

## BAB 2

## TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Zebrafish (*Danio rerio*)

Taksonomi menurut ITIS (Interagency Taxonomic Information System)

(2015) :

Kingdom : Animalia – Animal, animaux, animals

Subkingdom : Bilateria

Infrakingdom : Deuterostomia

Phylum : Chordata – cordés, cordado, chordates

Subphylum : Vertebrata – vertebrado, vertébrés, vertebrates

Infraphylum : Gnathostomata

Superclass : Osteichthyes – bony fishes, poissonsosseux, osteíceto, peixeósseo

Class : Actinopterygii – ray-finned fishes, spiny rayed fishes, poissonépineux

Subclass : Neopterygii – neopterygians

Infraclass : Teleostei

Superorder : Ostariophysi

Order : Cypriniformes – cyprins, meuniers, minnows, suckers

Superfamily : Cyprinoidea

Family : Cyprinidae – carps, minnows, carpas y carpitas, carpes et ménés

Species : *Danio rerio* – zebra danio

Zebrafish (*Danio rerio*) atau yang sebelumnya dikenal dengan nama *Brachydanio rerio* adalah salah satu dari 45 spesies *Danio* yang ada di dunia (Fang, 2003). Zebrafish biasanya ditemukan pada air yang mengalir lambat, seperti kolam renang, danau, selokan, atau sawah (Vargesson, 2007). Saat ini, banyak penelitian yang menggunakan zebrafish terutama dalam bidang biologi molekuler, biologi perkembangan, neurobiologi, dan perkembangan genetika. Selain itu, penelitian tentang kanker, fisiologi sistem saraf, dan penemuan obat juga sudah menggunakan ikan zebra. Satu hal yang menjadi pertimbangan penggunaan ikan ini adalah rendahnya biaya perawatan zebrafish yaitu sekitar 1/1000 kali dibanding tikus (Goldsmith and Solari, 2003).

### 2.1.1 Penampilan

Ikan ini dinamakan zebrafish karena memiliki garis di sepanjang sisi tubuhnya. Garis yang berwarna biru-kehitaman mengandung pigmen melanofor dan iridiofor, sedangkan garis yang berwarna perak-kekuningan mengandung pigmen xanthofor dan iridofor (Schilling, 2002). Proses pigmentasi dimulai dalam 24 jam post-fertilisasi, dengan mengadaptasi warna lingkungan sekitar. Jika zebrafish memiliki kecacatan visual maka warnanya akan lebih gelap dari jenis *wild-type* (Goldsmith and Solari, 2003). Dari penampilannya, zebrafish jantan dan betina juga dapat dibedakan. Zebrafish dewasa betina yang sedang bereproduksi memiliki perut yang lebih gendut karena berisi telur dalam ovariumnya. Sedangkan zebrafish jantan umumnya memiliki perut yang lebih langsing dan warna yang lebih gelap/pekat dari betina, serta lebih banyak warna kuning pada sirip analnya (Schilling, 2002).

### 2.1.2 Aktivitas

Zebrafish menunjukkan siklus sirkadian yang mirip dengan pada mamalia yaitu aktivitas pada siang hari dan istirahat pada malam hari (Zhdanova, 2005).

### 2.1.3 Masa Hidup

Di laboratorium, zebrafish dapat hidup maksimal hingga 5,5 tahun, namun rata-rata hanya bertahan sampai 3,5 tahun (Gerhard *et al.*, 2002). Sedangkan di alam bebas, zebrafish hanya dapat bertahan hidup kurang dari 1-2 tahun yang dicurigai disebabkan oleh adanya predator dan parasit (Spence, 2007).

### 2.1.4 Makanan

Zebrafish adalah omnivora. Makanannya terutama terdiri dari zooplankton dan serangga, meskipun fitoplankton, lumut dan bahan tanaman vaskular, spora dan telur invertebrata, sisik ikan, arakhnida, detritus, pasir dan lumpur juga ditemukan dari hasil analisis isi usus (Spence *et al.*, 2008).

