

KOMBUCHA DAUN SIRSAK MEMPERBAIKI KERUSAKAN JARINGAN RETINA IKAN ZEBRA (*Danio rerio*) YANG DIINDUKSI SUKROSA 4%

Atikah Qotrul Himma, Aris Rosidah, Dini Sri Damayanti*
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Induksi sukrosa 4% pada ikan zebra dapat menyebabkan apoptosis sel ganglion dan penurunan ketebalan *Inner Plexiform Layer* (IPL). Daun sirsak adalah herbal dengan kandungan senyawa fenolik yang dapat menurunkan glukosa darah. Kombucha sebagai teh herbal olahan yang mengandung probiotik, asam organik, dan polifenol dapat berefek antihiperglikemia. Namun, belum ada penelitian secara spesifik yang mengevaluasi efek kombucha daun sirsak terhadap kerusakan retina akibat induksi sukrosa sehingga penelitian ini perlu dilakukan.

Metode: Penelitian dilakukan pada ikan zebra dewasa usia 3-4 bulan, yang terbagi dalam 5 kelompok, yaitu kelompok kontrol (KN), induksi sukrosa 4% (KP), induksi sukrosa 4% dengan kombucha daun sirsak 1,25 (KP1), 2,5 (KP2), dan 5% (KP3). Perlakuan berlangsung selama 28 hari, dilanjutkan pembuatan histopatologi retina dengan pewarnaan HE. Apoptosis sel ganglion dihitung dalam persentase terhadap seluruh sel ganglion dan ketebalan IPL diukur vertikal dengan *imageJ* dalam μm . Data dianalisa dengan *One way ANOVA* dan $p < 0,05$ dianggap signifikan.

Hasil: Jumlah apoptosis sel ganglion retina KN, KP, KP1, KP2, KP3 berturut-turut adalah $33,80 \pm 5,54$, $163,20 \pm 37,19$, $66,20 \pm 13,84$, $177,13 \pm 26$, $180,80 \pm 34,04$. Jumlah apoptosis sel ganglion KP meningkat dibandingkan KN ($p=0,001$). Pada KP1 jumlah apoptosis sel ganglion retina menurun dibandingkan KP ($p=0,001$). Ketebalan IPL retina KN, KP, KP1, KP2, KP3 berturut-turut $143,00 \pm 24,19$, $95,00 \pm 6,36$, $124,00 \pm 9,00$, $74,20 \pm 18,67$, $73,00 \pm 6,63$. Ketebalan IPL menurun pada KP dibanding KN dan KP1 ($p=0,001$). KP2 dan KP3 tidak ada beda dengan KP. Hal ini menunjukkan sukrosa 4% menyebabkan kerusakan retina, sementara kombucha daun sirsak diduga dapat memperbaiki kerusakan yang ada melalui penurunan glukosa darah dan perlindungan mikrovaskular.

Kesimpulan: Kombucha daun sirsak menurunkan jumlah apoptosis sel ganglion retina dan mengurangi penurunan ketebalan IPL retina.

Kata Kunci: Ikan zebra, kombucha daun sirsak, sukrosa, retina

*Koresponden : Dini Sri Damayanti dinisridamayanti@unisma.ac.id
Jl. MT Haryono 193 Malang, Jawa Timur Indonesia 65144

SOURSOP LEAF KOMBUCHA REPAIR RETINAL TISSUE DAMAGE IN ZEBRAFISH (*Danio rerio*) INDUCE BY 4% SUCROSE

Atikah Qotrul Himma, Aris Rosidah, Dini Sri Damayanti*
Faculty of Medicine, University of Islam Malang

ABSTRACT

Introduction: Induction of 4% sucrose in zebrafish can lead to ganglion cell apoptosis and a decrease in thickness of Inner Plexiform Layer (IPL). Soursop leaves are herbs known to contain phenolic compounds that help lower blood glucose levels. Kombucha as fermented herbal tea contains probiotics, organic acids, and polyphenols can have antihyperglycemic effects. However, no specific study has evaluated effects of soursop leaf kombucha on retinal damage caused by sucrose induction. Therefore, this research needs to be done.

Method: The study was conducted on adult zebrafish aged 3-4 months, which were divided into 5 groups. The group included control group (KN), 4% sucrose induction (KP), 4% sucrose with soursop leaf kombucha at doses of 1,25 (KP1), 2,5 (KP2), and 5% (KP3). The treatment lasted for 28 days, after which retinal histopathological preparations were performed using HE staining. Ganglion cell apoptosis was quantified as a percentage of total ganglion cells, and thickness of IPL was measured vertically in μm using *imageJ*. Data were analyzed using *One way ANOVA* and $p < 0,05$ considered significant.

Result: The number of apoptotic retinal ganglion cells in KN, KP, KP1, KP2, KP3 were $33,80 \pm 5,54$, $163,20 \pm 37,19$, $66,20 \pm 13,84$, $177,13 \pm 26$, $180,80 \pm 34,04$ respectively. The number of apoptotic ganglion cells in KP increased compared to KN ($p=0,001$). In KP1 number of apoptotic retinal ganglion cells decreased compared to KP ($p=0,001$). Thickness of IPL in KN, KP, KP1, KP2, KP3 were $143,00 \pm 24,19$, $95,00 \pm 6,36$, $124,00 \pm 9,00$, $74,20 \pm 18,67$, $73,00 \pm 6,63$ respectively. IPL thickness decreased in KP compared to KN and KP1 ($p=0,001$). Groups P2 and P3 showed no difference from KP. These result indicate that 4% sucrose induces retinal damage, while soursop leaf kombucha is suspected to repair damage through blood glucose reduction and microvascular protection.

Conclusion: Soursop leaf kombucha reduce ganglion cell apoptosis and attenuates the reduction of IPL thickness.

