumah Sakit Tk Ii Putri Hijau Medan. Vol. 3, Jurnal Riset Ilmiah. 2024.
2. Rindarwati Ya, Fadillah Rn, Hakim Im. Pengaruh Pendidikan Terapi Non Farmakologi Pada Pasien Diabetes Melitus. Jurnal Ilmiah Kesehatan Delima. 2023;5(2):63.
3. Perkeni. Pedoman Pengelolaan Dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 Dewasa Di Indonesia-2021 Perkeni I Penerbit Pb. Perkeni. 2021.
4. Mihardja L, Delima D, Massie Rga, Karyana M, Nugroho P, Yunir E. Prevalence Of Kidney Dysfunction In Diabetes Mellitus And Associated Risk Factors Among Productive Age Indonesian. J Diabetes Metab Disord. 2018 Jun 1;17(1):53–61.
5. Wahyudiati D, Dwi Wahyudiati Mp, Biokimia Mp. Dasar-Dasar Kependidikan Mipa. 2017.
6. Sartika D, Mahendika D, Setianto R, Azizah F, Dewi Ba. Hubungan Konsumsi Gula Dan Konsumsi Garam Dengan Kejadian Diabetes Mellitus. Holistik Jurnal Kesehatan. 2023 Sep 3;17(5):388–94.
7. Lewine. Diabetes Mellitus Overview What Is It? [Internet]. 2023. Available From: https://www.health.harvard.edu/A_To_Z/Diabetes-Mellitus-Overview-A-To-Z
8. Agarwal R. Chronic Kidney Disease And Type 2 Diabetes Pathogenesis Of Diabetic Nephropathy [Internet]. 2021. Available From: <http://diabetesjournals.org/compndia/article-pdf/2021/1/2/673350/Db202112.pdf>
9. Novianty D, Dian Lestari R, Damayanti D. Potensi Kombucha Daun Sirsak (*Annona*

- Muricata Linn.) Dalam Menghambat Dpp4 Dan Sdf-1 Sebagai Antidiabetes Dengan Studi In Silico [Internet]. 2021. Available From: [Http://Www.Dockingserver.Com](http://www.dockingserver.com)
10. Wahab Sma, Jantan I, Haque Ma, Arshad L. Exploring The Leaves Of *Annona Muricata* L. As A Source Of Potential Anti-Inflammatory And Anticancer Agents. Vol. 9, *Frontiers In Pharmacology*. Frontiers Media S.A.; 2018.
11. Bhardwaj R, Pareek S, Sagar Na, Vyas N. Bioactive Compounds Of *Annona*. Reference Series In *Phytochemistry*. 2019;1–26.
12. 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.
13. Salsabil A, Damayanti D, Bintari Y. Hyperglycemia And Pancreatic Damage In Sucrose-Immersion-Induced Zebrafish. 2024;
14. Wardani P, Martino Y, Damayanti D. Pengaruh Sukrosa Pada *Danio Rerio* Terhadap Perubahan Diameter Glomerulus Dan Nekrosis Tubulus Kontortus Proksimal. 2024.
15. Dorsemans Ac, Lefebvre D'hellencourt C, Ait-Arsa I, Jestin E, Meilhac O, Diotel N. Acute And Chronic Models Of Hyperglycemia In Zebrafish: A Method To Assess The Impact Of Hyperglycemia On Neurogenesis And The Biodistribution Of Radiolabeled Molecules. *Journal Of Visualized Experiments*. 2017 Jun 26;2017(124).
16. Gleeson M, Connaughton V, Arneson Ls. Induction Of Hyperglycaemia In Zebrafish (*Danio Rerio*) Leads To Morphological Changes In The Retina. *Acta Diabetol*. 2007 Sep;44(3):157–63.
17. Norton W, Bally-Cuif L. Adult Zebrafish As A Model Organism For Behavioural Genetics [Internet]. 2010. Available From: [Http://Www.Biomedcentral.Com/1471-2202/11/90](http://www.biomedcentral.com/1471-2202/11/90)
18. Barkah H, Damayanti D, Hakim R. Pengaruh Lama Fermentasi Kombucha Daun Sirsak (*Annona Muricata* L.) Terhadap Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli*. 2021.
19. Narko T, Wibowo Ms, Damayanti S, Wibowo I. Acute Toxicity Tests Of Fermented Robusta Green Coffee Using Zebrafish Embryos (*Danio Rerio*). *Pharmacognosy Journal*. 2020 May 1;12(3):485–92.
20. Isaac Ue, Oyo-Ita E, Igwe Np, Ije El. Preparation Of Histology Slides And Photomicrographs: Indispensable Techniques In Anatomic Education. *Anatomy Journal Of Africa*. 2023 Apr 6;12(1):2252–62.
21. Azzaky F, Njoto I, Setiawan H, Tjandra L. Hubungan Kadar Diet Sukrosa Dengan Peningkatan Kadar Gula Darah Sebagai Faktor Risiko Diabetes Mellitus Pada Tikus Wistar (*Rattus Norvegicus*). *Jurnal Ilmiah Kedokteran Wijaya Kusuma*. 2023.
22. Pelle Mc, Provenzano M, Busutti M, Porcu Cv, Zaffina I, Stanga L, Et Al. Up-Date On Diabetic Nephropathy. Vol. 12, *Life*. Mdpi; 2022.
23. Zang L, Saitoh S, Katayama K, Zhou W, Nishimura N, Shimada Y. A Zebrafish Model Of

