

PENGARUH KOMBUCHA DAUN SIRSAK TERHADAP HISTOMORFOLOGI INTESTINAL IKAN ZEBRA (*Danio rerio*) YANG DIINDUKSI SUKROSA 4%

Berliana Fitri Febriyanti, Aris Rosidah¹, Dini Sri Damayanti^{2*}

Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Hiperglikemia yang disebabkan induksi sukrosa 4% dapat menyebabkan kerusakan pada sel intestinal akibat penumpukan radikal bebas, yang ditandai dengan peningkatan sel goblet, pemendekan vili, dan penebalan kript. Kombucha daun sirsak (KDS) memiliki kandungan senyawa fenolik yang berpotensi sebagai antioksidan. Oleh sebab itu, penelitian bertujuan untuk membuktikan pengaruh KDS terhadap penurunan jumlah sel goblet, pemendekan vili, dan penebalan kript.

Metode: Penelitian ini merupakan studi eksperimental dengan desain *posttest control group*, menggunakan ikan zebra (*Danio rerio*) jantan dewasa. Ikan dibagi menjadi lima kelompok: kontrol negatif (KN), kontrol positif (KP) yang diberi sukrosa 4%, dan tiga kelompok perlakuan (P1, P2, P3) yang diinduksi sukrosa 4% dan kombucha daun sirsak dengan konsentrasi 1,25%, 2,5%, dan 5% selama 28 hari. Selanjutnya, dilakukan pembuatan preparat histologi dengan pewarnaan HE. Pengukuran dilakukan secara manual oleh 3 pengamat menggunakan mikroskop trinokuler BX53M pada 5 lapang pandang, serta dihitung dengan software Image J. Analisis data menggunakan Kruskal Wallis yang dilanjutkan dengan *post hoc* dengan nilai $p < 0.05$.

Hasil: Jumlah sel goblet KP lebih banyak dibandingkan 3x KN ($p=0.002$). Pada P1 dapat menurunkan jumlah sel goblet pada KP ($P=0.012$), namun P2 dan P3 tidak dapat menurunkan. Sel goblet pada P1 lebih rendah signifikan dibandingkan dengan P3 ($p=0.021$). Vili intestinal pada KN lebih tinggi dibandingkan KP ($p=0,031$). Pemberian kombucha pada semua dosis tidak berbeda dengan KP ($P>0.05$). Vili P1 lebih tinggi dibandingkan P3 ($p= 0,001$). Kedalaman kript didapatkan KN mempunyai kedalaman lebih dangkal dibandingkan KP, P2, dan P3 ($p=0,007$; $p=0,047$; $p=0,011$). KDS tidak memengaruhi vili dan kript intestinal.

Kesimpulan: Kombucha daun sirsak dosis 1,25% mampu menurunkan jumlah sel goblet ikan zebra yang diinduksi sukrosa 4%. Namun semua dosis kombucha daun sirsak tidak mampu meningkatkan ukuran tinggi vili dan kedalaman kript intestinal.

Kata Kunci: Ikan zebra (*D.rerio*), kombucha daun sirsak, sukrosa, intestinal.

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

Jl. MT Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65145

The Effect of Soursop Leaf Kombucha on the Histomorphology of Zebrafish Intestines (*Danio rerio*) Induced by 4% Sucrose

Berliana Fitri Febriyanti, Aris Rosidah¹, Dini Sri Damayanti^{2*}

Faculty of Medicine, Islamic University of Malang

ABSTRACT

Introduction: Hyperglycemia induced by 4% sucrose can lead to intestinal cell damage due to the accumulation of free radicals. This damage is characterized by an increase in goblet cells, villi shortening, and crypt thickening. Soursop leaf kombucha (SLK) contains phenolic compounds with potential antioxidant properties. Therefore, this study aimed to investigate the effect of SLK on reducing goblet cell count, villi shortening, and crypt thickening.

Methods: This study employed an experimental design with a posttest-only control group, utilizing adult male zebrafish (*Danio rerio*). The fish were randomly divided into five groups: a negative control group (NC), a positive control group (PC) administered 4% sucrose, and three treatment groups (T1, T2, T3) that received 4% sucrose induction along with soursop leaf kombucha at concentrations of 1,25%, 2,5%, and 5%, respectively, for a period of 28 days. Subsequently, histological preparations were made and stained with Hematoxylin and Eosin (HE). Measurements were performed manually by three observers using a BX53M trinocular microscope across five fields of view. Data quantification was performed using ImageJ software. Statistical analysis involved the Kruskal-Wallis test, followed by Dunn's post-hoc test, with a significance level set at $p<0.05$.

Results: The KP group had significantly more goblet cells than the 3x KN group ($p=0.002$). P1 treatment effectively reduced goblet cell count in the KP group ($P=0.012$), with P1's goblet cell count being significantly lower than P3's ($p=0.021$), though P2 and P3 didn't show reductions. Intestinal villi were significantly higher in the KN group compared to KP ($p=0.031$), and P1's villi were also notably higher than P3's ($p=0.001$), while kombucha at all doses didn't significantly affect villi compared to KP. Lastly, KN showed shallower crypt depths than KP, P2, and P3 ($p=0.007$; $p=0.047$; $p=0.011$), with KDS having no impact on either villi or crypts.

Conclusion: Soursop leaf kombucha at a dose of 1,25% was able to reduce the number of goblet cells in sucrose 4%-induced zebrafish. However, all doses of soursop leaf kombucha failed to increase the height of intestinal villi and crypt depth.