Keywords: Zebrafish, soursop leaf kombucha, sucrose, retina

*Correspondent: Dini Sri Damayanti dinisridamayanti@unisma.ac.id
Jl. MT Haryono 193 Malang, East Java Indonesia 65144

PENDAHULUAN

Hiperglikemia merupakan kondisi medis di mana kadar glukosa darah puasa >126 mg/dL, sering dikaitkan dengan beberapa penyakit, terutama diabetes melitus.¹ Hiperglikemia dapat dipicu oleh obesitas, kurangnya aktivitas fisik yang akan menghambat pembakaran kalori serta diet tinggi kalori.² Pola makan dengan kandungan sukrosa yang tinggi, dapat membuat hiperglikemia lebih parah dibandingkan glukosa saja karena dapat meningkatkan lipogenesis dan mengganggu sekresi *Glucagon Like Peptide 1* (GLP-1).^{3,4}

Hiperglikemia menyebabkan stres oksidatif dan peradangan kronis yang dapat merusak sel melalui radikal bebas, sitokin proinflamasi, pembentukan *Advanced Glycation End-products* (AGEs), dan peningkatan *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), sehingga dapat menyebabkan komplikasi mikrovaskular di retina.⁵ Pencegahan hiperglikemia selain melalui perubahan gaya hidup juga dapat dibantu melalui konsumsi obat herbal.^{6,7} Daun sirsak adalah tumbuhan herbal yang mengandung fenol, seperti flavonoid dan tanin yang berperan menurunkan glukosa darah.^{8,9} Kombucha merupakan herbal teh olahan dengan kandungan probiotik, asam organik, dan senyawa fenolik.¹⁰

Kombucha bersifat anti-hiperglikemia melalui regulasi mikrobiota intestine, peningkatan sekresi hormon di gastrointestinal, pengurangan inflamasi, serta peningkatan sensitivitas insulin.^{10,11} Dalam kombucha teh daun sirsak bakteri *Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast* (SCOBY) memecah ikatan fenol-glukosa menjadi fenol bebas yang lebih aktif.¹² Kombucha telah menunjukkan efek signifikan menurunkan glukosa darah pada tikus dan manusia setelah 4 minggu perlakuan, menunjukkan potensinya sebagai anti-hiperglikemia.^{11,13}

Ikan zebra digunakan sebagai hewan coba dalam penelitian pathogenesis dan pencegahan hiperglikemia karena perkembangan yang cepat dan kemiripan genetik 70% dengan manusia.¹⁴ Induksi hiperglikemia pada ikan zebra dengan larutan sukrosa hingga 4% selama 28 hari dapat meningkatkan apoptosis sel ganglion retina dan menurunkan ketebalan IPL secara signifikan.¹⁵ Sampai saat ini belum ada penelitian secara spesifik yang mengevaluasi efek kombucha daun sirsak terhadap kerusakan retina akibat induksi sukrosa.

METODE PENELITIAN

Desain, Tempat, dan Waktu Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah laboratorium *true experimental* dengan desain penelitian *post test group control only*, dilaksanakan di Laboratorium Riset Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang dan di Laboratorium Central Riset & Diagnostik Klinik Hewan Satwa Sehat Malang. Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2024 – Februari 2025. Persetujuan etik untuk penelitian ini diberikan oleh Komite Etik Penelitian Kesehatan Rumah Sakit Islam Malang dengan nomor : No.49/KEPK/RSI-U/X/2024.

Pembuatan Kombucha Daun Sirsak

Daun sirsak berupa serbuk simplisia yang digunakan telah dideterminasi di Unit Pelaksana Teknis Balai Materis Medialis dengan nomor determinasi 000.9.3/2962/102.20/2024. Pembuatan kombucha diawali dengan penimbangan serbuk daun sirsak dengan berat 12 gram dimasukkan ke dalam kantong teh. Air dididihkan sebanyak 1000 ml, kemudian kantong teh dimasukkan dan diseduh selama 5 menit. Setelah itu, ditambah gula pasir sebanyak 10% (b/v) ke dalam teh.¹⁶

Teh daun sirsak yang telah diseduh didinginkan dalam jar dengan suhu $\pm 25^{\circ}\text{C}$. *Starter* kombucha berupa air dan nata SCOBY ditambahkan pada seduhan teh sebanyak 5% (v/v), kemudian jar ditutup dengan kain bersih, dikencangkan dengan karet. Jar ditempatkan dalam ruangan yang tidak terkena sinar matahari secara langsung dan dalam suhu ruang ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) selama 5-7 hari. Pengambilan sampel analisa pH dilakukan setelah 5-7 hari dengan mengecek pH sudah mencapai asam 3-5.¹⁷

Aklimatisasi Ikan Zebra (*Danio rerio*)

Ikan zebra (*Danio rerio*) diambil dari indukan lokal Fakultas Perikanan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya dengan nomor determinasi 53/ULMKILP/UA.FPK/10/2024. Aklimatisasi ikan zebra dilakukan dengan kondisi laboratorium yang stabil dalam akuarium berukuran 2L selama 7 hari. Perlakuan penyinaran cahaya terhadap akuarium aklimatisasi selama 12 jam, tanpa penyinaran/gelap 12 jam. Pemberian pakan 3 kali setiap hari, pH air pemeliharaan 6.8 – 7.5, dan suhu akuarium $26-28,5^{\circ}\text{C}$.¹⁸

Pengelompokan Ikan Zebra (*Danio rerio*)

Ikan zebra dibagi dalam 5 kelompok perlakuan seperti pada **Tabel 1** setelah proses

aklimatisasi. Setiap kelompok terdiri dari 5 akuarium ($n=5$). Dalam 1 liter akuarium diisi 6 ekor ikan zebra dewasa untuk menghindari peningkatan *Biological Oxygen Demand* (BOD) dan kehilangan data. Setiap akuarium diisi 12 ekor ikan karena kapasitas akuarium 2 liter, sehingga sampel total sebanyak 300 ekor.¹⁸ Setiap kelompok perlakuan diambil 5 sampel sehingga terdapat 25 sampel untuk dijadikan preparat histologi.

Tabel 1. Kelompok Perlakuan Ikan Zebra (*Danio rerio*)

Kelompok	n	Perlakuan
KN	5	Perlakuan pemeliharaan (makan 3 kali sehari)
KP	5	Induksi sukrosa 4%
KP1	5	Induksi sukrosa 4% + kombucha daun sirsak 1,25%
KP2	5	Induksi sukrosa 4% + kombucha daun sirsak 2,5%
KP3	5	Induksi sukrosa 4% + kombucha daun sirsak 5%

Induksi Sukrosa 4% dan Pemberian Kombucha Daun Sirsak Terhadap Ikan Zebra (*Danio rerio*)

Induksi dilakukan dengan mengisi akuarium 2L ikan zebra dengan air dan larutan sukrosa 4% pada KP. Dosis 1,25% pada KP1 menggunakan 25 ml kombucha daun sirsak yang dilarutkan dalam air akuarium 2L bersama sukrosa 4%, 50 ml untuk dosis 2,5%, dan 100 ml untuk dosis 5%.^{15,19}

Air induksi diganti setiap 2 hari sekali untuk menghindari pertumbuhan mikroorganisme lainnya dengan cara membuang 1,5 liter air dan menggantikan dengan jumlah yang sama. Sehari sebelum pembuatan preparat histopatologi, ikan dipuasakan dengan mengganti air induksi dengan air pemeliharaan. Prosedur euthanasia dilakukan melalui perendaman air es selama 10 menit.^{15,20}

Pembuatan Preparat Histopatologi Retina Ikan Zebra dengan Hematoxylin Eosin

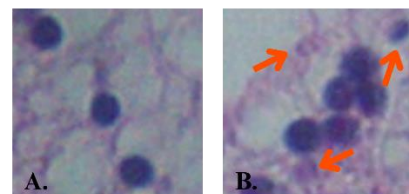
Ikan zebra (*Danio rerio*) diproses untuk pembuatan preparat histopatologi dengan menggunakan seluruh tubuh sebagai sampel preparat setelah pengambilan glukosa darah dari bagian ekor. Setelah pemotongan ikan zebra secara sagital, sampel difiksasi dalam formalin 10% selama 10-12 jam. Dehidrasi

dilakukan dengan alkohol bertingkat 50% selama 1 jam, 70% 1 jam sebanyak 2 kali, dan 95% selama 1 jam, lalu *clearing* dengan xylene 30-60 menit. Jaringan ditanam dalam parafin cair (50-60°C), dicetak, dan didinginkan dalam air dingin.²¹

Blok parafin dipotong dengan mikrotom setebal 4-6 mikron. Potongan jaringan diratakan di atas air hangat ($\pm 45^\circ\text{C}$), lalu ditempatkan pada slide kaca. Setelah direhidrasi melalui alkohol bertingkat menurun, jaringan diwarnai hematoksilin selama 2 menit dan eosin 1 menit. Preparat kemudian diberi resin, ditutup, dan dikeringkan di alat penghangat selama 24 jam.²¹

Pengamatan Apoptosis Sel Retina Ikan Zebra

Pengamatan terhadap apoptosis sel ganglion retina ikan zebra dilakukan dengan menghitung jumlah sel ganglion retina yang mengalami apoptosis pada 5 lapang pandang preparat. Mikroskop yang digunakan yaitu mikroskop trinokuler Olympus bx53 yang terhubung pada komputer. Perhitungan jumlah apoptosis pada preparat dengan perbesaran 400x, perhitungan manual dilakukan oleh 3 orang berbeda dengan metode *blind*. Apoptosis sel ditandai adanya fragmentasi sel warna ungu kehitaman di inti sel, serta kondensasi sitoplasma. Perhitungannya dibuat dalam bentuk persentase.^{15,22}

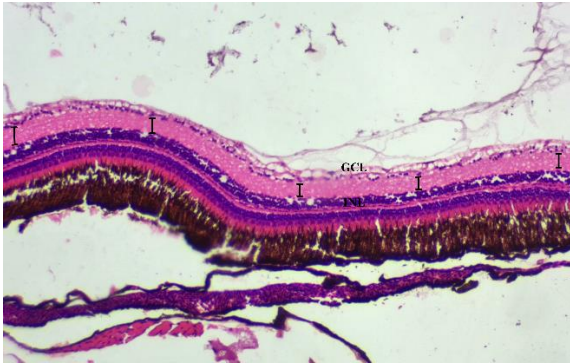


Gambar 1. Sel Ganglion Retina Ikan Zebra (*Danio rerio*)

Keterangan : (A.) Sel ganglion normal (B.) Sel ganglion yang mengalami apoptosis (panah), terdapat fragmentasi sel.

Pengamatan Ketebalan *Inner Plexiform Layer* Retina Ikan Zebra

Pengamatan ukuran ketebalan IPL retina menggunakan mikroskop trinokuler Olympus bx53. Pengukuran ketebalan IPL dalam software *ImageJ* dengan arah vertikal dimulai dari batas bawah *Ganglion Cell Layer* (GCL) sampai batas atas *Inner Neural Layer* (INL). Pengamatan dilakukan pada 5 lapang pandang preparat, oleh 3 orang yang berbeda, dengan pembesaran 400x.^{15,22}



Gambar 2. Pengukuran Ketebalan IPL

Keterangan : Pengukuran ketebalan *Inner Plexiform Layer* (IPL) dilakukan pada 5 area berbeda di retina dan hasil dari kelima titik tersebut dirata-rata. Garis hitam merupakan garis untuk mengukur ketebalan IPL secara vertikal dari batas bawah *Ganglion Cell Layer* (GCL) hingga batas atas *Inner Nuclear Layer* (INL).

Analisa Data

Analisa statistik dilakukan dengan *One-way ANOVA* dan lanjutan *Post Hoc Test* ($p < 0,05$) untuk melihat perbedaan antar kelompok. Analisa menggunakan software *Statistical Package for Social Sciences 27.0*. Hasil data disampaikan dalam rata-rata $\pm$ SD.

