

INDUKSI SUKROSA 4% MENYEBABKAN KERUSAKAN JARINGAN RETINA IKAN ZEBRA DEWASA (*Danio rerio*)

Nurul Fauziah¹, Dini Sri Damayanti^{2*}, Ariani Ratri Dewi²

¹ Mahasiswa Prodi Kedokteran Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

² Departemen Fisiologi Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Sukrosa merupakan makronutrien disakarida yang terdiri dari glukosa dan fruktosa. Konsumsi sukrosa secara kronis dan berlebih dapat memicu terjadinya DM tipe 2 yang ditandai dengan hiperglikemia. Hiperglikemia kronis berkontribusi terjadinya komplikasi retinopati diabetik (RD). RD dikaitkan dengan hilangnya sel ganglion retina dan kematian pada sel ganglion yang mengakibatkan penipisan lapisan *Inner Plexiform Layer* (IPL) sehingga mengganggu fungsi penglihatan. Penelitian bertujuan untuk membuktikan efek induksi sukrosa dengan dosis 1%, 2% dan 4% terhadap kerusakan retina ikan zebra dewasa.

Metode: Penelitian dilakukan secara laboratoris dengan *post test control group design*. Subyek menggunakan ikan zebra jantan dewasa, terdiri dari kelompok kontrol (P0), kelompok perlakuan sukrosa 1% (P1), 2% (P2) dan 4% (P4). Setiap kelompok terdiri dari 30 ekor yang diinduksi selama 28 hari. Proses euthanasia melalui perendaman dengan air es selama 10 menit. Pengambilan bola mata dilanjutkan dengan pembuatan preparat histologi jaringan retina dengan pewarnaan HE. Apoptosis sel ganglion dihitung secara manual perlapang pandang, sedangkan ketebalan IPL diukur menggunakan *software image J*. Analisis data menggunakan *One way ANOVA* dengan $p < 0.05$.

Hasil: Induksi sukrosa pada kelompok P1, P2, P3 selama 28 hari menyebabkan peningkatan apoptosis sel ganglion sebesar $(91,00 \pm 6,66)$, $(94,00 \pm 2,28)$, $(129,17 \pm 10,79)$ dibandingkan P0 $(15,00 \pm 5,65)$ dengan $p < 0.05$, dan penurunan ketebalan IPL sebesar $(96,17 \pm 8,65)$, $(90,17 \pm 12,54)$, $(72,17 \pm 7,11)$ dibandingkan P0 $(131,33 \pm 16,15)$ dengan $p < 0.05$. Dosis P1 dan P2 tidak berbeda secara signifikan namun berbeda secara signifikan dengan P3 terhadap jumlah sel yang mengalami apoptosis dan ketebalan IPL. Semakin tinggi dosis semakin besar efek yang ditimbulkan.

Kesimpulan: Induksi sukrosa 4% meningkatkan kerusakan retina pada ikan zebra (*D. rerio*)

Kata kunci: Ikan zebra (*D. rerio*), sukrosa, retina.

*Koresponden: Dini Sri Damayanti

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

Jl. MT Haryono 193 Malang, Jawa Timur Indonesia 65144

+62-341-57892

dinisridamayanti@unisma.ac.id

EFFECT OF SUCROSE IMMERSION ON RETINAL TISSUE DAMAGE OF ADULT ZEBRAFISH (*Danio rerio*)

Nurul Fauziah¹, Dini Sri Damayanti^{2*}, Ariani Ratri Dewi²

¹ Medical student, Faculty of Medicine, University of Islam Malang

² Department of Physiology, Faculty of Medicine, University of Islam Malang

ABSTRACT

Introduction: Sucrose is a disaccharide macronutrient consisting of glucose and fructose. Chronic and excessive consumption of sucrose can trigger type 2 DM characterized by hyperglycemia. Chronic hyperglycemia contributes to complications of diabetic retinopathy (DR). DR is associated with loss of retinal ganglion cells and death in ganglion cells resulting in thinning of the Inner Plexiform Layer (IPL) layer thus impairing vision function. The study aimed to prove the effect of sucrose induction at doses of 1%, 2% and 4% against retinal damage of adult zebrafish.

Method: The research was conducted in a laboratory with post test control group design. Subjects using adult male zebrafish, consisting of a control group (P0), sucrose treatment groups of 1% (P1), 2% (P2) and 4% (P4). Each group consisted of 30 heads induced for 28 days. The euthanasia process is through soaking with ice water for 10 minutes. The collection of the eyeball is followed by making histological preparations of retinal tissue with HE staining. Ganglion cell apoptosis was calculated manually by field of view, while IPL thickness was measured using image software J. Data analysis using One way ANOVA with $p < 0.05$.