Keywords: Zebrafish (*D.rerio*), soursop leaf kombucha, sucrose, intestinal

*Corresponding author:

Dini Sri Damayanti (dinisridamayanti@unisma.ac.id)

PENDAHULUAN

Hiperglikemia adalah gambaran umum yang khas yang sering ditemukan dan merupakan faktor risiko diabetes. Hiperglikemia dapat terjadi karena peningkatan kadar glukosa darah di atas 126 mg/dL atau peningkatan kadar glukosa darah di atas 200 mg/dL¹. Hiperglikemia kronis dan gangguan metabolisme pada DM berkontribusi pada kerusakan organ jangka panjang seperti usus, ginjal, mata, saraf, hepar, dan pembuluh darah. Kondisi gula darah tinggi mengawali terjadinya resistensi insulin, yaitu penurunan respons sel terhadap insulin. Diet tinggi sukrosa salah satu yang mempengaruhi terjadinya hiperglikemia. Diet tinggi sukrosa menyebabkan penurunan aktivitas enzim glukokinase, dan gangguan sekresi GLP-1. Sukrosa sering dijumpai dalam kehidupan sehari-hari yang terdiri dari dua molekul monosakarida yaitu glukosa dan fruktosa, biasa ditemukan di gula pasir².

Sukrosa memiliki indeks glikemik lebih tinggi dibandingkan gula lain seperti fruktosa dan laktosa. Konsumsi sukrosa berlebih menyebabkan peningkatan kadar glukosa darah yang memicu peningkatan pembentukan Reactive Oxygen Species (ROS)². Mekanisme ROS dalam membuat kerusakan jaringan pada kondisi hiperglikemia dipercepat dengan empat mekanisme molekuler penting yaitu aktivasi protein kinase C (PKC), peningkatan jalur heksosamin, peningkatan produk akhir glikasi (AGE), dan peningkatan jalur poliol. Kondisi ini menyebabkan kerusakan tight junction antar sel epitel di intestinal dan akan terjadi disfungsi epitel intestinal. Dampak dari kerusakan tersebut akan menyebabkan inflamasi ketidakseimbangan mikrobiota di usus³.

Ketidakseimbangan mikrobiota di usus yang biasa disebut dengan “disbiosis mikrobiota” yaitu penurunan bakteri yang menguntungkan (*Bacteroidetes* dan *Akkermansia muciniphila*). Hal ini dapat menyebabkan kerusakan pada epitel karena menyebabkan patogen untuk masuk ke dalam sirkulasi darah, dan penurunan *Short Chain Fatty Acids* (SCFA). Jika SCFA menurun, permeabilitas usus (*leaky gut*) akan meningkat sehingga menyebabkan usus mengalami peradangan kronis⁴. Dampak dari respon inflamasi yang berlebihan akan menghambat perkembangan sel pada jaringan tersebut sehingga menyebabkan gangguan fisiologi dan perubahan histologis yang dibuktikan dengan peningkatan jumlah sel goblet sebagai penghasil lendir dan pemendekan vili intestinal yang berperan atas penyerapan nutrisi⁵.

Dalam pengendalian kadar glukosa darah salah satu caranya yaitu dengan mengonsumsi minuman herbal seperti kombucha daun sirsak. Kombucha memiliki manfaat sebagai terapi antihiperglikemia dengan mekanisme penurunan serapan glukosa pada sistem pencernaan. Menurut Rana dkk. (2005) kombucha memiliki senyawa flavonoid, asam organik, dan alkohol yang memiliki sifat antioksidan, pengaturan mikrobiota usus dan

berpotensi sebagai perbaikan (regenerasi) sel penghasil insulin di pankreas sehingga memperbaiki produksi insulin⁶. Kombucha kaya akan probiotik (bakteri baik) seperti *Lactobacillus* spp. yang dapat meningkatkan produksi makrofag untuk memfagosit agen-agen toksik di dalam tubuh. Bakteri asam laktat akan memproduksi bakteriosin yang memiliki kemampuan bakterisidal. Probiotik ini berperan penting dalam menjaga keseimbangan mikrobiota usus. Mikrobiota usus yang sehat sangat penting untuk integritas *tight junction* pada sel enterosit intestinal dan salah satu asam organik yang terkandung dalam kombucha adalah *short chain fatty acid* (SCFA) yang berperan dalam menjaga integritas sel-sel enterosit intestinal. Penelitian lain menyatakan bahwa fermentasi dalam pembuatan kombucha akan meningkatkan efektifitas senyawa aktif tanpa merubah kadarnya, dengan cara menghilangkan glukosa yang terikat pada senyawa fenol untuk membentuk senyawa fenol bentuk aglikon oleh bakteri *Lactobacillus* yang terkandung dalam SCOBY. Keuntungan fenol dalam bentuk aglikon mudah diserap oleh intestinal daripada dalam bentuk glikosida⁷.

Beberapa penelitian telah dilakukan membuktikan bahwa penggunaan kombucha daun sirsak dapat memiliki efek sinergis sebagai antibakteri dan antioksidan, namun belum diketahui pengaruhnya terhadap morfologi vili usus. Penelitian dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian kombucha daun sirsak terhadap produksi sel goblet dan kemampuan penyerapan usus melalui pengukuran panjang villi usus dengan kedalaman kript intestinal.

METODE PENELITIAN

Desain, Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan secara eksperimental laboratorium dengan desain penelitian *control group posttest only design* secara *in vivo* menggunakan ikan zebra dewasa jantan dengan induksi Kombucha Daun Sirsak selama 28 hari. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Riset Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang, Laboratorium Central Riset & Diagnostik Klinik Hewan Sarwa Sehat Malang yang dilaksanakan pada bulan Januari 2024-Maret 2024. Penelitian ini sudah mendapatkan izin dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Rumah Sakit Islam Malang No.49/KEPK/RSI-U/X/2024 per tanggal 15 Oktober 2024.

Pembuatan Kombucha Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn)

Serbuk simplisis daun sirsak yang dibuat dan diterminasi di Balai Materis Medialis dengan nomor determinasi 000.9.3/2962/102.20/2024. Proses membuat kombucha dari daun sirsak diawali dengan serbuk daun sirsak direbus dalam satu liter air mendidih. Kantong teh yang berisi 12 gram daun sirsak kering dimasukkan ke dalam air rebusan selama 5 menit. ditambahkan gula 10%, dan diaduk. Larutan ini lalu dipindahkan ke dalam wadah kaca

steril yang ditutup rapat dan dibiarkan dingin hingga sekitar 25°C. Setelah didinginkan ditambahkan air dan nata (SCOBY) sebanyak 5% dalam seduhan teh daun sirsak, kemudian jar ditutup menggunakan kain bersih yang diikat karet untuk mencegah kontaminasi. Fermentasi dilakukan selama 10-14 hari dalam ruangan gelap dengan suhu sekitar 25°C⁸.

Perlakuan dan Pengelompokan Hewan Uji

Dalam penelitian ini yang digunakan ikan zebrafish (*Danio rerio*) berjenis kelamin jantan dengan karakteristik berat 0,4-1 gram, panjang 1-3 cm, dan usia dewasa antara 4 dan 11 bulan sebanyak 300 ekor⁹. Indukan Ikan-ikan ini diperoleh dari Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan (FPIK) Universitas Brawijaya dan telah diverifikasi oleh Unit Layanan Manajemen Kesehatan Ikan dan Lingkungan Perairan Universitas Airlangga, sebagaimana dinyatakan dalam surat determinasi bernomor **53/ULMKILP/UA.FPK/10/2024** yang diterbitkan pada 28 Oktober 2024. Aklimatisasi ikan zebra dilakukan selama 7 hari dengan penyinaran gelap terang setiap 2 jam pada akuarium ukuran 2L, pH pemeliharaan 6.8-7.5, suhu 26-28°C, pemberian pelet pakan 3 kali yaitu pagi, siang, dan sore¹⁰.

Setelah aklimatisasi ikan zebra diberi perlakuan dengan penambahan sukrosa 4% dan kombucha daun sirsak selama 28 hari ke dalam masing-masing akuarium. Terdapat 5 kelompok perlakuan dengan akuarium perlakuan normal, penambahan sukrosa 4%, sukrosa 4% dan kombucha daun sirsak dengan kadar 150,300, dan 5%. Air akuarium 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. Pada akhir perlakuan di hari ke 29 sebelum dilakukan pembedahan ikan zebra dipuasakan selama lebih dari 12 jam, selanjutnya ikan zebra dieutanasia menggunakan air dingin selama 10 menit. Setelah ikan zebra tidak sadar, ikan dikorbankan untuk dilakukan pembedahan dan pembuatan preparat histologi dengan pewarnaan HE¹⁰.

Tabel 1. Pengelompokan Hewan Coba

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

Pembuatan Preparat Histologi Intestinal

Jaringan intestinal difiksasi dalam larutan buffer fosfat formalin 10% selama 24 jam. Jaringan intestinal diiris setebal ± 3 mm, kemudian didehidrasi menggunakan alkohol bertingkat (70%, 80%, 96%) masing-masing 1,5 jam, lalu dijernihkan dengan xylol I, II, dan III masing-masing 1,5 jam. Selanjutnya, jaringan diinfiltrasi dengan parafin cair suhu 56°C sebanyak dua kali selama 2 jam, kemudian diblok menggunakan paraffin blok. Jaringan dipotong dengan mikrotom setebal 4-5 μ m, dikembangkan di *floating bath* bersuhu 49°C, dan ditempatkan pada gelas objek. Setelah kering, preparat diwarnai dengan Hematoxylin Eosin (HE). Proses pewarnaan meliputi deparafinisasi dalam xylol, rehidrasi (alkohol bertingkat), pencucian, perendaman dalam Hematoxylin Meyer selama 7 menit, pencucian, perendaman dalam Eosin (10 detik), dehidrasi (alkohol bertingkat), dan penjernihan (xylol). Terakhir, preparat dikeringkan dan diamati dibawah mikroskop untuk pengamatan preparat histologi meliputi tinggi villi dan kedalaman kript.

Perhitungan Jumlah Sel Goblet

Proses penghitungan jumlah sel goblet diamati secara histologi menggunakan mikroskop trinokuler BX53M dengan pembesaran 400x pada 5 lapang pandang, dihitung menggunakan *software image J* oleh 3 pengamat yang berbeda.

Pengamatan Ukuran Vili dan Kedalaman Kripta

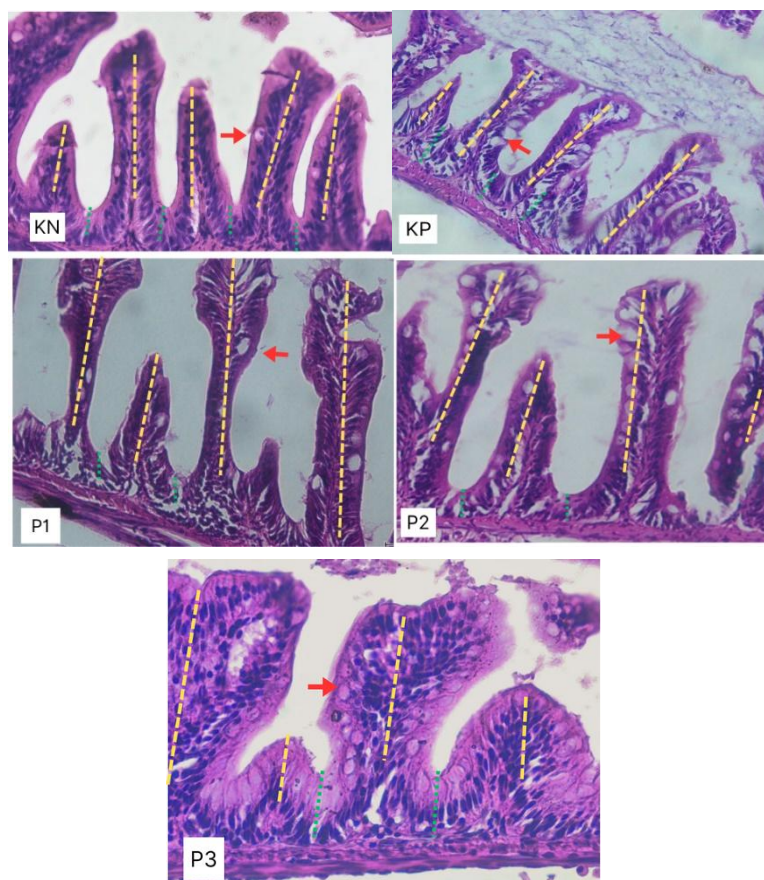
Dalam melihat ukuran vili dan kedalaman kript preparat histologi diperiksa dibawah mikroskop trinokuler BX53M dengan pembesaran 400x pada 5 lapang pandang. Untuk melihat ukuran tinggi vili dihitung dengan mengukur jarak vertikal dari ujung villi sampai persimpangan villi dan kedalaman kript dengan mengukur jarak vertikal dari persimpangan villi kript sampai batas terbawah kript. Pengukuran dilakukan menggunakan menu *straight* $\rightarrow$ *Analyze* $\rightarrow$ *Measure* pada aplikasi *ImageJ*.

Analisis Data

Data dinyatakan dalam bentuk rerata $\pm$ SD. Data persentase histologi hepar diolah dan dianalisis menggunakan *software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 27.0 for Windows*. Analisis data dilakukan dengan menggunakan analisis satu arah atau uji *One-way ANOVA* dan *Tukey Test* dengan interval kepercayaan 95% apabila hasil uji homogen dan normal ($p > 0.05$). Apabila hasilnya tidak normal/homogen atau tidak terpenuhi 1 sampai 2 kriteria, maka dilakukan uji *Kruskal Wallis* dan *Mann-Whitney* dengan signifikansi $p < 0.05$.

HASIL PENELITIAN

Hasil Pemberian Kombucha Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn) Terhadap Histologi Jaringan Intestinal



Gambar 1. Histologi intestinal ikan zebra (*D. Rerio*), (HE,400x)

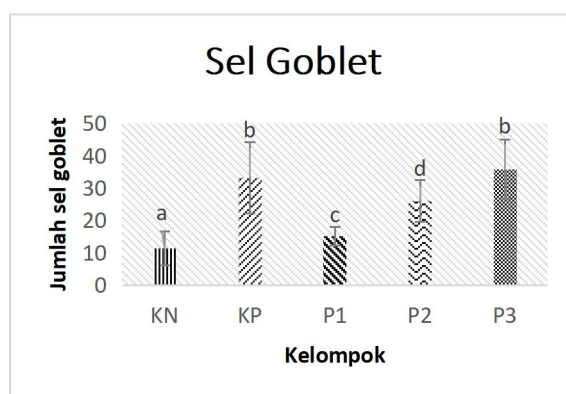
Keterangan Gambar: kelompok perlakuan Kontrol Negatif (KN), Kontrol Positif (KP), Perlakuan 1 (P1), Perlakuan 2 (P2), Perlakuan 3 (P3). Sel goblet ditunjukkan dengan anak panah merah, tinggi vili ditunjukkan garis berwarna kuning, dan kedalaman kriptay ditunjukkan garis berwarna hijau. Pada KN menunjukkan sel goblet yang paling sedikit, vili terpanjang dan kedalaman kriptay paling dangkal dari KP dan semua perlakuan. P1 lebih sedikit sel goblet dan lebih panjang vili serta dangkal kedalaman kriptay dari P2 dan P3. P3 menunjukkan sel goblet semakin banyak dari KP dan lebih pendek vili serta lebih dalam kriptay.

Tabel 2. Rerata Jumlah Sel Goblet Ikan Zebra (*Danio rerio*) Dewasa yang Diinduksi Kombucha Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn)

Kelompok	n (sampel)	Sel Goblet (Rata-rata $\pm$ SD)
Kontrol Negatif (KN)	5	11.40 $\pm$ 5.22 ^a
Kontrol Positif (KP)	5	33.20 $\pm$ 10.98 ^b
Perlakuan 1 (P1)	5	15.20 $\pm$ 2.86 ^c
Perlakuan 2 (P2)	5	26.00 $\pm$ 6.44 ^d
Perlakuan 3 (P3)	5	35.80 $\pm$ 9.20 ^b

Keterangan:

- a : Berbeda signifikan dengan KP, P2 dan P3
- b : Berbeda signifikan dengan Kn dan P1
- c : Berbeda signifikan dengan KP dan P3
- d : Berbeda signifikan dengan KN



Gambar 2. Histogram Jumlah Sel Goblet Zebrafish yang Diinduksi Kombucha Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn)

Keterangan:

- KN: Kelompok Normal
- KP: Kelompok yang diinduksi sukrosa 4%

P1: Kelompok yang diinduksi sukrosa 4% + dosis kombucha daun sirsak 1,25%
 P2: Kelompok yang diinduksi sukrosa 4% + dosis kombucha daun sirsak 2,5%
 P3: Kelompok yang diinduksi sukrosa 4% + dosis kombucha daun sirsak 5%

Pada **Tabel 2** Secara statistik jumlah sel goblet KP (33.20 ± 10.98) lebih banyak dibandingkan KN (11.40 ± 5.22) ($p=0.002$). KP (33.20 ± 10.98) lebih banyak dibandingkan P1 (15.20 ± 2.86) ($P=0.012$), namun tidak berbeda secara signifikan dibandingkan P2 dan P3. Antar dosis didapatkan P1 rendah dibandingkan P3 (33.20 ± 10.98 vs 35.80 ± 9.20) $p<0.05$.

Tabel 3. Rerata Tinggi Vili Intestinal *Zebrafish* yang Diinduksi Kombucha Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn)

Kelompok	n (sampel)	Tinggi Vili (Rata-rata $\pm$ SD)
Kontrol Negatif (KN)	5	644.69 ± 185.87^a
Kontrol Positif (KP)	5	473.38 ± 99.99^b
Perlakuan 1 (P1)	5	557.08 ± 91.36^c
Perlakuan 2 (P2)	5	496.15 ± 70.73^d
Perlakuan 3 (P3)	5	352.31 ± 93.13^e

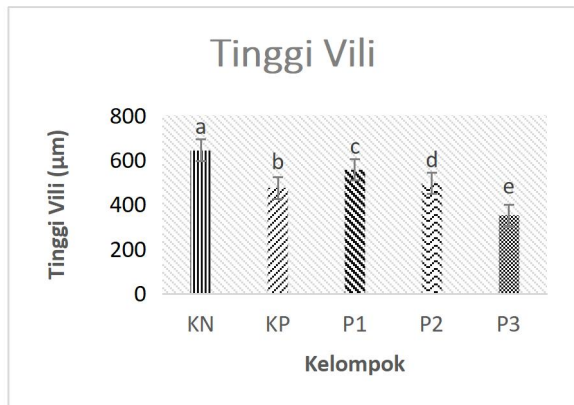
a : Berbeda signifikan dengan KP dan P3

b : Berbeda signifikan dengan Kn

c : Berbeda signifikan dengan P3

d : Tidak berbeda signifikan dengan kelompok lainnya

e : P3 berbeda signifikan dengan Kp dan P1



Gambar 3. Histogram Tinggi Vili *Danio rerio* Dewasa yang Diinduksi Kombucha Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn)

Keterangan :

KN: Kelompok Normal

KP: Kelompok yang diinduksi sukrosa 4%

P1: Kelompok yang diinduksi sukrosa 4% + dosis kombucha daun sirsak 1,25%

P2: Kelompok yang diinduksi sukrosa 4% + dosis kombucha daun sirsak 2,5%

P3: Kelompok yang diinduksi sukrosa 4% + dosis kombucha daun sirsak 5%

Pada **Tabel 3** disajikan data tinggi vili *zebrafish* hasil pengukuran yang diperoleh dari **Gambar 1**. Kelompok yang memiliki vili paling tinggi yaitu KN (644.69 ± 185.87) dan vili paling rendah pada P3 (352.31 ± 93.13). Pada hasil Analisa

Post Hoc Kruskal Wallis didapatkan . Tinggi vili intestinal KN lebih tinggi dibandingkan KP (644.69 ± 185.8 vs 475.38 ± 99.9) ($p<0.05$). Pemberian kombucha pada semua dosis tidak berbeda dengan KP ($P>0.05$). Antar perlakuan didapatkan P1 lebih tinggi dibandingkan P3 (644.69 ± 185.8 vs 352.31 ± 93.1) ($p<0.05$).

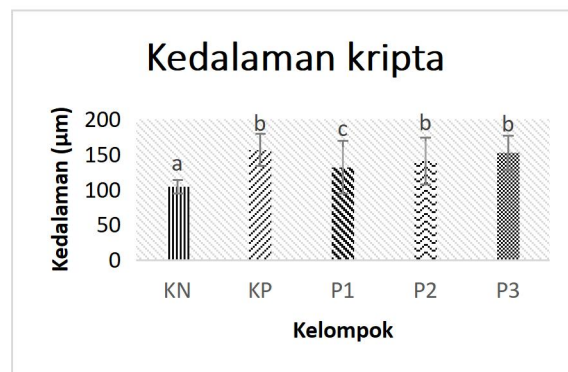
Tabel 4. Rerata Kedalaman Kripta Intestinal *Zebrafish* yang Diinduksi Kombucha Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn)

Kelompok	n (sampel)	Kedalaman Kripta (Rata-rata $\pm$ SD)
Kontrol Negatif (KN)	5	104.05 ± 9.36^a
Kontrol Positif (KP)	5	156.65 ± 23.12^b
Perlakuan 1 (P1)	5	132.06 ± 37.80^c
Perlakuan 2 (P2)	5	140.75 ± 33.37^b
Perlakuan 3 (P3)	5	152.43 ± 24.63^b

a : Berbeda signifikan dengan KP dan P2,P3

b : Berbeda signifikan dengan KN

c : P1 tidak signifikan



Gambar 4. Histogram Kedalaman Kripta *Danio rerio* Dewasa yang Diinduksi Kombucha Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn)

Keterangan :

KN: Kelompok Normal

KP: Kelompok yang diinduksi sukrosa 4%

P1: Kelompok yang diinduksi sukrosa 4% + dosis kombucha daun sirsak 1,25%

P2: Kelompok yang diinduksi sukrosa 4% + dosis kombucha daun sirsak 2,5%

P3: Kelompok yang diinduksi sukrosa 4% + dosis kombucha daun sirsak 5%

Pada **Tabel 4** disajikan data kedalaman kripa *zebrafish* hasil pengukuran yang diperoleh dari **Gambar 1**. Hasil pengukuran kedalaman kripa menunjukkan kelompok paling dalam KP (156.65 ± 23.12) dan paling dangkal KN (104.05 ± 9.36). Pada hasil Analisa Post Hoc Kruskal Wallis didapatkan KN mempunyai kedalaman lebih besar dibandingkan KP, P2, dan P3 (104.05 ± 9.36 vs 156.65 ± 23.12 vs 140.75 ± 33.37 vs 152.43 ± 24.63). Namun, tidak ada perbedaan signifikan pada kelompok perlakuan.

PEMBAHASAN

Pengaruh Induksi Sukrosa 4% terhadap jumlah sel goblet dan kript intestinal zebra fish

Berdasarkan hasil analisa data pada sel goblet terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok KP terhadap. Pada kelompok kontrol positif dengan pemberian diet tinggi sukrosa dapat memicu peningkatan jumlah sel goblet 3x dibandingkan Normal. Kondisi ini diduga disebabkan karena pemberian sukrosa 4% menyebabkan terjadinya hiperglikemia sehingga memicu terjadinya inflamasi. Pernyataan ini didukung oleh hasil penelitian Tsabita. S, 2024 dimana induksi sukrosa 4% selama 28 hari menyebabkan ikan zebra mengalami peningkatan jumlah sel radang 44% dan peningkatan luas area kerusakan vili 9%¹¹.

Hiperglikemia dapat memicu produksi spesies oksigen reaktif (ROS) yang merusak sel-sel usus. ROS ini mengaktifkan jalur sinyal pro-inflamasi seperti NF- κ B yang kemudian memicu pelepasan sitokin pro-inflamasi (TNF- α , IL-3), merusak protein *tight junction* di sawar usus, meningkatkan permeabilitas usus atau "leaky gut" merusak keseimbangan mikroorganisme yang sehat. Kesemuanya akan menyebabkan inflamasi dan kerusakan epitel usus. Salah Satu tanda adanya kerusakan dari epitel usus adalah peningkatan produksi mukus oleh sel goblet. Produksi sel goblet dipengaruhi oleh interleukin-13 (IL-13), IL-4, dan tumor necrosis factor- α (TNF- α) yang dilepaskan selama respons imun dan inflamasi dapat secara langsung merangsang diferensiasi sel progenitor menjadi sel goblet dan meningkatkan produksi lendir¹². Faktor yang mempengaruhi hiperplasia besar terkait dengan peradangan dan iritasi kronis. Paparan berulang terhadap iritan seperti asap rokok, alergen, atau agen infeksius memicu respons inflamasi yang mendorong tubuh memproduksi lebih banyak lendir sebagai mekanisme pertahanan. Selain itu, respons imun juga berperan, di mana sitokin dan antigen dapat merangsang proliferasi sel goblet. Bahkan, perubahan lingkungan atau fisiologis, seperti tingkat keasaman, suhu, kelembaban, dan jenis makanan, juga dapat memengaruhi peningkatan sel goblet sebagai adaptasi untuk melindungi permukaan internal tubuh.

Berdasarkan hasil analisa data pada vili dan kedalaman kript terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok KN dan KP. Vili intestinal pada KP ($475,38 \pm 99,9$) lebih pendek dibandingkan KN ($644,69 \pm 185,8$) ($p=0.031$) dan kedalaman kript pada KP lebih dalam (156.65 ± 23.12) ($p=0.007$) dibandingkan KN (104.05 ± 9.36). Kondisi ini diduga disebabkan karena kondisi hiperglikemia akibat induksi sukrosa 4%.

Hiperglikemia memicu produksi spesies oksigen reaktif (ROS) yang berlebihan, kerusakan sel serta memicu respons inflamasi. Hiperglikemia menyebabkan peningkatan sel goblet yang berfungsi

memberi perlindungan permukaan usus halus dari patogen dan membatasi pergerakan serta perlekatan dari patogen¹³. Kerusakan dan erosi pada epitel vili dapat merangsang proliferasi sel-sel sekretori yang mengeluarkan lendir sehingga menyebabkan adhesi vili¹⁴. Peningkatan jumlah sel goblet ini menjadi upaya kompensasi untuk memperbaiki integritas sawar usus yang mungkin terganggu akibat hiperglikemia. Kript mengandung sel-sel induk yang bertanggung jawab untuk regenerasi sel-sel epitel di vili. Sel-sel baru yang diproduksi di kript bermigrasi ke atas, menggantikan sel-sel yang rusak atau tua di ujung vili. Adanya sifat regenerasi yang baik dari sel epitel di intestinal menyebabkan luas area kerusakan yang ditimbulkan dapat berkurang dan kript lebih dangkal. Peningkatan kedalaman kript ini mungkin mencerminkan upaya tubuh untuk meningkatkan produksi sel-sel baru guna memperbaiki atau mengganti sel-sel yang rusak akibat hiperglikemia. Jumlah sel goblet berkaitan dengan jumlah kript liberkuhn, diduga karena sel goblet dihasilkan oleh kript liberkuhn, semakin banyak kript liberkuhn maka sel goblet juga semakin banyak¹⁵.

Pengaruh Pemberian Kombucha Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn) Jumlah sel Goblet Intestinal Zebrafish

Berdasarkan hasil uji statistik, setelah pemberian kombucha daun sirsak pada kelompok perlakuan didapatkan penurunan jumlah sel goblet yang secara signifikan ditunjukkan pada kelompok P1 dengan dosis 1,5%, kombucha mampu menurunkan jumlah sel goblet sebanyak 2x lipat dibandingkan kelompok kontrol positif (KP) ($p=0,012$). Penurunan ini diduga kuat disebabkan oleh senyawa aktif dalam kombucha daun sirsak yang mampu bekerja sebagai agen antioksidan dalam menyeimbangkan microbiota usus, dan menurunkan kadar glukosa darah¹⁶.

Sel goblet sendiri merupakan penghasil mucus yang penting dalam melawan patogen. Namun, peningkatan jumlah sel goblet ini menjadi upaya kompensasi untuk memperbaiki integritas sawar usus yang mungkin terganggu akibat hiperglikemia yang memicu terjadinya Stress oksidatif. Kombucha berperan dalam mencegah radikal bebas sehingga tidak terjadi stress oksidatif melalui kandungan senyawa fenolik yang dimilikinya. Hal ini didukung oleh studi yang dilakukan Prakatur *et al.*, (2019) dan Prihambodo *et al.*, (2021) bahwa kombucha memiliki kandungan senyawa fenolik yang tinggi sebagai antioksidan dan banyak asam organik seperti asam asetat, glukonat dan glukuronat yang mendukung pertumbuhan bakteri menguntungkan dan menghambat bakteri patogen¹⁷. Menurut penelitian Costa, (2021) menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan dan anti-inflamasi yang diberikan oleh polifenol bekerja melawan gangguan metabolisme seperti kanker, obesitas, dan diabetes melalui modulasi microbiota usus¹⁸. Terdapat bukti bahwa perubahan metabolisme yang disebabkan oleh diet tinggi lemak

juga dapat diredam oleh asupan polifenol melalui aktivasi PPAR α dan GLUT4. SCFA juga bekerja dalam aktivasi hormon GLP-1 (glucagon-like peptide 1) yang mana ini memiliki peran sebagai faktor pertumbuhan spesifik sel epitel usus dan merangsang sekresi insulin.

Sedangkan pada kelompok perlakuan 2 (P2) dengan dosis 2,5% dan kelompok perlakuan 3 (P3) dosis 5%, pemberian kombucha daun sirsak tidak menurunkan jumlah sel goblet pada ikan zebra. Sebaliknya justru meningkatkan jumlah sel goblet. Hal tersebut diduga karena semakin tinggi dosis kombucha maka semakin toksik terhadap ikan zebra karena sifat aktif antioksidan menjadi prooksidan. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Dzah, E., *et al.* (2024) polifenol dalam dosis tinggi mengalami auto-oksidasi dan menghasilkan radikal bebas lebih banyak yang merusak DNA, protein, dan membran sel sehingga terjadi peningkatan jumlah sel goblet untuk melindungi dan memperbaiki sawar mukosa¹⁹.

Pengaruh Pemberian Kombucha Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn) Terhadap Tinggi Vili dan Kedalaman Kripta Intestinal Zebrafish

Hasil data pada vili dan kedalaman kripta tidak ada perbedaan signifikan antara kelompok KP dan perlakuan. Semakin tinggi dosis berturut-turut semakin merusak vili dan penebalan kripta. Hal ini menjelaskan bahwasanya semua dosis kombucha daun sirsak tidak bisa menurunkan kerusakan pada vili dan kripta akibat sukrosa 4 %. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan Dzah *et al.*, (2024) secara teoritis stres oksidatif yang berlebihan dapat merusak sel-sel epitel usus. Kerusakan sel epitel yang parah atau kronis, pada gilirannya, bisa mempengaruhi integritas vili dan kripta. Inflamasi akibat paparan radikal bebas apabila terus menerus terjadi akan memberikan efek negatif berulang pada sel goblet yaitu sel goblet pada bagian kripta akan mensekresi musin dengan adanya stimulasi sebagai respon terhadap asetilkolin, sitokin, histamin, PGE 2, prostaglandin dan mediator antigen yang dihasilkan saat terjadi inflamasi¹⁹.

Didalam kripta liberkuhn sel goblet ditemukan tersebar di antara sel epitel silindris dan kripta liberkuhn. Jumlah sel goblet berkaitan dengan jumlah kripta liberkuhn, diduga karena sel goblet dihasilkan oleh kripta liberkuhn, semakin banyak kripta liberkuhn maka sel goblet juga semakin banyak. Hal ini didukung oleh pernyataan Putra (2021) yang menyatakan bahwa kripta liberkuhn berfungsi sebagai sel induk yang meregenerasi sel epitel dan sel goblet yang telah rusak secara berkesinambungan. Kripta liberkuhn adalah kelenjar tubular berliku-liku dengan lumen yang luas yang terletak di antara amina propria²⁰.

Semua kelompok perlakuan, pemberian kombucha daun sirsak terhadap vili dan kripta justru memberikan efek yang negatif. Hal tersebut mungkin disebabkan karena efek toksik dari

kombucha daun sirsak. Ada beberapa penyebab kombucha daun sirsak bisa menjadi toksik. Salah satunya dalam proses fermentasi yang tidak higienis atau tidak dilakukan dengan benar, kombucha bisa terkontaminasi oleh bakteri patogen dalam pembuatan kombucha daun sirsak. Selain itu, konsumsi kombucha daun sirsak berlebihan dapat menyebabkan terjadinya asidosis metabolik melalui kandungan kombucha yang memiliki Tingkat keasaman (pH) yang rendah. Hal ini dapat menyebabkan aktivitas antioksidannya berubah menjadi prooksidan yang cenderung meningkatkan kerusakan. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Pratiwi, (2017) herbal minyak atsiri dari daun sirsak menunjukkan semakin tinggi pemberian dosisnya justru meningkatkan kerusakan dan menjadi agen prooksidan²¹.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kombucha secara umum memiliki banyak manfaat untuk tubuh, terutama karena kandungan probiotik dan antioksidan dari polifenolnya yang mendukung kesehatan pencernaan dan melawan radikal bebas. Namun, penting untuk diingat bahwa pada dosis yang berlebihan, kombucha justru dapat memicu atau memperburuk inflamasi. Hal ini terjadi karena polifenol dalam konsentrasi sangat tinggi bisa berubah menjadi pro-oksidan, menghasilkan radikal bebas berlebih yang menyebabkan stres oksidatif dan kerusakan sel. Selain itu, dosis berlebihan juga berpotensi mengganggu keseimbangan mikrobiota usus atau menyebabkan iritasi pada saluran pencernaan karena keasamannya yang ekstrem, yang semuanya dapat memicu respons inflamasi. Oleh karena itu, konsumsi kombucha harus dalam jumlah moderat untuk mendapatkan manfaat optimalnya tanpa menimbulkan efek samping yang merugikan meskipun teh herbal telah diusulkan memiliki banyak manfaat kesehatan, masih banyak yang belum diketahui tentang jumlah yang aman untuk dikonsumsi.

KESIMPULAN

Dengan mempertimbangkan penelitian yang sudah dilaksanakan, dapat disimpulkan bahwa

1. Pemberian kombucha daun sirsak (*Annona muricata* Linn) dosis 1,25% selama 28 hari mampu menurunkan jumlah sel goblet ikan zebra yang diinduksi sukrosa 4%.
2. Pemberian kombucha daun sirsak (*Annona muricata* Linn) dosis 1,25%, 2,5%, dan 5% selama 28 hari tidak mampu memperbaiki ukuran vili dan kedalaman kripta intestinal.

Saran

Saran yang dapat diberikan pada pengembangan penelitian ini, yaitu:

1. Menggunakan hewan uji yang lebih besar agar organnya lebih mudah untuk diamati
2. Melakukan penelitian serupa dengan dosis yang lebih rendah dari 1,25%.

Ucapan Terima Kasih

Sehubungan atas perannya sebagai *peer reviewer*, penulis berterimakasih kepada Dr. H. Yudi Purnomo, M.Kes., Apt dan kepada FK UNISMA serta Ikatan Orangtua Mahasiswa (IOM) FK

UNISMA yang sudah memberikan pendanaan riset.

DAFTAR PUSTAKA

1. Antar SA, Ashour NA, Sharaky M, Khattab M, Ashour NA, Zaid RT, et al. Diabetes mellitus: Classification, mediators, and complications; A gate to identify potential targets for the development of new effective treatments. *Biomed Pharmacother* [Internet]. 2023;168:115734. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.115734>
2. Azzaky, Fairus Firdani. Njoto, Ibrahim, Setiawan, Heru, Tjandra L. Hubungan kadar diet sukrosa dengan peningkatan kadar gula darah sebagai faktor risiko diabetes mellitus pada tikus wistar (. 2023;1–16.
3. Iateu CO, Steen A, Covasa M. Gut microbiota and complications of type-2 diabetes. *Nutrients*. 2022;14(1).
4. Brugman S. The zebrafish as a model to study intestinal inflammation. *Dev Comp Immunol*. 2016;64:82–92.
5. Mohideen MPK, Beckwith LG, Tsao-Wu GS, Moore JL, Wong ACC, Chinoy MR, et al. Histology-based screen for zebrafish mutants with abnormal cell differentiation. *Dev Dyn* [Internet]. 2003 Nov 3;228(3):414–23. Available from: <https://anatomypubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/dvdy.10407>
6. Suhardini PN, Zubaidah E. Studi Aktivitas Antioksidan Kombucha dari Berbagai Jenis Daun Selama Fermentasi. *J Pangan dan Agroindustri*. 2015;4(1):221–9.
7. Xu S, Wang Y, Wang J, Geng W. Kombucha Reduces Hyperglycemia in Type 2 Diabetes of Mice by Regulating Gut Microbiota and ItXu, S., Wang, Y., Wang, J., and Geng, W., 2022. Kombucha Reduces Hyperglycemia in Type 2 Diabetes of Mice by Regulating Gut Microbiota and Its Metabolites. *Foods*. 2022;11(5).
8. Barkah, Muhammad Habib, Dini Sri Damayanti RH. Pengaruh Lama Fermentasi Kombucha Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Daya Hambat Pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. *Repos Univ Islam Malang*. 2020;1.
9. Reed B, Jennings M. Guidance on the housing and care of Zebrafish *Danio rerio*. *Research Animals Department, Science Group, RSPCA*. 2011. 1–27 p.
10. Gleeson M, Connaughton V, Arneson LS. Induction of hyperglycaemia in zebrafish (*Danio rerio*) leads to morphological changes in the retina. *Acta Diabetol*. 2007;44(3):157–63.
11. Nabila TS. PENGARUH KADAR SUKROSA DALAM AKUARIUM TERHADAP DERAJAT INFLAMASI DAN LUAS AREA KERUSAKAN VILI INTESTINAL IKAN ZEBRA (*Danio rerio*). *Universitas Islam Malang*; 2024.
12. Roberts S. Targeting Goblet Cell Metaplasia in Chronic Bronchitis: Drug Discovery Strategies to Control Mucus Hypersecretion. 2025;7(4):4–5.
13. Johansson MEV, Phillipson M, Petersson J, Velcich A, Holm L, Hansson GC. The inner of the two Muc2 mucin-dependent mucus layers in colon is devoid of bacteria. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(39):15064–9.
14. Peterson LW, Artis D. Intestinal epithelial cells: Regulators of barrier function and immune homeostasis. *Nat Rev Immunol* [Internet]. 2014;14(3):141–53. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nri3608>
15. Barker N. Adult intestinal stem cells: Critical drivers of epithelial homeostasis and regeneration. *Nat Rev Mol Cell Biol* [Internet]. 2014;15(1):19–33. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrm3721>
16. Cao L, Hou C, Shen Q, Zhang D, Wang Z. Phosphorylation of myosin regulatory light chain affects actomyosin dissociation and myosin degradation. *Int J Food Sci Technol*. 2019;54(6):2246–55.
17. Wiarvela Tuzerina Nuraini A, Rosidah A, Sri Damayanti D. Respon Perubahan Morfologi Villi dan Kripta Ileum terhadap Pemberian Kombucha Daun Sirsak, Bunga Telang dan Kombinasi Keduanya. :1–7.
18. Costa MA de C, Dias Moreira L de P, Duarte V da S, Cardoso RR, São José VPB de, Silva BP da, et al. Kombuchas from Green and Black Tea Modulate the Gut Microbiota and Improve the Intestinal Health of Wistar Rats Fed a High-Fat High-Fructose Diet. *Nutrients*. 2022;14(24).
19. Dzah CS, Zhang H, Gobe V, Asante-Donyinah D, Duan Y. Anti- and pro-oxidant properties of polyphenols and their role in modulating glutathione synthesis, activity and cellular redox potential: Potential synergies for disease management. *Adv Redox Res* [Internet]. 2024 Jun;11:100099. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2667137924000067>
20. Putra IKSS, Suastika P, Susari NNW, Setiasih NLE. Histological Structure and Duodenalhistomorphometry of Adult Female Bali Cattle. *Indones Med Veterinus*. 2021;10(1):82–93.

21. Pratiwi YI, Purwanti S, Damayanti DS. Pengaruh Pemberian secara Subkronik Minyak Atsiri Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn .) terhadap Kadar Low Density Lipoprotein (LDL) dan High Density Lipoprotein (HDL) Serum Tikus Wistar The Subchronic Effect Soursop (*Annona muricata* Linn .) Leaf Ess. J Med Res. 2017;1(1):55–64.