HASIL DAN ANALISA DATA

Karakteristik Sampel Populasi

Karakteristik populasi yang digunakan dalam penelitian terdapat pada **Tabel 2**.

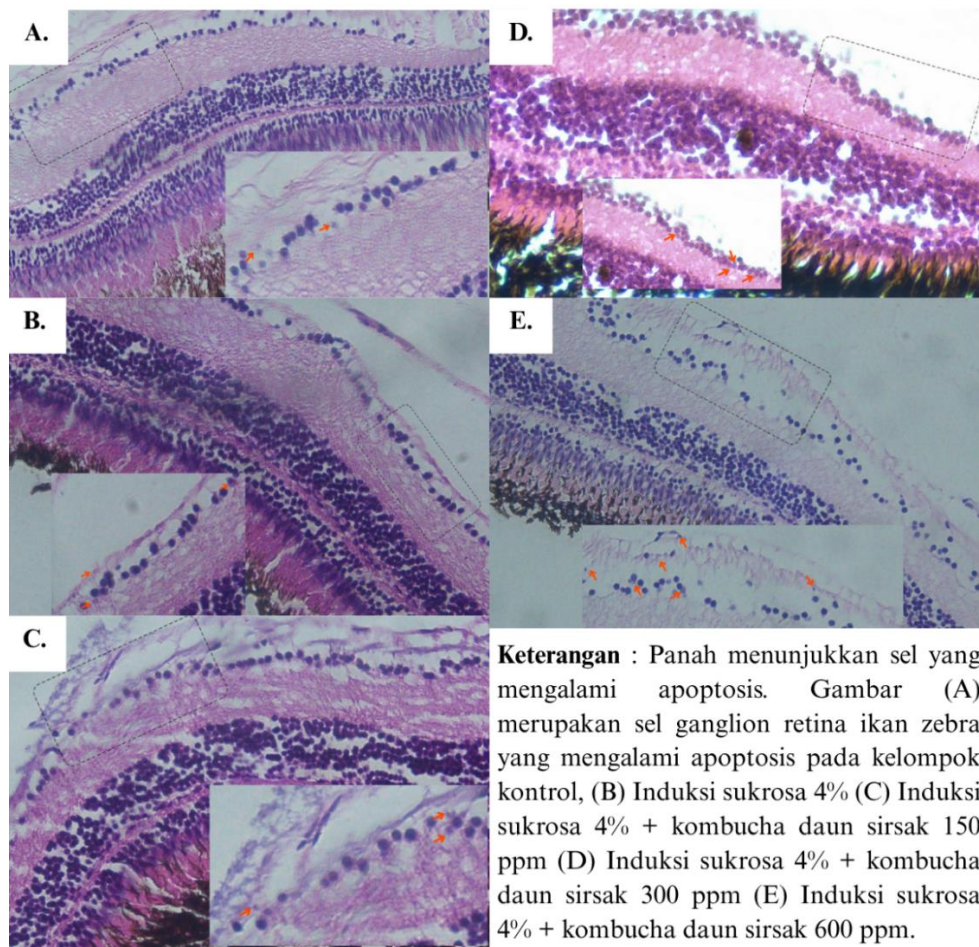
Tabel 2. Karakteristik Populasi

Kel.	Usia	n	Jenis Kelamin	Glukosa Darah (mg/dL)*
KN	3-4 bulan	5	Jantan	62,33 $\pm$ 13,20
KP	3-4 bulan	5	Jantan	103,33 $\pm$ 23,25
KP1	3-4 bulan	5	Jantan	79,20 $\pm$ 20,79
KP2	3-4 bulan	5	Jantan	73,60 $\pm$ 34,85
KP3	3-4 bulan	5	Jantan	70,00 $\pm$ 26,56

Keterangan : Data dalam *mean* $\pm$ SD. Kel. = Kelompok. *Data kadar glukosa darah merupakan hasil penelitian Anwar, A.T. et al. (2025), yang telah diberikan izin untuk keperluan studi ini.

Persentase Apoptosis Sel Ganglion Ikan Zebra (*Danio rerio*)

Berdasarkan pengukuran jumlah apoptosis sel ganglion didapatkan data seperti pada **Gambar 3** dan **Tabel 3**.



Keterangan : Panah menunjukkan sel yang mengalami apoptosis. Gambar (A) merupakan sel ganglion retina ikan zebra yang mengalami apoptosis pada kelompok kontrol, (B) Induksi sukrosa 4% (C) Induksi sukrosa 4% + kombucha daun sirsak 150 ppm (D) Induksi sukrosa 4% + kombucha daun sirsak 300 ppm (E) Induksi sukrosa 4% + kombucha daun sirsak 600 ppm.

Gambar 3. Histopatologi Sel Ganglion Retina Ikan Zebra (*Danio rerio*) (HE, 400x)

Tabel 3. Jumlah Apoptosis Sel Ganglion Retina Ikan Zebra (*Danio rerio*)

Kel.	n	Ketebalan IPL	Signifikansi (ANOVA)
KN	5	143 ± 24,1	p<0,001
KP	5	95 ± 6,4 ^a	
KP1	5	124 ± 9 ^b	
KP2	5	74,2 ± 18,7 ^{a,c}	
KP3	5	73 ± 6,6 ^{a,c}	

Keterangan : Data dalam *mean* ± SD. Kel. = Kelompok. ANOVA = *Analysis of Variance*.

Persentase apoptosis sel ganglion berturut-turut pada KP, KP1, KP2, KP3 adalah 56%, 20%, 57%, dan 60%. Kelompok yang diinduksi sukrosa 4% (KP) jumlah apoptosis sel ganglion retinanya meningkat hingga 56% ($p=0,001$) dibanding kelompok normal (KN). Terdapat penurunan jumlah apoptosis sel ganglion retina akibat pemberian kombucha daun sirsak sebesar 20% pada dosis 1,25% (KP1) dibandingkan KP ($p=0,001$). Pada KP2 dan KP3 didapatkan jumlah apoptosis sel ganglion semakin banyak, tidak berbeda signifikan dengan kelompok yang diinduksi sukrosa 4%.

Ketebalan IPL Retina Ikan Zebra (*Danio rerio*)

Berdasarkan pengukuran ketebalan IPL retina ikan zebra (*Danio rerio*) dari 5 kelompok

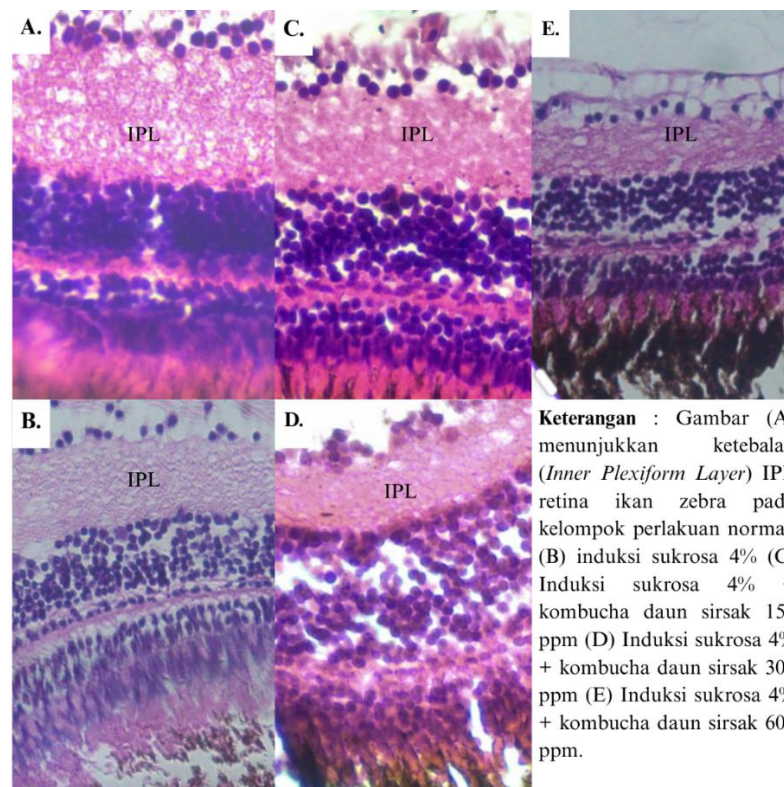
perlakuan didapatkan data pada **Gambar 4** dan **Tabel 4**.

Tabel 4. Hasil Analisa Ketebalan IPL Retina Ikan Zebra (*Danio rerio*)

Kel.	n	Apoptosis Sel Ganglion Retina	Signifikansi (ANOVA)
KN	5	33,8 ± 5,4	p<0,001
KP	5	163,2 ± 37,2 ^a	
KP1	5	66,2 ± 13,8 ^b	
KP2	5	177,1 ± 26,6 ^{a,c}	
KP3	5	180,8 ± 34 ^{a,c}	

Keterangan : Data dalam *mean* ± SD. Kel. = Kelompok. IPL = *Inner Plexiform Layer*. ANOVA = *Analysis of Variance*.

Jumlah rata-rata ketebalan IPL retina berturut-turut pada KP, KP1, KP2, KP3 adalah 48%, 19%, 68,8% dan 70%. Terdapat penurunan ketebalan pada KP sebesar 48% ($p=0,001$) dibanding KN. Pemberian kombucha daun sirsak dapat memperbaiki IPL retina, pada KP1 penurunan ketebalan IPL sebesar 19%, sedangkan pada kelompok yang diinduksi sukrosa 4% penurunan ketebalannya lebih besar. IPL ada KP2 & KP3 menjadi semakin tipis dan tidak terdapat beda signifikan dengan KP.



Keterangan : Gambar (A) menunjukkan ketebalan (*Inner Plexiform Layer*) IPL retina ikan zebra pada kelompok perlakuan normal, (B) induksi sukrosa 4% (C) Induksi sukrosa 4% + kombucha daun sirsak 150 ppm (D) Induksi sukrosa 4% + kombucha daun sirsak 300 ppm (E) Induksi sukrosa 4% + kombucha daun sirsak 600 ppm.

Gambar 4. Histopatologi IPL Retina Ikan Zebra (*Danio rerio*) (HE,400x)

PEMBAHASAN

Efek Karakteristik Populasi Terhadap Hasil

Ikan zebra (*Danio rerio*) yang digunakan pada penelitian ini adalah ikan zebra jenis kelamin jantan, usia 3-4 bulan, fase dewasa, dengan panjang antara 1-3 cm dan berat 0,4-1 gram. Pemilihan ikan zebra dewasa karena pada fase ini ikan telah memiliki sistem organ lengkap, termasuk retina yang sudah berkembang sempurna dan stabil secara fisiologis, sehingga perubahan atau kerusakan jaringan retina dapat diamati secara lebih jelas dan akurat.²³ Ikan jantan dipilih untuk menghindari pengaruh hormone estrogen, khususnya estradiol-17 β yang memiliki aktivitas antioksidan dan dapat memberikan efek protektif terhadap ROS akibat paparan sukrosa.^{24,25}

Induksi sukrosa 4% dilakukan selama 28 hari untuk menimbulkan efek hiperglikemia yang terjadi secara subakut. Pemberian kombucha diberikan bersamaan dengan induksi sukrosa untuk mengetahui efek pencegahan terjadinya hiperglikemia dan komplikasi terhadap retina ikan zebra. Penentuan dosis kombucha daun sirih didasarkan pada hasil uji toksisitas sebelumnya, dimana didapatkan LC₅₀=58.118 ppm, sehingga digunakan 1/4, 1/2, dan dosis LC₅₀.

Pada penelitian (Anwar, A.T. et al. 2025 ongoing) didapatkan induksi sukrosa 4% terhadap ikan zebra menyebabkan peningkatan kadar glukosa darah dibanding kadar normal. Rata-rata kadar glukosa darah pada ikan zebra tanpa induksi sukrosa 4% adalah 62,33 mg/dl, sedangkan pada kelompok yang diinduksi sukrosa yaitu 109,33 mg/dl.²⁶

Efek Induksi Sukrosa 4% Pada Jumlah Apoptosis Sel Ganglion & Ketebalan IPL Retina

Induksi sukrosa 4% pada KP menyebabkan peningkatan jumlah apoptosis sel ganglion retina sebanyak 56% dan penurunan ketebalan IPL 48%. Penelitian lain juga membuktikan induksi sukrosa 4% selama 28 hari pada ikan zebra merupakan dosis terbaik untuk mengakibatkan peningkatan apoptosis sel ganglion hingga mencapai 65% dan penurunan ketebalan IPL 59%.¹⁵ Hal ini disebabkan adanya peningkatan kadar glukosa darah yang signifikan pada ikan zebra yang diinduksi sukrosa 4%. Sukrosa dipecah oleh enzim sukrase di intestine ikan zebra menghasilkan glukosa dan fruktosa sehingga meningkatkan kadar glukosa dan fruktosa dalam darah.²⁷

Kondisi hiperglikemia terjadi karena adanya peningkatan kadar glukosa dalam darah.²⁸ Hiperglikemia memicu stres oksidatif melalui peningkatan superoksida mitokondria, yang mengaktifkan jalur AGE, poliol, dan Protein Kinase C. Stres oksidatif menyebabkan penebalan membrane basal, apoptosis pericyte, dan kerusakan *Blood Retina Barrier* (BRB). Akibatnya terjadi sumbatan kapiler, leukositosis, dan kebocoran vaskular. Hilangnya pericyte dan kerusakan endotel memicu iskemia, mengaktifkan *Hypoxia Inducible Factor 1* (HIF-1), dan meningkatkan *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) yang mendorong neovaskularisasi. Neurodegenerasi terjadi karena penurunan faktor neurotropik dan pembuluh darah baru yang rapuh.^{29,30}

Akumulasi *Reactive Oxygen Species* (ROS) berlebih dalam sel ganglion retina menyebabkan stres oksidatif yang merusak protein seluler dan DNA mitokondria, sehingga dapat memicu aktivasi jalur apoptosis intrinsik. Mitokondria yang rusak akibat stres oksidatif menyebabkan terjadinya pelepasan sitokrom c ke dalam sitoplasma, kemudian membentuk apoptosom kompleks bersama Apaf-1 dan prokaspase-9. Aktivasi kompleks ini mengaktifkan kaspase-3 sebagai eksekutor apoptosis, mengarah pada fragmentasi DNA dan degradasi protein seluler, sampai kematian sel ganglion retina.³¹ Penelitian klinis dan eksperimental mengungkapkan perubahan neurodegeneratif, seperti hilangnya sel ganglion yang berperan sebagai tahap awal dari perkembangan penyakit diabetik retinopati. Kematian sel ganglion retina akan berdampak pada gangguan fungsi penglihatan.^{32,33}

Apoptosis sel ganglion di GCL mengurangi jumlah akson dan sinapsis di IPL, menyebabkan penurunan densitas dan ketebalan lapisan ini. Mekanisme ini diperburuk oleh gangguan mikrovaskular akibat hiperglikemia, yang memicu peningkatan VEGF, stres oksidatif, inflamasi, serta gangguan transport aksonal akibat disfungsi mitokondria dan defisiensi *brain-derived neurotrophic factor* (BDNF), sehingga mempercepat degenerasi dan disrupsi struktur IPL.³⁴

Efek Kombucha Daun Sirih terhadap Apoptosis Sel Ganglion & Ketebalan IPL Retina

Terdapat penurunan jumlah apoptosis sel ganglion retina akibat pemberian kombucha daun sirih pada KP1 sebanyak 60% dari KP. Pada IPL KP1 lebih tebal 30% dari KP. Hal ini disebabkan karena senyawa aktif dalam

kombucha daun sirsak mampu menurunkan kadar glukosa darah, sehingga mengurangi perburukan komplikasi mikrovaskular. Kombucha daun sirsak mampu menurunkan kadar glukosa darah dan memiliki aktivitas anti-hiperglikemia. Senyawa aktif yang berperan menurunkan glukosa darah, yaitu asam organik dan polifenol.^{8,9}

Flavonoid merupakan bagian dari polifenol yang berperan sebagai antioksidan. Flavonoid dapat bereaksi langsung dengan radikal bebas seperti ROS, mengubahnya menjadi bentuk yang kurang reaktif melalui transfer elektron atau atom hidrogen. Flavonoid juga menghambat aktivitas enzim seperti *nitric oxide synthase* (NOS) dan *xanthine oxidase*, yang memproduksi ROS berlebih. Peran flavonoid sebagai antiinflamasi salah satunya adalah inhibisi *Nuclear Factor Kappa B* (NF- κ B), faktor transkripsi utama untuk mengatur ekspresi gen pro-inflamasi seperti TNF- α , IL-1 β , dan IL-6. Flavonoid menghambat aktivasi NF- κ B dengan mencegah degradasi *inhibitor* NF- κ B (I κ B), sehingga mengurangi ekspresi sitokin pro-inflamasi.³⁵

Asam asetat dalam kombucha dapat mengaktifkan jalur *Adenosine Monophosphate-activated Protein Kinase*, (AMPK), yang menghambat produksi glukosa di hepar dan meningkatkan pengambilan glukosa oleh jaringan, sehingga menurunkan kadar glukosa darah dan meningkatkan sensitivitas insulin. Asam laktat juga membantu menurunkan sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan IL-6 yang terkait dengan disfungsi insulin. Asam laktat dalam kombucha daun sirsak meningkatkan fungsi reseptor insulin dengan mengurangi peradangan, sementara asam glukonat mendukung pertumbuhan probiotik penghasil metabolit yang memperkuat sel β -pankreas dan meningkatkan sensitivitas insulin.^{36,37}

Pada KP2 & KP3 jumlah apoptosis sel ganglion semakin banyak dan IPL menjadi semakin tipis. Hal ini diduga disebabkan karena semakin tinggi dosis menyebabkan semakin tingginya kadar senyawa fenol dalam kombucha. Berdasarkan Dzah et al. 2024 polifenol dalam dosis tinggi dapat menyebabkan peningkatan apoptosis sel melalui mekanisme pro-oksidan. Polifenol mengalami auto-oksidasi dan menghasilkan radikal bebas. Akumulasi ROS ini menimbulkan stres oksidatif yang dapat merusak DNA, protein, dan membran sel sehingga akan mengaktifkan jalur apoptosis

mitokondria melalui *cytochrom c* dan aktivasi *caspase*.³⁸

Hasil penelitian yang menunjukkan perbaikan kondisi kerusakan jaringan retina ikan zebra (*Danio rerio*) yang diinduksi sukrosa 4% akibat pemberian kombucha daun sirsak konsisten dengan penelitian Xu, S et al. 2022 sebelumnya pada hewan coba tikus yang dilakukan selama 4 minggu, bahwa kombucha bekerja sebagai anti hiperglikemia dengan dosis 11,1 ml/kg.¹¹ Hal tersebut juga sesuai dengan penelitian Sovia, E. et al. 2017 yang dilakukan selama 28 hari pada tikus, kandungan flavonoid dan tanin dalam daun sirsak mampu menurunkan kadar glukosa darah, dosis efektifnya 50 & 200 mg/kgBB.

SIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diambil berdasarkan hasil analisa data dan pembahasan sebagai berikut :

1. Model hewan coba dan terapi herbal alternatif dihasilkan terhadap retinopati.
2. Pemberian kombucha daun sirsak dosis 1,25% pada ikan zebra yang diinduksi sukrosa selama 28 hari adalah dosis terbaik untuk mengurangi jumlah apoptosis sel ganglion dan mengurangi penurunan ketebalan IPL retina ikan zebra (*Danio rerio*).
3. Dosis 2,5% dan 5% kombucha daun sirsak merupakan dosis toksik. Jumlah apoptosis sel ganglion retina semakin meningkat dan IPL semakin tipis pada dosis ini.

SARAN

Terdapat beberapa saran untuk pengembangan penelitian ini :

1. Dosis maksimal yang digunakan adalah 1,25% untuk menemukan dosis optimal dan tidak toksik terhadap kerusakan retina.
2. Pengukuran panjang badan ikan setelah penelitian sebaiknya dilakukan untuk memantau kondisi kesehatan dan kemungkinan efek samping perlakuan.
3. Sisa dari sampel total ikan zebra sebaiknya diparafinkan sebagai cadangan untukantisipasi data nilai simpangan baku yang tinggi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang dan Ikatan Orangtua Mahasiswa (IOM) yang telah memberi dukungan pendanaan

penelitian dan dr. Rahma Triliana, M.Kes, Ph.D sebagai *peer reviewer*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Roden, M. and Shulman, G. I. (2019). The integrative biology of type 2 diabetes, *Nature*, 576(7785), pp. 51–60.
2. Lee, P.G. and Halter, J.B. (2017). The pathophysiology of hyperglycemia in older adults: clinical considerations, *Diabetes Care*, 40(4), pp. 444–452.
3. Sakamoto, E. Seino, Y. Fukami, A. et al. (2012). Ingestion of a moderate high-sucrose diet results in glucose intolerance with reduced liver glucokinase activity and impaired glucagon-like peptide-1 secretion, *Journal of Diabetes Investigation*, 3(5), pp. 432–440.
4. Wahyudiati, D. (2017). Biokimia. Bab 4 : Karbohidrat. Halaman 105-142. Mataram: LEPPIM.
5. Yang, C., Yu, Y. and An, J. (2024) Effect of High-Sucrose Diet on the Occurrence and Progression of Diabetic Retinopathy and Dietary Modification Strategies, *Nutrients*, 16(9), pp. 1–20.
6. Grenvilco DO, Kumontoy, and Djefry D, T. M. (2023). Pemanfaatan Tanaman Herbal Sebagai Obat Tradisional Untuk Kesehatan Masyarakat Di Desa Guaan Kecamatan Mooat Kabupaten Bolaang Mongondow Timur. Vol. 16 No. 3, 16(3), pp. 1–20.
7. Kooti, W. Farokhipour, M. Asadzadeh, Z. et al. (2016). The role of medicinal plants in the treatment of diabetes: a systematic review, *Electronic physician*, 8(1), pp. 1832–1842.
8. Ningsih, S. K. W. (2016). Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak sebagai Antibakteri, 8(9), pp. 1149–1151.
9. Sovia, E. Ratwita, D. Novianty, R. (2017). Hypoglycemic and Hypolipidemic Effects of *Annona Muricata* L. Leaf Ethanol Extract, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 9(3), p. 170.
10. Hrnjez, D. Vastag, S. Milanovic, S. et al. (2014). The biological activity of fermented dairy products obtained by kombucha and conventional starter cultures during storage, *Journal of Functional Foods*, pp. 336–345.
11. Xu, S. Wang, Y. Wang, J. et al. (2022). Kombucha Reduces Hyperglycemia in Type 2 Diabetes of Mice by Regulating Gut Microbiota and Its Metabolites. *Foods*, 11(5).
12. Lin, D. Xiao, M. Zhao, J. et al. (2016). An Overview of Plant Phenolic Compounds and Their Importance in Human Nutrition and Management of Type 2 Diabetes, *Molecules*, 21(10).
13. Mendelson, C. Sparkes, S. Merenstein, DJ. et al. (2023). Kombucha tea as an anti-hyperglycemic agent in humans with diabetes – a randomized controlled pilot investigation, *Frontiers in Nutrition*, pp. 1–10.
14. Choi, T. Y. Choi, Y. Lee et al. (2021). Zebrafish as An Animal Model for Biomedical Research, *Experimental and Molecular Medicine*, 53(3), pp. 310–317.
15. Fauziah, N., Damayanti, D. S., & Dewi, A. R. (2024). Induksi Sukrosa 4% Menyebabkan Kerusakan Jaringan Retina Ikan Zebra Dewasa (*Danio rerio*). *Repository University of Islam Malang*.
16. Villarreal-soto, S. A. Beaufort, S. Bouajila, J. et al. (2018). Understanding Kombucha Tea Fermentation : A Review, 83(3).
17. Barkah, Muhammad Habib, Dini Sri Damayanti, R. H. (2020). Pengaruh Lama Fermentasi Kombucha Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Daya Hambat Pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, *Repository University of Islam Malang*, p. 1.
18. Avdesh, A. Chen, M. Martin-Iverson, M.T. et al. (2012). Regular care and maintenance of a Zebrafish (*Danio rerio*) laboratory: An introduction, *Journal of Visualized Experiments*, (69).
19. Narko, T. Wibowo, S. Damayanti, S. et al. (2020). Acute Toxicity Tests of Fermented Robusta Green Coffee Using Zebrafish Embryos (*Danio rerio*), *Pharmacognosy Journal*, 12(3), pp. 485–492.
20. Dorsemans, A. C. Lefebvre d'Hellencourt, C. Ait-Arsa, I. et al. (2017). 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(124), pp. 4–11.
21. Paul, M. (2017). Histological Slide Preparation of Fish Tissues (Paraffin Method), *Method*.
22. Gleeson, M., Connaughton, V. and Arneson, L. S. (2007). Induction of Hyperglycaemia in Zebrafish (*Danio rerio*)

- Leads to Morphological Changes in The Retina, *Acta Diabetologica*, 44(3), pp. 157–163.
23. Norton, W. and Bally-Cuif, L., 2010. Adult Zebrafish as A Model Organism for Behavioural Genetics. *BMC Neuroscience*, 11, p.90.
 24. LJ, Fontes JG, Santos GRCD, Padilha MC and Opazo R (2022). Reproductive cycle of the female *Anisotremus scapularis* (Tschudi, 1846) on the marine coast of Callao, basic knowledge to go towards its aquaculture. *Front. Mar. Sci.* 9:1033718.
 25. Mancini, A., Raimondo, S., Persano, M., Di Segni, C., Cammarano, M., Gadotti, G., Silvestrini, A., Pontecorvi, A. & Meucci, E. (2013). Estrogens as Antioxidant Modulators in Human Fertility, *International Journal of Endocrinology*, vol. 2013, Article ID 607939.
 26. Anwar, A. T. Damayanti, D. S. Rosidah, A. (2025). Pengaruh Pemberian Kombucha Daun Sirsak terhadap Kerusakan Pankreas Ikan Zebra (*Danio rerio*) yang Diinduksi Sukrosa 4%. Unpublished.
 27. Hidayah, N., Khatib, A. and Fairuz (2018). Development of Induced Diabetic Model Using Zebrafish, *The 2nd Green Development International Conference (GDIC)*.
 28. Mitchell, S. B. Hung, Y. Thorn, T. et al. (2023). Sucrose Induced Hyperglycemia Dysregulates Intestinal Zinc Metabolism and Integrity: Risk Factors for Chronic Diseases, *Frontiers in Nutrition*, pp. 1–16.
 29. Lechner, J., Leary, O. E. O. and Stitt, A. W. (2017). The Pathology Associated with Diabetic Retinopathy, *Vision Research*, 139, pp. 7–14.
 30. Wang, W. and Lo, A. C. Y. (2018). Diabetic retinopathy: Pathophysiology and treatments, *International Journal of Molecular Sciences*, 19(6).
 31. Mrugacz, M., Bryl, A. and Bossowski, A., (2016). Neuroretinal Apoptosis as A Vascular Dysfunction in Diabetic Patients. *Current Neuropharmacology*, 14, pp.826–830.
 32. Kim, J., Kim, C.S., Lee, Y.M., Sohn, E., Jo, K. and Kim, J.S., (2015). *Litsea Japonica* Extract Inhibits Neuronal Apoptosis and The Accumulation of Advanced Glycation End Products in The Diabetic Mouse Retina. *Molecular Medicine Reports*, 12(1), pp.1075–1081
 33. Lim, H.B., Shin, Y.I., Lee, M.W., Koo, H., Lee, W.H. and Kim, J.Y., (2020). Ganglion Cell– Inner Plexiform Layer Damage in Diabetic Patients: 3 Year Prospective, Longitudinal, Observational Study. *Scientific reports*, 10(1), p.1470.
 34. Nesper PL, Roberts PK, Onishi AC, et al. (2017). Quantifying Microvascular Abnormalities with Increasing Severity of Diabetic Retinopathy Using Optical Coherence Tomography Angiography. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 58:BIO307–BIO315.
 35. Ullah A, Munir S, Badshah SL. et al. (2020). Important Flavonoids and Their Role as a Therapeutic Agent. *Molecules.* 25(22):5243.
 36. Li, X. Chen, H. Guan, Y. et al. (2013). Acetic Acid Activates the AMP-Activated Protein Kinase Signaling Pathway to Regulate Lipid Metabolism in Bovine Hepatocytes. *PLoS ONE.* 8(7): e67880.
 37. Al-Mohammadi, A.-R.; Ismaiel, A.A.; Ibrahim, R.A.; Moustafa, A.H.; Abou Zeid, A.; Enan, G. (2021). Chemical Constitution and Antimicrobial Activity of Kombucha Fermented Beverage. *Molecules.* 26, 5026.
 38. Dzah, C.S. Zhang. H. Gobe. V. et al. (2024). Modulating Glutathione Synthesis, Activity and Cellular Redox Potential: Potential Synergies for Disease Management, *Advances in Redox Research*, 11, p. 100099.