Results: Sucrose induction in the P1, P2, P3 groups for 28 days led to an increase in ganglion cell apoptosis of (91.00 ± 6.66) , (94.00 ± 2.28) , (129.17 ± 10.79) compared to P0 (15.00 ± 5.65) with $p < 0.05$, and a decrease in IPL thickness of (96.17 ± 8.65) , (90.17 ± 12.54) , (72.17 ± 7.11) compared to P0 (131.33 ± 16.15) with $p < 0.05$. The doses of P1 and P2 did not differ significantly but differed significantly from P3 in the number of cells undergoing apoptosis and IPL thickness. The higher the dose, the greater the effect.

Conclusions: 4% sucrose induction increases retinal damage in zebrafish (*D. rerio*)

Keywords: Zebrafish (*D. rerio*), sucrose, retinal.

*Correspondence: Dini Sri Damayanti

Faculty of Medicine, University of Islam Malang

Jl. MT Haryono 193 Malang, East Java Indonesia 65144

+62-341-57892

dinisridamayanti@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Sukrosa (gula) adalah dikasariida yang terdiri dari glukosa dan fruktosa yang merupakan makronutrien penting untuk mempertahankan aktivitas dan fungsi fisiologis normal (Ranjan, 2018). Glukosa akan digunakan terlebih dahulu dari lingkungan ekstraseluler ke intraseluler oleh transporter Na⁺/glukosa ko-transporter difusi terfasilitasi (GLUT), fruktosa akan disimpan dalam jaringan adiposa. Diet tinggi sukrosa terutama makanan yang mengandung glukosa dan fruktosa yang berlebihan dalam jangka panjang dapat menyebabkan terjadinya obesitas dan Diabetes Mellitus (DM) (Laville, 2009).

DM adalah penyakit metabolic kronis yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa darah. Seseorang dikatakan telah mengalami hiperglikemia jika kadar glukosa darah puasa >126 mg/dL atau kadar glukosa darah sewaktu >200 mg/dL (Perkeni, 2021). Jenis diabetes yang paling umum yaitu DM tipe 2 terjadi akibat resistensi insulin di jaringan atau produksi insulin tidak dapat memenuhi kebutuhan (Farid *et al.*, 2014).

Prevalensi DM secara global pada orang dewasa berusia 20-79 tahun adalah 6,4% atau 285 juta pada tahun 2010, dan akan meningkat menjadi 7,7% atau 439 juta pada tahun 2030 (Perkeni, 2021). Indonesia menempati urutan ke 5 di dunia sebagai negara dengan jumlah penderita DM tipe 2 terbanyak. WHO memperkirakan kenaikan jumlah pasien DM tipe 2 di Indonesia dari 8,4 juta pada tahun 2000 menjadi sekitar 21,3 juta pada tahun 2030 (WHO, 2016), dan international diabetes federation (IDF) memperkirakan pada tahun 2019-2030 mengalami peningkatan dari 10,7 juta menjadi 13,7 juta (IDF, 2019), dengan prevalensi penderita DR pada pasien DM di seluruh dunia diperkirakan sebesar 34,6% (93 juta orang) (Mitchell *et al.*, 2008).

Hiperglikemi merupakan faktor resiko yang berkontribusi terhadap terjadinya perkembangan Diabetik retinopati (Yang *et al.*, 2024). Hiperglikemia kronis meningkatkan produksi metabolit eksitotoksik (glutamat, branch chain amino acid, dan homosistein) yang berpotensi menyebabkan kerusakan pada neuron. Peningkatan metabolit ini mengaktivasi beberapa jalur metabolik seperti protein kinase C, AGEs (Advance Glycation End Products), dan jalur hexaminase yang mengakibatkan peningkatan stres oksidatif dan penurunan kadar faktor-faktor neutropik sehingga terjadi apoptosis pada sel ganglion retina (Ola *et al.*, 2013). Penurunan jumlah sel saraf akibat apoptosis berkontribusi terhadap perubahan morfologi struktur dan ketebalan retina yang berhubungan dengan retinopati. Retina yang iskemia menyebabkan

peningkatan ekspresi faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF), menghasilkan pembentukan pembuluh darah baru disertai struktur sementara fibrogial, mendorong proliferasi jaringan fibrovaskular baru dari permukaan retina ke dalam rongga vitreal (Gleeson *et al.*, 2007). Kerusakan sawar pembuluh darah di retina yang menyebabkan kebocoran dan penumpukan cairan di lapisan intraretinal juga dapat menyebabkan menurunnya fungsi macula (Septadina, 2015). Makula atau *macula lutea* merupakan proporsi posterior retina tersusun atas dua lapis atau lebih sel ganglion yang berdiameter 5-6 mm dan terletak di antara arcus vaskularisasi temporal, bagian tengah (fovea sentralis) kaya akan pigmen xantofil dan sel-sel fotoreseptor, khususnya sel kerucut (Miden *et al.*, 1997). Menurunnya fungsi retina akan selaras dengan penurunan fungsi makula (Septadina, 2015). Jika hiperglikemia kronis tidak diobati, kehilangan penglihatan biasanya akan terjadi dalam waktu dua tahun setelah timbulnya retinopati proliferatif (Gleeson *et al.*, 2007 dan Septadina, 2015).

Ikan zebra (*D.rerio*) memiliki kesamaan genetik, anatomi, dan fisiologis yang tinggi dengan manusia. Hal ini ditunjukkan dengan perbandingan genom ikan zebra dan manusia mencapai 70% gen yang sama. 84% gen manusia yang diketahui terkait dengan penyakit manusia juga ditemukan pada ikan zebra (Shehwana *et al.*, 2019). Percobaan yang sebelumnya terbatas pada studi retina keseluruhan karena tantangan dalam model yang didominasi sel batang pada hewan pengerat, menjadikan ikan zebra model yang bagus untuk studi retina karena retina ikan zebra kaya akan sel kerucut yang memungkinkan untuk percobaan. Ikan zebra memberikan model yang lebih cocok untuk mempelajari patologi pada mata (Jaroszynska *et al.*, 2021).

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh gleeson *et al* (2007) terkait ikan zebra sebagai model retinopati diabetes didapatkan hasil adanya penurunan ketebalan pada lapisan IPL *inner pexiform layer* (IPL) secara signifikan sekitar 60% akibat penambahan glukosa 1% pada air selama 28 hari, dan penelitian yang dilakukan oleh singh *et al* (2019) terhadap ikan zebra sebagai model retinopati diabetes yang menggunakan embrio ikan zebra dengan paparan glukosa 4% dan 5% secara bergantian selama 5 hari menunjukkan perubahan umum pada morfologi mata, dan penurunan ketebalan IPL secara signifikan (29,4%) pada lima dpf dan peningkatan signifikan dalam ketebalan INL (42,3% untuk 4%). Penelitian yang dilakukan oleh sharma terkait regenerasi jaringan retina ikan zebra dimana sukrosa dapat meningkatkan ROS yang

menyebabkan apoptosis pada sel ganglion retina. (sharma *et al.*, 2019).

Berdasarkan fakta-fakta tersebut diatas, maka penelitian dilakukan untuk membuktikan pengaruh induksi sukrosa selama 28 hari terhadap jumlah apoptosis sel ganglion dan ketebalan IPL retina ikan zebra secara *in vivo*.

METODE PENELITIAN

Desain, Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan secara laboratoris, dengan *post test control group design* untuk mengetahui perubahan histologi retina ikan zebra. Tahap pemeliharaan, aklimatisasi, pembedahan ikan uji, dan pengambilan retina dilaksanakan di Laboratorium Budidaya Ikan, Divisi Reproduksi Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan (FPIK), Universitas Brawijaya, Malang. Pembuatan preparat histologi retina, pengamatan dan skoring apoptosis dan ketebalan IPL retina dilaksanakan di Laboratorium Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran (FK), Universitas Brawijaya, Malang. Penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus-Desember 2023.

Perlakuan Hewan Coba

Penelitian ini menggunakan ikan zebra (*D. rerio*) jantan dewasa, berat rata-rata 6 sampel ikan 5-9 gram, usia 4-5 bulan. Dalam kondisi sehat dan tidak cacat. Kelompok penelitian terdiri dari kelompok kontrol (P0), kelompok perlakuan sukrose dosis 1% (P1), dosis 2% (P2) dan dosis 4 % (P3) dalam 2 liter air (Dorsemans *et al.*, 2017). Masing-masing kelompok terdiri dari 30 ekor ikan zebra. Air induksi diganti setiap 2 hari sekali untuk menghindari pertumbuhan bakteri atau mikroorganisme lainnya (Gleeson *et al.*, 2007)

Proses aklimatisasi ikan zebra diadaptasikan dengan kondisi laboratorium yang konstan (cahaya 14 jam, penyinaran gelap 10 jam, pakan, air, 28°C) selama 1 minggu, dengan frekuensi pemberian pakan pelet 3 kali setiap hari yaitu pagi, siang dan sore. Setelah dilakukan aklimatisasi, dilakukan pemberian induksi sukrosa selama 28 hari pada hewan coba ikan zebra. Pada akhir perlakuan di hari ke 29 sebelum dilakukan pembedahan ikan zebra dipuasakan selama lebih dari 12 jam, selanjutnya ikan zebra dieutanasia menggunakan air dingin selama 10 menit. