

RESEARCH STUDY

Indonesian Version

OPEN ACCESS

Konsumsi Diet Tinggi Lemak Tinggi Fruktosa dalam Jangka Panjang Menurunkan Sensitivitas Insulin dan Merusak Pulau Langerhans pada Tikus *Sprague Dawley*

Long-Term Consumption of High-Fat-High-Fructose Diet Decreased Insulin Sensitivity and Damaged the Islets of Langerhans on Sprague Dawley Rats

Adelya Desi Kurniawati^{1*}, Luh Shanti Kuswandari¹, Alfiani Hidayanti¹, Inggita Kusumastuty¹, Etik Sulistyowati², Dian Handayani¹

¹Departemen Gizi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia

²Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Malang, Indonesia

INFO ARTIKEL

Received: 13-01-2024

Accepted: 25-04-2025

Published online: 12-09-2025

*Koresponden:

Adelya Desi Kurniawati

adel.kurniawati@ub.ac.id



DOI:
10.20473/amnt.v9i3.2025.469-478

Tersedia secara online:

<https://e-journal.unair.ac.id/AMNT>

Kata Kunci:

Diabetes Tipe 2, Diet HFHF, Sensitivitas Insulin, Sel Beta Pankreas, Langerhans

ABSTRAK

Latar Belakang: Obesitas dikaitkan dengan meningkatnya kejadian diabetes tipe 2, dimana asupan lemak berlebihan menjadi salah satu penyebab utamanya. Pengembangan model hewan gemuk ditemukan sebagai strategi eksperimental standar yang didasarkan pada replikasi perilaku manusia dalam konsumsi makanan.

Tujuan: Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsumsi diet tinggi lemak tinggi fruktosa jangka panjang terhadap indikator diabetes mellitus pada tikus *Sprague Dawley* (SD), seperti sensitivitas insulin dengan mengukur HOMA-IR, menghitung sel beta dan menganalisis histologi pankreas.

Metode: Percobaan ini dilakukan pada 36 ekor tikus SD jantan yang dibagi dalam kelompok normal dan HFHF. Kelompok normal mendapat AIN-93 M yang dimodifikasi, sedangkan kelompok HFHF menerima diet tinggi lemak dengan penambahan 30% fruktosa pada air minumnya. Asupan pakan dan minuman dipantau setiap 24 jam untuk menghitung konsumsi kalori harian (asupan energi) selama 17 minggu.

Hasil: Hasilnya menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kelompok normal dan kelompok HFHF pada level HOMA-IR (sensitivitas insulin) dan jumlah sel beta pankreas ($p\text{-value} < 0,05$). Ini menyiratkan bahwa setelah 17 minggu asupan HFHF, tingkat sensitivitas insulin HOMA-IR berkurang. Selain itu, pulau Langerhans secara histopatologi pankreas tampak rusak pada tikus HFHF, dibuktikan dengan perubahan bentuk dan jumlah sel beta yang lebih rendah.

Kesimpulan: Mengonsumsi diet HFHF dalam jangka waktu lama meningkatkan kadar glukosa, menurunkan tingkat sensitivitas insulin, dan merusak histopatologi pankreas.

PENDAHULUAN

Obesitas merupakan salah satu permasalahan kesehatan kronis yang berkembang pesat secara global dan berkontribusi besar terhadap timbulnya sindrom metabolik. Meskipun etiologi pasti dari Diabetes Mellitus Tipe 2 (DMT2) belum sepenuhnya dipahami, obesitas diketahui menjadi faktor utama yang menyumbang sekitar 80-85% risiko berkembangnya DMT2¹. Berdasarkan *World Health Statistics* tahun 2021, *World Health Organization* (WHO) melaporkan bahwa prevalensi obesitas global meningkat sebesar 50%, yakni dari 8,7% menjadi 13,1% pada periode 2000 hingga 2016². Data dari *Global Burden of Disease* (GBD) tahun 2017 juga mengungkapkan bahwa sebanyak 462 juta orang atau sekitar 6,28% dari populasi dunia diperkirakan mengidap DMT2³. Tren serupa juga terjadi di Indonesia, di mana prevalensi obesitas meningkat dari 15,4% pada tahun

2013 menjadi 21,8% pada tahun 2018. Sementara itu, prevalensi diabetes melitus di Indonesia berdasarkan studi terbaru yang mencakup seluruh kelompok usia tercatat sebesar 2%, atau setara dengan sekitar satu juta jiwa⁴.

Selama beberapa dekade terakhir, konsumsi fruktosa mengalami peningkatan sekitar 30%, sejalan dengan peningkatan kejadian obesitas dan gangguan metabolik⁵. Berbagai studi menunjukkan bahwa konsumsi fruktosa dalam jumlah tinggi berhubungan dengan akumulasi lemak visceral (lemak perut) yang lebih tinggi. Sebagai contoh, penelitian selama 10 minggu menunjukkan bahwa peserta yang mengonsumsi minuman dengan pemanis fruktosa mengalami peningkatan lemak abdominal sebesar 8,6%, sementara kelompok yang mengonsumsi minuman dengan pemanis glukosa hanya mengalami peningkatan sebesar 4,8%⁶.

Temuan ini menunjukkan bahwa fruktosa memiliki potensi yang lebih besar dalam meningkatkan penimbunan lemak tubuh dibandingkan glukosa. Oleh karena itu, investigasi terhadap efek konsumsi fruktosa dalam jumlah tinggi sangat penting untuk memahami peranannya dalam perkembangan obesitas dan gangguan metabolik terkait.

Obesitas dilaporkan dapat mengganggu kemampuan insulin dalam memengaruhi penyerapan dan metabolisme glukosa pada jaringan yang sensitif terhadap insulin. Kondisi ini sering disebut sebagai Resistensi Insulin (RI), di mana obesitas juga diketahui meningkatkan sekresi insulin dalam plasma⁷. Pulau *Langerhans* merupakan kumpulan sel di pankreas yang menghasilkan hormon, terutama sel beta yang berperan dalam produksi insulin. Peningkatan kebutuhan produksi insulin dapat menyebabkan kelelahan pada sel beta, sehingga mengakibatkan penurunan produksi insulin dan pada akhirnya memicu timbulnya DMT2⁸. Hal ini menunjukkan bahwa individu dengan obesitas mengalami resistensi terhadap insulin, yang selanjutnya menyebabkan peningkatan kadar hormon insulin dalam darah. Selain itu, keberadaan insulin dalam tubuh juga menghambat proses lipolisis atau pemecahan lemak, serta meningkatkan pembentukan dan penyerapan lemak⁷. Asupan lemak merupakan salah satu penyebab utama obesitas, di mana konsumsi lemak menyumbang lebih dari 30% dari total sumber energi. Diet tinggi lemak juga terbukti berperan dalam perkembangan obesitas, baik pada manusia maupun hewan. Oleh karena itu, hewan percobaan seperti tikus sering digunakan sebagai model dalam berbagai penelitian untuk mengkaji obesitas⁹. Menurut beberapa penelitian, terdapat interaksi positif antara konsumsi tinggi lemak dan tinggi sukrosa terhadap peningkatan berat badan pada tikus percobaan.

Beragam sumber digunakan untuk menginduksi kondisi obesitas pada hewan percobaan, seperti pemberian pakan tinggi lemak yang dikombinasikan dengan penambahan glukosa (*High-Fat Diet/HFD*)^{10,11} maupun fruktosa (*High-Fat Fructose Diet/HFFD*)^{12,13}. Selain itu, berbagai metode juga telah dikembangkan untuk menciptakan kondisi diabetes pada hewan percobaan, khususnya pada tikus. Oleh karena itu,

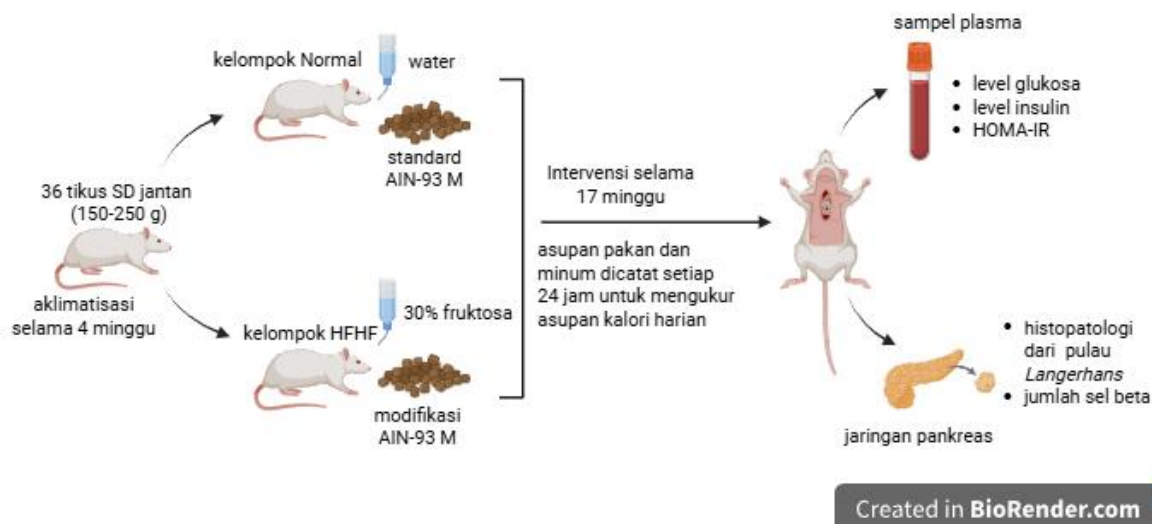
penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi dampak konsumsi jangka panjang diet tinggi lemak dan fruktosa (*High-Fat High-Fructose/HFHF*) terhadap indikator diabetes pada tikus SD. Parameter yang diamati meliputi kadar glukosa, insulin, dan HOMA-IR, serta jumlah sel beta dan gambaran histopatologi pulau *Langerhans*.

METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada tahun 2017 hingga 2018 di tiga laboratorium. Perlakuan terhadap hewan percobaan dilakukan di Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya, di mana seluruh protokol percobaan yang melibatkan tikus dilakukan. Analisis selanjutnya dilaksanakan di dua laboratorium tambahan, yaitu analisis plasma dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, sedangkan pemeriksaan histopatologi sel beta pankreas dilakukan di Laboratorium Anatomi-Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Model Hewan Coba

Sebanyak 36 ekor tikus jantan jenis SD dengan berat sekitar 150-250 g diperoleh dari Laboratorium Hewan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Tikus-tikus tersebut menjalani tahap aklimatisasi selama empat minggu di fasilitas hewan Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya sebelum perlakuan dimulai. Hewan dipelihara dalam kondisi lingkungan yang seragam dengan akses bebas terhadap air dan pakan setiap hari. Tikus dibagi secara acak menggunakan metode pengambilan sampel secara acak ke dalam dua kelompok, yaitu kelompok normal dan kelompok perlakuan HFHF. Kelompok normal diberi pakan standar AIN-93M, sedangkan kelompok HFHF diberi pakan AIN-93M yang telah dimodifikasi, selama 17 minggu¹⁴. Masing-masing kelompok terdiri dari 18 ekor tikus yang ditempatkan dalam kandang individu pada suhu ruang (24°C) dengan siklus siang-malam. Pakan dan minum diberikan secara *ad libitum*, masing-masing sebanyak 20 g/ekor/hari dan 250 mL/hari. Seluruh protokol penelitian telah disetujui oleh Komite Etik Penelitian dan Kesejahteraan Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya pada tanggal 24 Oktober 2017 (No. 368/EC/KEPK/10/2017).



Gambar 1. Garis besar pelaksanaan penelitian

Komposisi Pakan dan Pengukuran Asupan Harian

Pakan standar AIN-93M terdiri atas pati jagung, pati jagung terdektrinasi, sukrosa, minyak kedelai, kasein, tepung putih telur, agar, mineral, campuran vitamin AIN, l-sistein, kolin bitartrat, dan *tertiary butylhydroquinone* (TBHQ). Pada kelompok HFHF, pakan dimodifikasi dengan penambahan lemak (*lard*) dan fruktosa untuk meningkatkan kandungan lemak dan gula, sehingga mensimulasikan pola makan tinggi lemak dan tinggi fruktosa. Kelompok HFHF juga diberikan minuman fruktosa 30% dengan kandungan energi sebesar 0,3 kkal/mL dan karbohidrat 1,2 g/mL. Kerapatan energi pakan untuk kelompok normal dan HFHF masing-masing adalah 4,21 kkal/g dan 5,08 kkal/g^{15,16}. Asupan makanan dan minuman aktual dihitung dengan cara mengurangi sisa makanan (g) dan minuman (mL) per 24 jam dari berat awal.

Analisa Plasma

Setelah 17 minggu perlakuan, tikus dikorbankan melalui prosedur eutanasia menggunakan kombinasi ketamin (1 mL) dan xylazine (0,5 mL). Selanjutnya akan dilakukan Analisa terhadap kadar glukosa puasa, kadar insulin¹³, serta perhitungan index HOMA-IR¹⁷. Pengambilan sampel darah dilakukan setelah puasa selama 16 jam. Darah diambil untuk pengukuran kadar glukosa menggunakan *glucometer* (ACCU Check), sedangkan darah dari jantung dikumpulkan untuk analisis insulin. Sampel darah untuk pengukuran kadar insulin diproses dengan sentrifugasi pada kecepatan 2000 g dan suhu 4°C selama 10 menit. Kadar insulin dianalisis menggunakan metode *sandwich Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) (E-EL-R2466; Elabscience Biotechnology, China). Perhitungan HOMA-IR dilakukan untuk menilai resistensi insulin. Seluruh analisis dilakukan oleh tenaga laboratorium terlatih di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Prosedur Histopatologi

Setelah pengambilan organ, jaringan pankreas difiksasi dalam formalin 10% selama ± 7 jam dan dibenamkan dalam parafin. Spesimen kemudian

dipotong menggunakan mikrotom untuk menghasilkan irisan setebal 3-5 μm . Irisan yang telah mengalami *dewaxing* (pelepasan zat lilin) dipanaskan dalam oven bersuhu 70-80°C selama 30 menit, selanjutnya direndam dalam xylol, dan diwarnai dengan pewarna hematoxilin dan eosin (H&E). Setelah pembilasan dengan air mengalir, irisan mengalami proses dehidrasi bertahap dengan etanol (70%, 80%, 90%, dan etanol absolut) selama beberapa menit dalam masing-masing cairan. Akhirnya, spesimen tersebut dipasang menggunakan media pemasangan berbasis resin sintesis ke kaca objek dan ditutup dengan penutup kaca. Kaca objek yang telah disiapkan tersebut kemudian diamati di bawah mikroskop cahaya untuk menganalisis karakteristik histopatologi¹⁸. Proses ini dilakukan oleh tenaga laboratorium terlatih di Laboratorium Anatomi-Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Perhitungan Statistik

Analisis statistik dilakukan menggunakan SPSS versi 25. Seluruh data disajikan dalam bentuk rerata $\pm$ standar deviasi (SDev). Uji *independent t-test* digunakan untuk menganalisis perbedaan asupan energi dan kadar insulin, sedangkan kadar glukosa darah serta indeks HOMA-IR dianalisis menggunakan uji *Mann-Whitney U*. $p\text{-value} < 0,05$ dianggap memiliki perbedaan signifikan secara statistik.

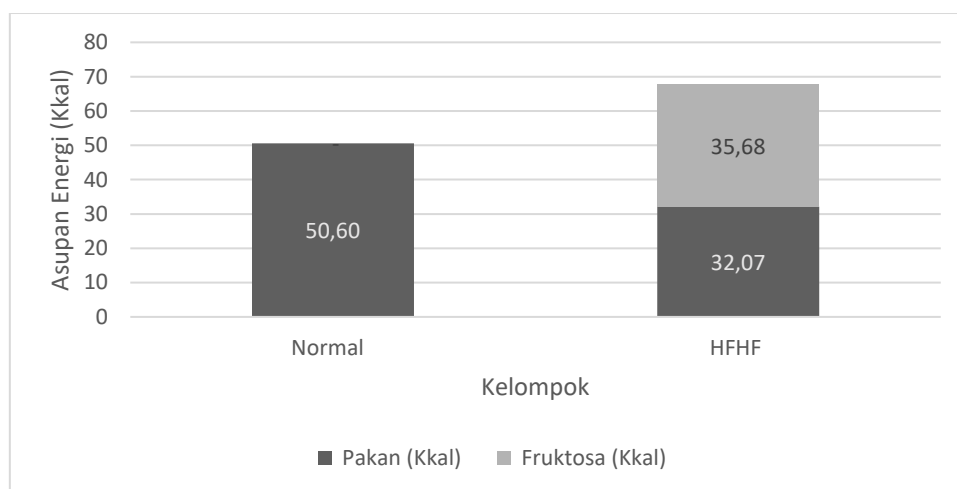
HASIL DAN PEMBAHASAN

Obesitas merupakan salah satu permasalahan kesehatan utama di dunia yang dipengaruhi oleh asupan energi dan peningkatan berat badan. Namun demikian, peningkatan berat badan saja tidak selalu mencerminkan kondisi obesitas secara keseluruhan. Akumulasi lemak tubuh yang berlebih serta peningkatan kadar trigliserida juga merupakan indikator penting dalam penentuan status obesitas¹⁹. Beberapa penelitian menyatakan bahwa studi mengenai obesitas memiliki tantangan tersendiri mengingat etiologinya yang kompleks, melibatkan faktor genetik, metabolik, perilaku, dan lingkungan. Penggunaan hewan percobaan yang dimodifikasi secara genetik untuk memodelkan kondisi

obesitas maupun tubuh ramping telah memberikan kontribusi signifikan terhadap pemahaman mekanisme fisiologis dan molekuler yang memengaruhi keseimbangan energi⁹. Dalam kondisi ini, konsumsi lemak dan fruktosa yang berlebihan memainkan peran penting dalam peningkatan berat badan pada hewan percobaan²⁰. Selanjutnya, peningkatan berat badan tersebut dikaitkan dengan peningkatan risiko penyakit jantung dan kematian, khususnya pada individu dengan kelebihan berat badan sedang hingga berat.

Sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 2, rerata asupan energi yang dihitung dari total konsumsi pakan dan fruktosa menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kedua kelompok ($p\text{-value} < 0,005$). Pada kelompok HFHF, konsumsi fruktosa memberikan kontribusi yang

lebih besar terhadap total asupan energi dibandingkan dengan konsumsi pakan. Rerata asupan pakan pada kelompok ini juga lebih rendah dibandingkan kelompok normal. Menurut Ferreira tahun 2011, diet AIN-93M hiper-kolesterol yang digunakan sebagai sumber lemak dalam pemberian pakan pada tikus menghasilkan rata-rata asupan sebesar 15,47 g, lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol²¹. Hal ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor, seperti kondisi fisiologis tikus serta ritme makan yang dipengaruhi oleh variasi dalam jumlah total pakan yang dikonsumsi, ukuran, dan frekuensi makan^{22,23}. Selain itu, proses perpindahan tikus ke dan dari kandang selama pengukuran juga dapat menyebabkan peningkatan stres, yang berdampak pada asupan pakan harian.



Gambar 2. Asupan energi rata-rata yang dihitung dari makanan dan konsumsi fruktosa tikus menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kedua kelompok ($p\text{-value} < 0,05$).

Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian sebelumnya²⁴ yang meneliti pengaruh diet HFHF terhadap parameter metabolik pada hewan model. Temuan sebelumnya menunjukkan bahwa kelompok HFHF mengalami peningkatan berat badan, sedangkan kelompok normal menunjukkan penurunan. Perubahan berat badan sekitar 40% tersebut dijadikan dasar dalam pengembangan model hewan obesitas. Penelitian ini melanjutkan temuan tersebut dengan mengeksplorasi lebih lanjut dampak metabolik dari konsumsi diet HFHF. Penelitian lain juga menunjukkan bahwa konsumsi fruktosa jangka panjang dapat memengaruhi regulasi asupan makanan. Meskipun tidak selalu disertai dengan peningkatan berat badan yang signifikan atau kondisi obesitas, konsumsi fruktosa tetap berkontribusi terhadap gangguan metabolik²⁵.

Bocarsly et al. tahun 2010 juga mengevaluasi efek jangka pendek dan jangka panjang dari diet tinggi fruktosa terhadap berat badan, lemak tubuh, serta kadar trigliserida sirkulasi. Hasilnya menunjukkan bahwa akses jangka panjang terhadap diet fruktosa menyebabkan terjadinya obesitas pada tikus, sedangkan konsumsi sukrosa tidak menghasilkan efek serupa¹⁹. Hal ini mengindikasikan bahwa komposisi bahan pakan dalam eksperimen ini, yang hanya menggunakan sumber lemak nabati (minyak kedelai), memiliki kontribusi yang lebih rendah terhadap peningkatan berat badan hewan uji. Menurut Kavanagh tahun 2006, diet berbasis hewani

memiliki kandungan lemak yang lebih tinggi dibandingkan diet berbasis nabati. Dalam penelitiannya, monyet jantan yang diberi diet mengandung lemak trans dari daging domba, sapi, dan produk susu menunjukkan peningkatan berat badan sebesar 7,2%, dibandingkan dengan peningkatan 1,8% pada kelompok yang diberi lemak tak jenuh tunggal seperti minyak zaitun dan kedelai^{21,26}.

Komposisi pakan dan kepadatan energi (densitas energi) sangat berkaitan erat dengan faktor-faktor diet yang memengaruhi asupan makanan pada tikus. Beberapa faktor yang memengaruhi asupan diet pada hewan uji antara lain adalah tekstur, viskositas (pada minuman fruktosa), serta karakteristik organoleptik pakan. Dalam studi ini, bentuk pakan standar AIN-93M yang diberikan pada kelompok normal memiliki tekstur yang lebih padat, mudah dipegang, serta sesuai dengan anatomi mulut tikus sebagai hewan pengerat. Sebaliknya, pakan modifikasi AIN-93M yang diberikan pada kelompok HFHF memiliki tekstur yang lebih kasar dan mudah hancur, sehingga terkadang menyulitkan tikus untuk mengonsumsinya. Dari aspek organoleptik, berdasarkan pengamatan, pakan HFHF mengeluarkan aroma yang lebih tajam dibandingkan pakan normal. Aroma tajam tersebut kemungkinan disebabkan oleh penambahan lemak (lard) dalam jumlah yang lebih besar pada pakan HFHF. Lard mengandung asam lemak jenuh yang mudah teroksidasi dan menghasilkan aroma khas yang tajam^{27,28}.

Tikus memiliki fisiologi tubuh dan perilaku makan yang hampir serupa dengan manusia, yang dapat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan dan psikologis^{29,30}. Dalam penelitian ini, tikus menunjukkan tingkat stres yang cukup tinggi, sebagaimana ditunjukkan oleh adanya gangguan psikologis pada beberapa tikus. Gangguan ini dipicu oleh berbagai faktor, seperti adanya gangguan eksternal saat pemberian pakan, pengambilan sisa pakan, proses penimbangan, pemindahan kandang, serta perubahan lainnya di lingkungan pemeliharaan. Stres merupakan respons non-spesifik tubuh terhadap tekanan atau tuntutan yang diterima. Tikus dapat mengalami stres, terutama akibat faktor lingkungan, seperti kapasitas kandang yang terlalu padat, serta gangguan eksternal berupa suara, cahaya, dan perubahan posisi kandang³¹. Stres dapat mengaktifasi sekresi hormon adrenokortikotropik (ACTH) dan kortisol. Kortisol ini akan merangsang peningkatan deposisi lemak sentral, penurunan kadar hormon leptin, serta peningkatan sekresi ghrelin. Penurunan leptin akan memberikan sinyal adipostatik, sedangkan peningkatan ghrelin akan memberikan sinyal oreksigenik yang berkontribusi dalam regulasi nafsu makan³².

Selain kondisi psikologis, faktor fisiologis juga berperan dalam memengaruhi perilaku makan tikus, terutama rasa jenuh akibat pemberian diet HFHF yang mengandung lemak dan fruktosa tinggi secara terus-menerus. Kejenuhan ini berkaitan dengan kandungan dan densitas energi dari pakan yang diberikan. Densitas energi suatu pakan ditentukan oleh kandungan air dan lemak. Pakan dengan densitas energi tinggi umumnya memiliki kandungan air yang rendah dan lemak yang tinggi, sedangkan pakan dengan densitas energi rendah mengandung lebih banyak air dan sedikit lemak. Tikus diketahui lebih menyukai pakan dengan densitas energi yang rendah²⁹.

Temuan ini sejalan dengan penelitian sebelumnya oleh Mayasari dan Rahayuni tahun 2014, yang melaporkan bahwa kelompok dengan diet tinggi lemak memiliki asupan pakan lebih rendah (17,94 g) dibandingkan kelompok normal (19,00 g)³³. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan lemak yang tinggi dalam pakan dapat menurunkan asupan makanan dan

memperpanjang waktu pengosongan lambung, sehingga tikus lebih cepat merasa kenyang³⁴. Selain itu, nafsu makan tikus juga dipengaruhi oleh tekstur, aroma, dan karakteristik organoleptik pakan. Tekstur yang kasar dan aroma yang tidak sedap (misalnya tengik) dapat menjadi faktor penyebab penurunan nafsu makan pada hewan uji³⁵.

Plasma Glukosa, Insulin, dan HOMA-IR

Berdasarkan Tabel 1, kadar glukosa darah dan indeks HOMA-IR pada kedua kelompok menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p\text{-value} < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian diet tinggi lemak dan fruktosa (HFHF) secara signifikan meningkatkan kadar glukosa darah dan indeks resistensi insulin (HOMA-IR), yang mengindikasikan penurunan sensitivitas insulin. Sementara itu, kadar insulin antara kelompok normal dan HFHF tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan, meskipun nilai rata-rata pada kelompok HFHF lebih tinggi. Temuan ini sejalan dengan beberapa penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa diet tinggi lemak dan fruktosa (*high-fat diet/HFD* dan *fructose-rich diet/FRD*) dapat menyebabkan dislipidemia pada hewan non-diabetik³⁶. Hal ini menunjukkan bahwa fruktosa dan lemak berkontribusi terhadap peningkatan ketersediaan lemak endogen maupun eksogen, yang berasal dari sumber berbeda²⁰.

Kombinasi pemberian diet HFD dan FRD dalam penelitian ini menghasilkan fenotipe metabolik yang serupa, sebagaimana ditunjukkan oleh peningkatan kadar glukosa plasma pada kelompok HFHF. Kadar glukosa puasa yang tinggi juga merupakan salah satu indikator utama intoleransi glukosa. Temuan ini konsisten dengan beberapa studi sebelumnya yang melaporkan terjadinya intoleransi glukosa pada hewan uji yang diberikan diet tinggi lemak atau fruktosa, meskipun kadar glukosa puasa tetap dalam batas normal (sekitar 8,28 mmol/L)²⁸. Sebagai contoh, Han et al. memberikan diet dengan kandungan lemak sebesar 50% kepada tikus Wistar selama 32 minggu. Setelah 10 minggu, terjadi peningkatan berat badan yang signifikan, dan mulai minggu ke-16, kadar glukosa darah hewan uji secara konsisten meningkat³⁷.

Tabel 1. Parameter Metabolik Tikus SD yang diamati pada Kelompok Normal dan HFHF Setelah 17 Minggu Pemberian Makanan

Parameter	Kelompok Normal	Kelompok HFHF	<i>p-value</i>
Asupan Energi (Kkal)	54,02±7,59	72,41±6,30	0,000*
Insulin (mIU/L)	14,47±2,04	15,78±2,80	0,161*
Glukosa (mmol/L)	7,58±1,60	8,89±1,69	0,023**
Index HOMA-IR	4,78±0,76	6,30±1,97	0,016**

Nilai *p-value* pada Independent t-test(*) dan Mann-Whitney (**), ($p\text{-value} < 0,05$) menunjukkan bahwa ada perbedaan signifikan antara kedua kelompok terhadap parameter uji. Kelompok Normal menerima pakan standar AIN-93M, sedangkan kelompok HFHF menerima AIN-93M yang dimodifikasi dengan penambahan lemak babi dan fruktosa, termasuk larutan minum fruktosa tinggi 30%.

Berdasarkan hasil penelitian ini, kadar insulin plasma tikus diukur menggunakan metode *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA) pada akhir periode perlakuan, yaitu minggu ke-17. Analisis menggunakan *independent t-test* menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kadar insulin pada kelompok normal dan kelompok HFHF. Namun demikian,

kadar insulin pada kelompok HFHF lebih tinggi dibandingkan kelompok normal, yaitu dengan nilai minimum sebesar 12,17 IU/mL dan maksimum 22,26 IU/mL. Temuan ini sejalan dengan studi yang dilakukan oleh D'Angelo et al. tahun 2005, yang melaporkan bahwa kelompok tikus yang diberikan diet fruktosa memiliki kadar insulin yang lebih tinggi (1,3-2,5 kali lipat)

dibandingkan kelompok kontrol³⁸. Namun demikian, sensitivitas terhadap hormon insulin menunjukkan kecenderungan berbeda. Beberapa penelitian sebelumnya melaporkan bahwa tikus yang diberikan diet tinggi fruktosa mengalami kelainan metabolik yang berhubungan dengan resistensi insulin atau penurunan sensitivitas terhadap insulin. Akibatnya, terjadi peningkatan sensitivitas terhadap vasokonstriktor, disfungsi vaskular, penurunan relaksasi yang bergantung pada endotel, gangguan fungsi saluran kalium, serta peningkatan produksi superoksida vaskular secara independen dari kondisi hipertensi³⁹⁻⁴¹.

Sensitivitas insulin dalam penelitian ini diukur menggunakan metode *Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance* (HOMA-IR), dengan rumus yang pertama kali diperkenalkan oleh Matthews et al. tahun 1985¹⁷. Perhitungan HOMA-IR dilakukan melalui kalkulator daring yang tersedia pada situs *The Blood Code* (<https://www.thebloodcode.com/>), yang dapat mengestimasi sensitivitas insulin. Metode ini digunakan untuk menunjukkan hubungan antara kadar glukosa darah puasa dan respons insulin, serta menjadi indikator tidak langsung untuk menilai resistensi insulin.

Dalam penelitian ini, indeks HOMA-IR digunakan sebagai penanda sensitivitas insulin dan menunjukkan korelasi dengan kadar glukosa serta asupan energi pada tikus SD. Seperti ditampilkan pada Tabel 1, terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok normal dan kelompok HFHF ($p\text{-value} < 0,05$). Namun demikian, kelompok normal juga menunjukkan adanya gangguan metabolik, yang kemungkinan disebabkan oleh tingginya densitas energi dari formulasi pakan normal (4,2 kkal/g). Peningkatan indeks HOMA-IR yang diamati pada kelompok HFHF menunjukkan penurunan sensitivitas insulin, seiring dengan tingginya konsumsi energi dan fruktosa⁷.

Penurunan sensitivitas insulin umumnya sejalan dengan meningkatnya resistensi insulin. Ketika seseorang

mengalami resistensi insulin, pankreas harus memproduksi insulin dalam jumlah lebih besar untuk mempertahankan kadar glukosa darah dalam kisaran normal. Sebaliknya, sensitivitas insulin yang tinggi mengindikasikan bahwa tubuh merespons insulin secara efektif, sehingga pankreas tidak perlu memproduksi insulin dalam jumlah besar. Kondisi ini mencerminkan status kesehatan metabolik yang baik dan menurunkan risiko terjadinya DM2 maupun gangguan metabolik lainnya.

Jumlah Sel β Pankreas

Insulin merupakan hormon yang berfungsi menurunkan kadar glukosa darah. Hormon ini diproduksi, disimpan, dan disekresikan oleh sel β pankreas. Setiap pulau *Langerhans* terdiri atas berbagai jenis sel endokrin, dengan sekitar 80% di antaranya merupakan sel β yang mensekresikan insulin, 15% merupakan sel α yang mengeluarkan glukagon, dan 5% adalah sel δ yang menghasilkan somatostatin⁴². Setelah 17 minggu perlakuan, jumlah sel β pankreas diamati dan disajikan pada Tabel 2. Hasil analisis menunjukkan bahwa jumlah sel β pada kelompok HFHF lebih rendah dibandingkan dengan kelompok normal. Temuan ini sejalan dengan efek konsumsi diet tinggi lemak yang memicu peningkatan asam lemak bebas⁴³. Akumulasi asam lemak bebas tersebut berkontribusi pada penurunan pemanfaatan glukosa yang dimediasi oleh insulin di jaringan perifer, suatu kondisi yang dikenal sebagai resistensi insulin. Lebih lanjut, resistensi insulin menyebabkan gangguan pada proliferasi *Insulin Receptor Substrate-1* (IRS-1), penurunan translokasi GLUT-4, serta penurunan oksidasi glukosa. Kondisi ini menghambat masuknya glukosa ke dalam sel, yang pada akhirnya menyebabkan hiperglikemia. Sebagai bentuk kompensasi terhadap gangguan ini, sel β pankreas meningkatkan sekresi insulin secara berlebihan, yang dapat memicu kondisi hiperinsulinemia⁴⁴.

Tabel 2. Jumlah Sel Beta Pankreas pada Kelompok Normal dan Kelompok HFHF Setelah 17 Minggu Pemberian Pakan

Sel β Pankreas	Kelompok Normal	Kelompok HFHF	$p\text{-value}$
Rerata Jumlah Sel (sel)	126,76 $\pm$ 14,71	77,13 $\pm$ 14,54	0,000*
Maksimum (sel)	180	130	
Minimum (sel)	63	29	

Nilai $p\text{-value}$ menggunakan metode *Independent T-Test* (*), di mana ($p\text{-value} < 0,05$) menunjukkan bahwa parameter yang dianalisis memiliki perbedaan yang signifikan antara kedua kelompok. Kelompok Normal menerima pakan standar AIN-93M, sedangkan kelompok HFHF menerima AIN-93M yang telah dimodifikasi dengan penambahan lemak babi dan fruktosa, termasuk larutan minum tinggi fruktosa sebanyak 30%.

Dalam penelitian ini, terjadinya hiperinsulinemia secara terus-menerus menyebabkan kegagalan sel β pankreas dalam merespons kadar glukosa darah yang tinggi, yang selanjutnya memicu resistensi insulin dan gangguan pada jalur sinyal transduksi insulin^{5,45}. Resistensi insulin pada sel β pankreas turut berkontribusi terhadap aktivasi jalur kaspase dan peningkatan kadar ceramide, yang pada akhirnya menginduksi proses apoptosis. Kondisi hiperinsulinemia juga meningkatkan produksi radikal bebas, khususnya *Reactive Oxygen Species* (ROS), yang jika terakumulasi secara berlebihan dalam jangka panjang dapat menimbulkan stres oksidatif kronis dan kematian sel^{45,46}. Tingkat resistensi insulin berbanding terbalik dengan sensitivitas insulin, sehingga

penurunan jumlah sel β pankreas sejalan dengan penurunan sensitivitas terhadap insulin. Lebih lanjut, kombinasi diet tinggi lemak dan fruktosa (HFHF) diketahui memicu pelepasan sitokin proinflamasi yang berperan dalam proses apoptosis sel β pankreas. Pelepasan sitokin seperti IL-1, TNF- α , IFN- γ , dan *nuclear factor kappa B* (NF- κ B) diduga dipicu oleh peningkatan berlebih *monocyte chemoattractant protein-1* (MCP-1) akibat tingginya konsumsi lemak dan fruktosa⁴³. Senyawa-senyawa tersebut menginduksi apoptosis sel β melalui serangkaian transkripsi gen. Aktivasi NF- κ B menyebabkan produksi *nitric oxide* (NO), kemokin, dan terjadinya *calcium depletion* di retikulum endoplasma (stres retikulum). Kondisi ini kemudian memicu

pelepasan sinyal *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPK) dan sinyal apoptosis melalui jalur mitokondria yang mengarah pada kematian sel β pankreas⁴⁷.

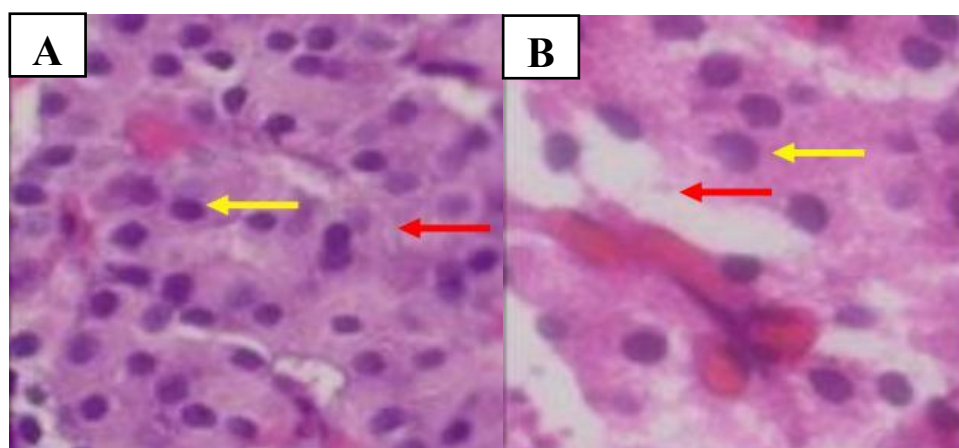
Paparan kronik terhadap konsentrasi glukosa atau fruktosa yang tinggi dapat menurunkan viabilitas sel β pankreas melalui mekanisme stres oksidatif. Stres oksidatif yang diinduksi oleh hiperglikemia telah terbukti menyebabkan *mitochondrial permeability transition* dan kematian sel pada sel endotel manusia⁴⁸. Pada kelompok HFHF, penurunan jumlah sel β pankreas disebabkan oleh tingginya konsumsi lemak dan fruktosa. Temuan ini sejalan dengan studi sebelumnya yang menyatakan bahwa pemberian diet tinggi fruktosa (HFR) berkontribusi terhadap peningkatan berat badan dan proses lipolisis, yang secara berkelanjutan meningkatkan pelepasan asam lemak bebas yang bersifat apoptotik^{47,49,50}. Selain itu, fruktosa diketahui sangat efisien dalam menginduksi proses *De Novo Lipogenesis* (DNL) melalui penyediaan atom karbon untuk pembentukan gliserol dan asil-KoA. Proses ini menghasilkan sintesis trigliserida dan akumulasi lemak di hati, yang pada akhirnya menurunkan sensitivitas terhadap insulin⁵⁰. Hasil penelitian ini konsisten dengan berbagai studi sebelumnya yang menunjukkan bahwa tikus yang diberikan diet mengandung 30% fruktosa mengalami metabolik sindrom. Penambahan fruktosa hingga 60% dalam pakan selama delapan minggu menyebabkan terjadinya hiperurisemia, hipertrigliseridemia, serta peningkatan *Very Low-Density Lipoprotein* (VLDL), yang kemudian berujung pada hiperinsulinemia dan apoptosis sel β pankreas¹⁰.

Histopatologi Pankreas

Pewarnaan Hematoxylin Eosin pada organ pankreas digunakan untuk menentukan tingkat kerusakan pada pulau *Langerhans* akibat diet tinggi lemak dan fruktosa (HFHF). Pulau *Langerhans* merupakan kumpulan sel endokrin yang tersebar di dalam kelenjar eksokrin pankreas, dengan tiga jenis utama sel yang terdapat di dalamnya, yaitu sel alfa, beta, dan delta.

Kerusakan pada struktur dan morfologi pulau *Langerhans* sering kali disebabkan oleh perubahan metabolik sistemik akibat resistensi insulin dan hilangnya kontrol terhadap kadar glukosa. Selain itu, perubahan ukuran pulau *Langerhans*, baik peningkatan (hipertrofi) maupun penurunan (atrofi), dipicu oleh hiperinsulinisme yang berkontribusi terhadap resistensi insulin³⁵.

Berdasarkan Gambar 3, hasil histopatologi pankreas menunjukkan adanya kerusakan pada pulau *Langerhans*. Pada kelompok HFHF, struktur pulau *Langerhans* menjadi tidak beraturan dengan beberapa bagian tampak kosong. Kepadatan sel serta inti sel pada pulau *Langerhans* mengalami penurunan hingga akhirnya menghilang. Sebaliknya, hasil histopatologi kelompok kontrol menunjukkan bahwa morfologi dan struktur pulau *Langerhans* tetap normal, dengan distribusi sel yang homogen. Tidak ditemukan adanya kerusakan pada sel maupun struktur organ ini, serta kepadatan dan bentuk pulau *Langerhans* terlihat baik dan hampir berbentuk bulat sempurna. Hal ini mengindikasikan bahwa diet tinggi lemak dan fruktosa menyebabkan perubahan histopatologi pankreas pada kelompok HFHF. Kerusakan yang diamati pada kelompok ini juga disebabkan oleh aktivitas apoptosis sel yang memengaruhi kepadatan sel beta pankreas. Selain itu, peningkatan asam lemak bebas berkontribusi terhadap apoptosis sel beta, peningkatan ekspresi MCP-1, produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS), serta hiperinsulinemia, yang terjadi akibat konsumsi diet HFHF²². Studi sebelumnya yang dilakukan oleh Mutiyani et al. tahun 2014 dengan pemberian diet tinggi lemak (HFD) pada hewan percobaan menunjukkan bahwa diet tinggi lemak dapat menyebabkan penurunan kepadatan sel beta pankreas. Tikus yang diberi HFD menunjukkan kepadatan sel beta lebih rendah, yaitu 57,98 mm², dibandingkan dengan tikus yang mengonsumsi diet normal, yang memiliki kepadatan sebesar 86,95 mm². Jumlah sel beta memengaruhi kepadatan total pulau *Langerhans*, sehingga semakin banyak jumlah sel beta, semakin tinggi nilai kepadatan sel beta tersebut⁵².



Gambar 3. Deskripsi histopatologi pankreas pada kelompok normal (A) dan kelompok HFHF (B), menggunakan metode pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE) dengan pembesaran 400x. Panah kuning dan merah masing-masing menunjukkan sel beta pankreas serta ruang kosong pada pulau *Langerhans*. Jaringan histopatologi pada kelompok normal menunjukkan kepadatan sel yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok HFHF.

Studi ini memberikan wawasan berharga mengenai dampak metabolik dari diet tinggi lemak dan fruktosa (HFHF), terutama dalam mengganggu sensitivitas insulin serta merusak sel beta pankreas. Penggunaan model hewan memungkinkan kondisi yang terkontrol serta pengukuran langsung terhadap penanda metabolik utama. Namun, temuan ini mungkin tidak sepenuhnya dapat diterjemahkan ke dalam fisiologi manusia, sehingga penelitian lebih lanjut melalui uji klinis diperlukan untuk memvalidasi hasil yang diperoleh.

KESIMPULAN

Studi mengenai kelainan metabolik pada model hewan secara signifikan berkontribusi terhadap pemahaman tentang obesitas dan sensitivitas insulin. Dalam model ini, berbagai aspek fungsi metabolik dapat diukur secara langsung, seperti kadar glukosa dan insulin, serta perhitungan indeks HOMA-IR untuk menilai tingkat sensitivitas insulin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsumsi diet tinggi lemak dan fruktosa (HFHF) dalam jangka panjang berkontribusi terhadap peningkatan kadar glukosa dan penurunan sensitivitas insulin, sementara kadar insulin menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan antar kelompok. Selain itu, observasi histopatologi menunjukkan bahwa diet HFHF menyebabkan kerusakan pada pulau *Langerhans* dan mengurangi jumlah sel beta pankreas. Menariknya, kelompok kontrol menunjukkan indikator metabolik yang lebih baik dibandingkan kelompok HFHF, yang semakin menegaskan dampak negatif dari diet tinggi lemak dan fruktosa terhadap fungsi metabolik.

ACKNOWLEDGEMENT

Penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada Badan Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (BPPM), Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, atas dukungan pendanaan yang diberikan untuk penelitian ini. Para penulis juga mengungkapkan apresiasi yang mendalam kepada Pusat Publikasi Ilmiah dan Keberlanjutan Jurnal (PPIKJ), Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LPPM), Universitas Brawijaya, atas bantuan dan bimbingan yang berharga dalam penyusunan manuskrip ini.

KONFLIK KEPENTINGAN DAN SUMBER PENDANAAN

Seluruh penulis tidak memiliki konflik kepentingan dalam artikel ini. Penelitian ini didanai oleh Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya dengan nomor kontrak 28/SK/UN10.7/PN/BPPM/2017.

KONTRIBUSI PENULIS

ADK: menyusun konsep penelitian, melakukan penelitian, menyusun metodologi, penulisan draf asli dan penyuntingan; LSK dan AH: melakukan penelitian dan analisis data; ES: menyusun metodologi, analisis formal, review draft; IK dan DH: menyusun konsep besar penelitian, menyusun metodologi, supervisi, mereview draft artikel.

REFERENSI

1. Al-Goblan AS, Al-Alfi MA, Khan MZ. Mechanism linking diabetes mellitus and obesity. *Diabetes, Metab Syndr Obes Targets Ther*. 2014; **7**: 587-91.

2. World Health Organization. World health statistics 2021, monitoring health for the SDGs. Vol. **7**. 2021. 6 p. available from <https://www.who.int/publications/i/item/9789240027053>
3. Abdul M, Khan B, Hashim MJ, King JK, Govender RD, Mustafa H, et al. Epidemiology of type 2 diabetes - global burden of disease and forecasted trends. *J Epidemiol Glob Health*. 2020; **10**: 107-11. <https://doi.org/10.2991/jegh.k.191028.001>
4. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Laporan Nasional Riset Kesehatan Dasar. Menteri Kesehatan RI. 2018;1-582.
5. Pereira RM, Botezelli JD, da Cruz Rodrigues KC, Mekary RA, Cintra DE, Pauli JR, et al. Fructose consumption in the development of obesity and the effects of different protocols of physical exercise on the hepatic metabolism. *Nutrients*. 2017;9(4):1-21. <https://doi.org/10.3390/nu9040405>
6. Stanhope KL, Schwarz JM, Keim NL, Griffen SC, Bremer AA, Graham JL, et al. Consuming fructose-sweetened, not glucose-sweetened, beverages increases visceral adiposity and lipids and decreases insulin sensitivity in overweight/obese humans. *J Clin Invest*. 2009;119(5):1322-34. <https://doi.org/10.1172/JCI37385>
7. Alwahsh SM, Dwyer BJ, Forbes S, van Thiel DH, Starkey Lewis PJ, Ramadori G. Insulin production and resistance in different models of diet-induced obesity and metabolic syndrome. *Int J Mol Sci*. 2017; **18**(2). <https://doi.org/10.3390/ijms18020285>
8. Alrouji M, Al-Kuraishy HM, Al-Gareeb AI, Alexiou A, Papadakis M, Saad HM, et al. The potential role of human islet amyloid polypeptide in type 2 diabetes mellitus and alzheimer's diseases. *Diabetol Metab Syndr*. 2023; **15**(1): 1-16. <https://doi.org/10.1186/s13098-023-01082-1>
9. Speakman J, Hambly C, Mitchell S, Król E. The contribution of animal models to the study of obesity. *Lab Anim*. 2008; **42**(4): 413-32. <https://doi.org/10.1258/la.2007.006067>
10. Yang Y, Jr. DLS, Keating KD, Allison DB, Nagy TR. Variations in body weight, food intake and body composition after long-term high-fat diet feeding in C57BL/6J Mice. *Obesity (Silver Spring)*. 2015; **22**(10): 2147-55. <https://doi.org/10.1002/oby.20811>
11. Roza NAV, Possignolo LF, Palanch AC, Gontijo JAR. Effect of long-term high-fat diet intake on peripheral insulin sensibility, blood pressure, and renal function in female rats. *Food Nutr Res*. 2016; **60**: 1-10. <https://doi.org/10.3402/fnr.v60.28536>
12. Huang BW, Chiang MT, Yao HT, Chiang W. The effect of high-fat and high-fructose diets on glucose tolerance and plasma lipid and leptin levels in rats. *Diabetes, Obes Metab*. 2004; **6**(2): 120-6. <https://doi.org/10.1111/j.1462-8902.2004.00323.x>

13. Lozano I, Van Der Werf R, Bietiger W, Seyfritz E, Peronet C, Pinget M, et al. High-fructose and high-fat diet-induced disorders in rats: Impact on diabetes risk, hepatic and vascular complications. *Nutr Metab* [Internet]. 2016; **13**(1): 1-13. <https://doi.org/10.1186/s12986-016-0074-1>
14. The British Nutrition Foundation. Oils and Fats in the Diet. 2009.
15. Handayani D, Febrianingsih E, Kurniawati AD, Kusumastuty I, Nurmalitasari S, Widyanto RM, et al. High-fructose diet initially promotes increased aortic wall thickness, liver steatosis, and cardiac histopathology deterioration, but does not increase body fat index. *J Public Health Res*. 2021; **10**(2): 2181. <https://doi.org/10.4081/jphr.2021.2181>
16. Kusumastuty I, Sembiring F, Andarini S, Handayani D. High-fat-high-fructose diet decreases hippocampal neuron number in male rats. *Indones Biomed J*. 2020; **12**(1): 1-7. <https://doi.org/10.18585/inabj.v12i1.865>
17. Antunes LC, Elkfury JL, Jornada MN, Foletto KC, Bertoluci MC. Validation of HOMA-IR in a model of insulin-resistance induced by a high-fat diet in Wistar rats 1. 2016; **60**(2): 138-42. <https://doi.org/10.1590/2359-3997000000169>
18. Slaoui M, Fiette L. Histopathology procedures: from tissue sampling to histopathological evaluation. *Methods Mol Biol*. 2011; **691**: 69-82. https://doi.org/10.1007/978-1-60761-849-2_4
19. Bocarsly ME, Powell ES, Avena NM, Hoebel BG. High-fructose corn syrup causes characteristics of obesity in rats: Increased body weight, body fat and triglyceride levels. *Pharmacol Biochem Behav*. 2010; **97**(1): 101-6. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2010.02.012>
20. Namekawa J, Takagi Y, Wakabayashi K, Nakamura Y, Watanabe A, Nagakubo D, et al. Effects of high-fat diet and fructose-rich diet on obesity, dyslipidemia and hyperglycemia in the WBN/Kob-Lepr^{fa} rat, a new model of type 2 diabetes mellitus. *J Vet Med Sci*. 2017 Jun 10; **79**(6): 988-991. <https://doi.org/10.1292/jvms.17-0136>
21. Ferreira EDS, Silva MA, Demonte A, Neves VA. Soy β -conglycinin (7S globulin) reduces plasma and liver cholesterol in rats fed hypercholesterolemic diet. *J Med Food*. 2011; **14**(1-2): 94-100. <https://doi.org/10.1089/jmf.2009.0204>
22. Hariri N, Thibault L. High-fat diet-induced obesity in animal models. *Nutr Res Rev*. 2010; **23**(2): 270-99.
23. Licholai JA, Nguyen KP, Fobbs WC, Schuster CJ, Ali MA, Kravitz A V. Why do mice overeat high-fat diets? how high-fat diet alters the regulation of daily caloric intake in mice. *Obesity* (Silver Spring). 2018 Jun; **26**(6): 1026-33. <https://doi.org/10.1002/oby.22195>
24. Engel MMS, Kusumastuty I, Anita KW, Handayani D. The effect of high fat high fructose diet (modification of ain-93m) on nuclear factor kappa beta expression in the liver tissue of male sprague dawley rats. *J Phys Conf Ser* [Internet]. 2019 Nov 1; **1374**(1): 012042. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1374/1/012042>
25. Malafaia AB, Afonso P, Nassif N, Marcondes P, Ariede BL, Sue KN, et al. Obesity induction with high fat sucrose in rats. *Arq Bras Cir Dig*. 2013; **26 Suppl 1**: 17-21. <https://doi.org/10.1590/s0102-67202013000600005>
26. Kylie Kavanagh. Trans fat leads to weight gain even on same total calories, animal study shows. 2006. Available from: <https://www.sciencedaily.com/releases/2006/06/060619133024.htm>
27. Xu Y, Zhu W, Ge Q, Zhou X. Effect of different types of oil intake on the blood index and the intestinal flora of rats. *AMB Express* [Internet]. 2022; **12**(1). <https://doi.org/10.1186/s13568-022-01387-w>
28. Kubant R, Poon AN, Sánchez-Hernández D, Domenichiello AF, Huot PSP, Pannia E, et al. A comparison of effects of lard and hydrogenated vegetable shortening on the development of high-fat diet-induced obesity in rats. *Nutr Diabetes*. 2015; **5**(12): e188. <https://doi.org/10.1038/nutd.2015.40>
29. Martire SI, Holmes N, Westbrook RF, Morris MJ. Altered feeding patterns in rats exposed to a palatable cafeteria diet: increased snacking and its implications for development of obesity. *PLoS One*. 2013; **8**(4): e60407. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0060407>
30. Reppucci CJ, Petrovich GD. Learned food-cue stimulates persistent feeding in sated rats. *Appetite*. 2012; **59**(2): 437-47. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2012.06.007>
31. Atrooz F, Alkadhi KA, Salim S. Understanding stress: Insights from rodent models. *Curr Res Neurobiol*. 2021; **2** (April): 100013. <https://doi.org/10.1016/j.crneur.2021.100013>
32. Chao, AM., Jastreboff, AM., White, MA., Grilo, CM., Sinha R. Stress, cortisol, and other appetite-related hormones: Prospective prediction of 6-month changes in food cravings and weight. *Obes* (Silver Spring). 2017; **25**(4): 713-20. <https://doi.org/10.1002/oby.21790>
33. Mayasari, DR., Rahayuni, A. Pengaruh pemberian serbuk biji labu kuning (cucurbita moschata) terhadap penurunan kolesterol ldl pada tikus wistar hiperkolesterolemia. *Journal of Nutrition College*. 2014; **3**: 432-9. Available Online: <http://ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/jnc>
34. Suzanne Wakim & Mandeep Grewal. Digestion and Absorption. Available online: [https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Human_Biology/Human_Biology_\(Wakim_and_Grewal\)/18%3A_Digestive_System/18.3%3A_Digestion_and_Absorption](https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Human_Biology/Human_Biology_(Wakim_and_Grewal)/18%3A_Digestive_System/18.3%3A_Digestion_and_Absorption).
35. Suzuki K, Jayasena CN, Bloom SR. Obesity and appetite control. *Exp Diabetes Res*. 2012; **2012**: 824305. <https://doi.org/10.1155/2012/824305>
36. Fellmann L, Nascimento AR, Tibiriça E, Bousquet P. Murine models for pharmacological studies of the metabolic syndrome. *Pharmacol Ther*. 2013

- Mar; **137**(3): 331-40.
<https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2012.11.004>
37. Feng H, Zhang S, Wan JMF, Gui L, Ruan M, Li N, et al. Polysaccharides extracted from *Phellinus linteus* ameliorate high-fat high-fructose diet induced insulin resistance in mice. *Carbohydr Polym.* 2018; **200**: 144-53. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.07.086>
38. D'Angelo G, Elmarakby AA, Pollock DM, Stepp DW. Fructose feeding increases insulin resistance but not blood pressure in Sprague-Dawley rats. *Hypertension.* 2005; **46**(4): 806-11. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000182697.39687.34>
39. Tappy L, Le KA. Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity. *Physiol Rev* [Internet]. 2010; **90**(1): 23-46. <https://doi.org/10.1152/physrev.00019.2009>
40. Ozcan SG, Suna S, Inan S, Bagdas D, Tamer Ce, Copur OU, et al. Effects of long-term consumption of high fructose corn syrup containing peach nectar on body weight gain in sprague dawley rats. *Food Sci Technol.* 2016; **37** (2). <https://doi.org/10.1590/1678-457X.25416>
41. Shawky NM, Shehatou GSG, Abdel Rahim M, Suddek GM, Gameil NM. Levocetirizine ameliorates high fructose diet-induced insulin resistance, vascular dysfunction and hepatic steatosis in rats. *Eur J Pharmacol* [Internet]. 2014; **740**: 353-63. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.07.021>
42. Malta A, Saavedra LPJ, Raposo SR, Lopes GKG, Fernandes MD, Barbosa LF, et al. Impact of dietary sugars on β -Cell function. *Diabetology.* 2023; **4**(2): 178-83. <https://doi.org/10.3390/diabetology4020017>
43. Tranchida F, Tchiakpe L, Rakotoniaina Z, Deyris V, Ravion O, Hiol A. Long-term high fructose and saturated fat diet affects plasma fatty acid profile in rats. *J Zhejiang Univ Sci B.* 2012 Apr; **13**(4): 307-17. <https://doi.org/10.1631/jzus.B1100090>
44. Ed A, Km OS, Ramasamy R. Insulin resistance : metabolic mechanisms and consequences in the heart . *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012 Sep; **32**(9): 2068-2076. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.111.241984>
45. Silva SB, Sarmento IB, bargut TCL, Suuza-Mello V, et al. Animal models of nutritional induction of type 2 diabetes mellitus. *Int J Morphol.* 2014; **32**(1): 279-93. <https://doi.org/10.4067/S0717-95022014000100046>
46. Singh Y, Garg MK, Tandon N, Marwaha RK. A Study of insulin resistance by HOMA-IR and its cut-off value to identify metabolic syndrome in urban Indian adolescents. *JCRPE J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2013; **5**(4): 245-51. <https://doi.org/10.4274/Jcrpe.1127>
47. Saltiel AR, Olefsky JM. Inflammatory mechanisms linking obesity and metabolic disease. *J Clin Invest.* 2017; **127**(1): 4-7. <https://doi.org/10.1172/JCI92035>
48. Lablanche S, Cottet-Rousselle C, Lamarche F, Benhamou PY, Halimi S, Leverve X, et al. Protection of pancreatic INS-1 β -cells from glucose- and fructose-induced cell death by inhibiting mitochondrial permeability transition with cyclosporine A or metformin. *Cell Death Dis.* 2011; **2**(3): 1-6. <https://doi.org/10.1038/cddis.2011.15>
49. Pessin JE, Saltiel AR. Signaling pathways in insulin action: Molecular targets of insulin resistance. *J Clin Invest.* 2000; **106**(2): 165-9. <https://doi.org/10.1172/JCI10582>
50. Lustig RH. The fructose epidemic. *The Bariatrician.* 2009;Spring(1):10-9.
51. M M S Engel, I Kusumastuty, K W Anita and D Handayani. The effect of high fat high fructose diet (modification of ain-93m) on nuclear factor kappa beta expression in the liver tissue of male sprague dawley rats the effect of high fat high fructose diet (modification of ain-93m) on nuclear factor kappa bet. *J. Phys.: Conf. Ser.* 2019; **1374**: 012042. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1374/1/012042>
52. Mutiyani M, Soeatmadji DW, Sunindya BR. Efek diet tinggi karbohidrat dan diet tinggi lemak terhadap kadar glukosa darah dan kepadatan sel beta pankreas pada tikus wistar. *Indones J Hum Nutr.* 2014; **1**(2): 106-13. Available from: <https://ijhn.ub.ac.id/index.php/ijhn/article/view/106/0>