### 2.1.5 Perkembangan

Fleming (2007) mengkategorisasikan siklus hidup zebrafish dalam beberapa tahapan (tabel 2.1).

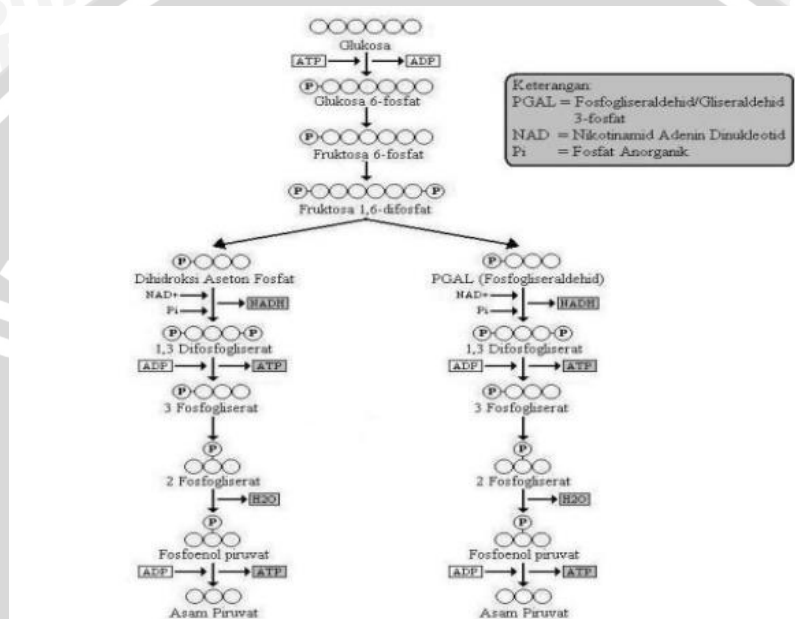
**Tabel 2.1 Tahap Perkembangan Zebrafish (Fleming, 2007)**

Embrio	0-72 jam setelah terfertilisasi
Larva awal	72 jam s/d 13 hari setelah terfertilisasi
Larva medium	14 hari s/d 29 hari setelah terfertilisasi
Juvenile	30 hari s/d 4 bulan setelah terfertilisasi
Dewasa	Ketika matang secara seksual

## 2.2 Glukosa Darah

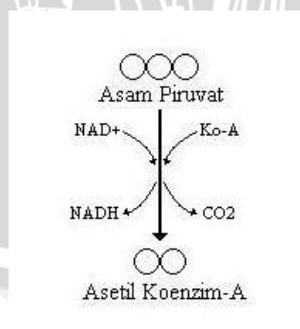
Secara umum, proses katabolisme glukosa dalam tubuh terdiri dari beberapa proses sebagai berikut :

### a. Glikolisis



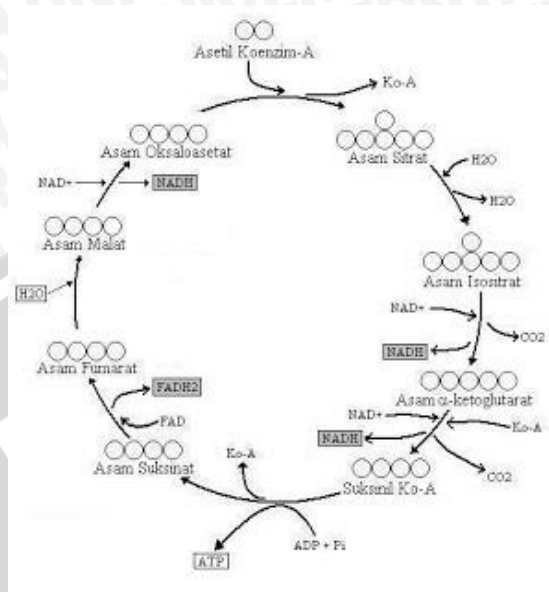
Gambar 2.1 Proses Glikolisis (Guyton, 2014)

### b. Dekarboksilasi Oksidatif



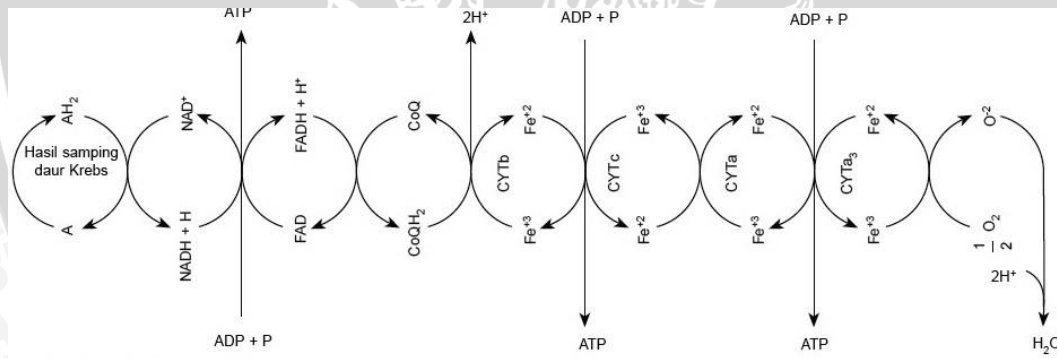
Gambar 2.2 Proses Dekarboksilasi Oksidatif (Guyton, 2014)

c. Siklus Asam Sitrat



Gambar 2.3 Siklus Asam Sitrat (Guyton, 2014)

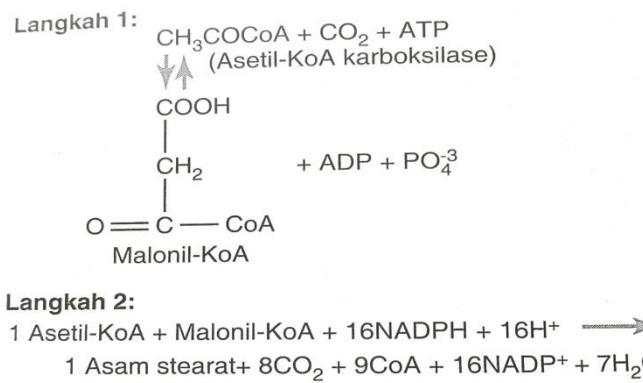
d. Transpor Elektron



Gambar 2.4 Proses Transpor Elektron (Guyton, 2014)

Glukosa merupakan sumber energi utama bagi sel-sel tubuh. Glukosa ditransport dari usus atau liver menuju sel-sel tubuh via aliran darah, dan dapat masuk ke dalam sel melalui hormon insulin yang diproduksi oleh pankreas. Bila glukosa tidak segera dibutuhkan untuk energi, glukosa ekstra yang masuk secara kontinu ke dalam sel akan disimpan sebagai glikogen atau diubah menjadi lemak. Umumnya glukosa tersebut disimpan sebagai glikogen. Namun, bila sel

penyimpanan glikogen (terutama sel hati dan otot) sudah mendekati saturasi glikogen, maka glukosa tambahan akan diubah menjadi lemak di sel hati dan disimpan sebagai lemak di sel lemak (Guyton, 2014), melalui mekanisme :



**Gambar 2.5 Proses Sintesis Asam Lemak (Guyton, 2014)**

Kadar glukosa darah terendah adalah pada pagi hari sebelum sarapan (*fasting level*) dan meningkat satu atau dua jam setelah makan. Kadar glukosa darah yang terus-menerus tinggi disebut sebagai hiperglikemia, yang merupakan salah satu karakteristik dari penyakit Diabetes Mellitus (Walker and Type, 2006). Peningkatan kadar glukosa darah dapat terjadi karena disfungsi pulau  $\beta$  pankreas dan resistensi insulin perifer (Giugliano *et al.*, 2008). Insulin sendiri berperan dalam metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein. Insulin bekerja menurunkan kadar gula darah melalui mekanisme (Sherwood, 2010) :

1. memfasilitasi transpor glukosa ke dalam hampir seluruh sel.
2. menstimulasi glikogenesis pada otot rangka dan liver.
3. menghambat glikogenolisis sehingga meningkatkan penyimpanan glukosa dan menurunkan pengeluaran glukosa oleh liver.
4. menurunkan pengeluaran glukosa hepatic dengan menghambat glukoneogenesis, dengan cara menurunkan jumlah asam amino dalam darah

yang tersedia untuk glukoneogenesis, dan menghambat enzim hepatic yang diperlukan untuk megubah asam amino menjadi glukosa.

*Overfed zebrafish* menunjukkan peningkatan yang signifikan dari kadar glukosa darahnya, dibandingkan dengan ikan yang diberi makan secara normal. Pengukuran glukosa darah dilakukan dengan cara mengambil sample darah dari dorsal aorta, lalu maletakkannya pada strip untuk diukur di *handheld glucometer* (Zang *et al.*, 2013).

### 2.3 Antosianin

Antosianin (anthos=bunga, kyanos=biru) merupakan unsur flavonoid terbanyak yang ada pada sayuran dan buah berwarna merah, dan seringkali digunakan sebagai pewarna alami yang larut dalam air (Pazmino-Duran *et al.*, 2001). Contoh tanaman yang mengandung antosianin yaitu anggur, strawberri, cherri, ubi jalar, kol merah dan bayam merah (Samber *et al.*, 2013). Secara kimia antosianin merupakan turunan struktur aromatik tunggal yaitu sianidin, dengan penambahan atau pengurangan gugus hidroksil, metilasi, dan glikosilasi (Harborne, 2005). Antosianin merupakan sub-tipe senyawa organik dari keluarga flavonoid, dan merupakan anggota kelompok senyawa yang lebih besar yaitu polifenol (Karnjanawipagul *et al.*, 2010). Antosianin ini bersifat amfoter yang berarti bahwa dapat bereaksi baik dengan asam maupun basa. Dalam keadaan asam antosianin memberi warna merah, sedangkan dalam keadaan basa akan memberikan warna ungu dan biru. Sehingga antosianin dapat digunakan sebagai pewarna alami dalam minuman penyegar, kembang gula, produk susu, roti, kue, jelli, produk awetan, dan sirup (Samber *et al.*, 2013).

Kestabilan antosianin dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain pH, suhu, cahaya, dan oksigen (Basuki *et al.*, 2005).

- Transformasi Struktur dan pH

Pada umumnya penambahan hidroksi akan menurunkan stabilitas, sedangkan penambahan metil akan meningkatkan stabilitas (Harborne, 2005). Faktor pH juga mempengaruhi stabilitas, yaitu antosianin akan lebih stabil dalam larutan asam dibandingkan dalam larutan basa (Samber *et al.*, 2013).

- Suhu

Suhu yang panas dapat menyebabkan kerusakan struktur antosianin, sehingga proses pengolahan pangan harus dilakukan pada suhu yang stabil yaitu 50-600°C (Harborne, 2005).

- Cahaya

Cahaya mempunyai dua pengaruh terhadap antosianin, yaitu berperan dalam pembentukan antosianin tapi juga mempengaruhi laju degradasi warna antosianin, sehingga antosianin harus disimpan di tempat yang gelap dengan suhu dingin (Harborne, 2005).

- Oksigen

Oksigen mempercepat kerusakan antosianin. Degradasi antosianin terjadi tidak hanya selama ekstraksi dari jaringan tumbuhan tetapi juga selama proses dan penyimpanan jaringan makanan (Harborne, 2005).

Saat ini, sudah cukup banyak penelitian yang dilakukan untuk mengetahui manfaat dari antosianin. Selain sebagai pewarna alami pada berbagai produk pangan (Low *et al.*, 2007), ditemukan juga aktivitas biologis antosianin sebagai antioksidan (Kahkonen *et al.*, 2003), antiinflamasi (Wang *et al.*, 2002; Youdim *et al.*, 2002), anti atherosclerosis (Fuhrman *et al.*, 2005; Xia *et al.*, 2005), dan anti



hiperglikemi (Tsuda *et al.*, 2003). Sebagai anti hiperglikemi, antosianin bekerja dengan menghambat proses inflamasi pada jaringan adiposit dan dapat memperbaiki kondisi glikemia pada hewan coba (DeFuria *et al.*, 2009). Tsuda *et al.* (2003) juga menemukan bahwa antosianin yang terkandung dalam jagung ungu secara signifikan menekan perkembangan dari obesitas dan menurunkan hiperglikemia yang diinduksi oleh makanan tinggi lemak. Sedangkan Guo *et al.* (2007) meunjukkan bahwa ekstrak antosianin dari *black rice* mampu mengatasi resistensi insulin dan hiperlipidemia, yang ditunjukkan dengan rendahnya status stres oksidatif (penurunan konsentrasi TBARS plasma dan glutathione yang teroksidasi dalam darah). Selain itu, antosianin ternyata juga dapat berfungsi sebagai *insuline secretagogues* (Jayaprakasam *et al.*, 2005) dan sebagai antoixidant antosianin melindungi sel beta pankreas dari *glucose-induced oxidative stress* (Serraino *et al.*, 2003).

#### 2.4 Ubi Jalar



Gambar 2.6 *Ipomoea batatas* L Kultivar Gunung Kawi (Tjahyadi, 2013)

Taksonomi *Ipomoea batatas* L:

Kingdom	: Plantae
Sub kingdom	: Tracheobionta
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub kelas	: Asteridae
Ordo	: Solanales
Famili	: Convolvulaceae
Genus	: Ipomoea L
Species	: <i>Ipomoea batatas</i> L.

(United States Department of Agriculture, 2013)

Ubi jalar (*Ipomea batatas* L) merupakan tanaman yang dipercaya berasal dari Benua Amerika dan telah tersebar hampir di seluruh dunia. Ubi jalar memiliki variasi warna, baik kulit umbi maupun dagingnya yaitu putih, kuning, oranye, merah, atau ungu. Warna merah pada bunga, batang, daun, dan umbi ubi merupakan efek dari adanya kandungan antosianin (USDA, 2013). Ubi jalar ungu sendiri merupakan salah satu sumber antosianin yang murah dan banyak ditemukan di Indonesia, yang memiliki kandungan antosianin yang lebih besar dari pada ubi jalar dengan varietas yang lain (Ariks, 2006).

Tabel 2.2 Kadar Antosianin pada Berbagai Tanaman (Seafast, 2012)

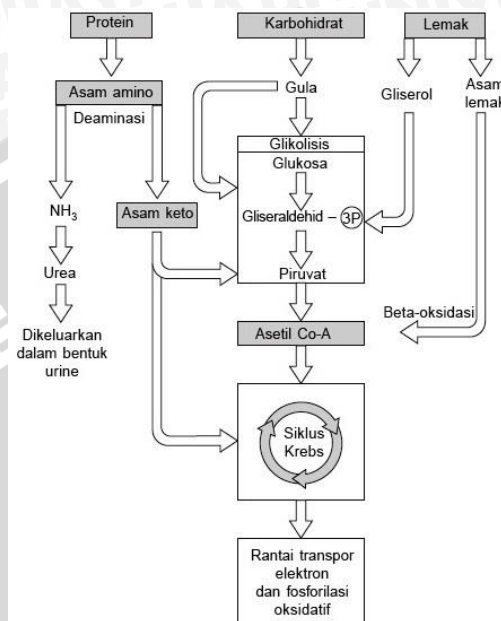
Sumber	Kandungan pigmen (mg/100 g berat basah)
Buah plum	2-25
Bawang	
Bombay merah	7-21
Lobak merah	11-60
Stroberi	15-35
Reaberi merah	20-60
Kolmerah	25
<i>Blueberry</i>	25-495
<i>Blackberry</i>	83-326
<i>Cranberry</i>	60-200
Anggur	6-600
Ubi jalar ungu	84-600

Pada tabel di atas dapat dilihat bahwa di antara berbagai macam tanaman yang mengandung antosianin, ubi jalar ungu termasuk salah satu kelompok dengan kandungan antosianin yang tinggi, yaitu sebesar 84-600 mg/100 g berat basah.

## 2.5 Obesitas

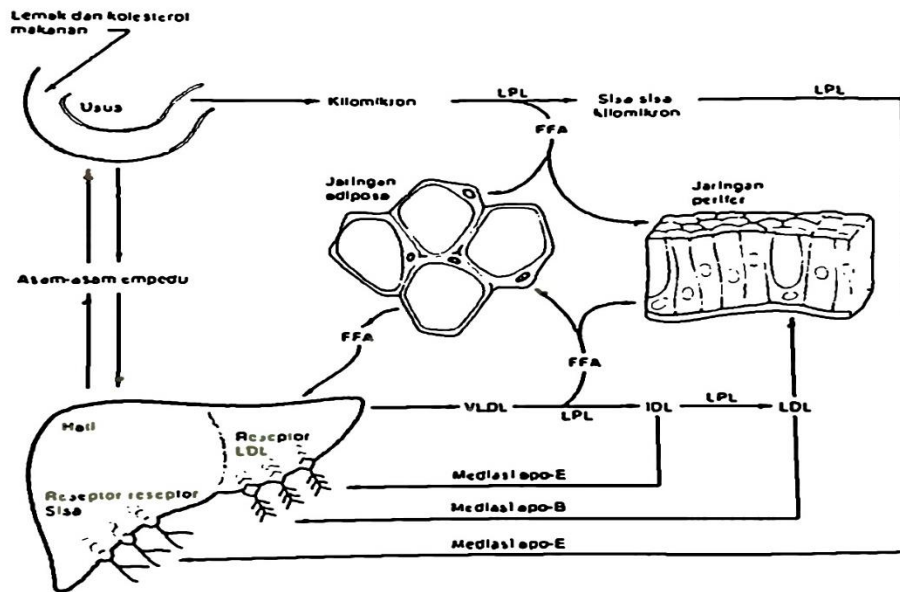
Obesitas adalah akumulasi lemak yang abnormal atau berlebihan yang menimbulkan resiko bagi kesehatan. Obesitas terjadi karena kondisi kronis, dimana terjadi ketidakseimbangan antara asupan dan penggunaan energi.

Energi dalam tubuh kita dapat berasal dari berbagai macam sumber seperti karbohidrat, lemak, dan protein.



Gambar 2.7 Siklus Asam Sitrat (Solomon, 2008)

Energi terbanyak dari makanan berasal dari lemak, yaitu sebesar 9 kalori, sedangkan karbohidrat dan protein hanya 4 kalori setiap gramnya. Metabolisme lemak sebagai berikut :



Gambar 2.8 Metabolisme Lipid (Guyton, 2014)

Lipid yang berasal dari diet yang masuk dalam saluran pencernaan akan dipecah menjadi monogliserida dan *fatty acid*. Namun, saat akan melewati sel epitel usus, maka monogliserida dan *fatty acid* akan disintesis kembali menjadi molekul trigliserida baru yang masuk ke dalam limfe dalam bentuk droplet kecil yang disebut kilomikron. Kilomikron kemudian ditranspor menuju vena yang bersirkulasi pada pertemuan vena jugularis dan subklavia. Sebagian kilomikron dilepaskan dari sirkulasi darah sewaktu melewati kapiler berbagai jaringan, khususnya jaringan adipose, otot skelet, dan hati. Sejumlah lemak disimpan dalam dua jaringan tubuh utama, yaitu jaringan adipose dan hati, sebagai cadangan energi (Guyton, 2014). Jika energi yang dihasilkan dari metabolisme tersebut lebih banyak dari penggunaannya dalam jangka waktu lama, maka cadangan energi pun semakin banyak dan terjadilah keadaan obesitas. Obesitas

meningkatkan resiko morbiditas dari hipertensi, dislipidemia, diabetes tipe 2, penyakit jantung koroner, stroke, penyakit kantong empedu, OA, sleep apnea dan masalah respirasi, serta kanker endometrium, payudara, prostat, dan colon. Oleh sebab itu, obesitas menjadi tantangan tersendiri dalam dunia kesehatan (Haslam and James, 2005).

Ketidakseimbangan antara asupan dan penggunaan energi menyebabkan terjadinya hipertrofi adiposit karena akumulasi lipid, dan hiperplasia adiposit karena diferensiasi preadiposit menjadi adiposit matur. Proses adipogenesis dan lipogenesis diregulasi oleh faktor transkripsi seperti *liver X receptor  $\alpha$*  (LXR  $\alpha$ ), *CCAT enhancing binding protein  $\alpha$*  (C/EBP $\alpha$ ), *peroxisome proliferators-activated receptor- $\gamma$*  (PPAR $\gamma$ ), dan *sterol regulatory element-binding protein-1c* (SREBP-1c) (Ntambi *et al.*, 2000). Adiposit yang sudah matur menghasilkan berbagai macam adipokin, seperti:

**Tabel 2.3 Berbagai Macam Adipokin dan Fungsinya (Sherwood, 2010)**

Adipokin	Fungsi
Leptin	Dirilis oleh cadangan lemak; menekan nafsu makan; sebagai regulator dominan jangka panjang dalam keseimbangan energi dan berat badan
Adiponektin	Sekresi dari adiposit rendah dalam keadaan obesitas; mempromosikan oksidasi asam lemak di otot; meningkatkan sensitivitas insulin; menurunkan berat badan dengan meningkatkan penggunaan energi; mempunyai aksi sebagai anti-inflamasi
Resistin	Dirilis terutama dalam keadaan obesitas; memicu

	pada resistensi insulin
Visfatin	Dirilis terutama dari lemak visceral; menstimulasi pengambilan glukosa; berikatan dengan reseptor insulin pada tempat yang berbeda dari tempat penempelan insulin
TNF- $\alpha$ dan IL-6	Mempromosikan inflamasi level rendah di jaringan lemak dan seluruh tubuh

Adipokin-adipokin tersebut memiliki fungsinya masing-masing. Namun bila diproduksi secara berlebihan maka akan mengganggu keseimbangan dari sistem tubuh, salah satunya dengan memicu resistensi insulin melalui pembentukan resistin, TNF- $\alpha$ , dan IL-6 yang berlebihan. TNF- $\alpha$  meningkatkan resistensi insulin sistemik dengan mempromosikan pelepasan *fatty acids* dari jaringan adiposit menuju aliran darah, sehingga mengganggu transporter glukosa. Sedangkan IL-6 meningkatkan lipolisis dan oksidasi lemak (van Hall *et al.*, 2003), serta menurunkan proses autofosforilasi reseptor insulin (Klover *et al.*, 2003).

Saat ini, standar BMI untuk zebrafish belum ditentukan. Namun berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Nur *et al.* (2016) ditemukan bahwa BMI pada kelompok zebrafish non-DIO adalah 0.036 g/cm<sup>2</sup>, sedangkan pada kelompok zebrafish dengan DIO adalah sebesar 0.043 g/cm<sup>2</sup>.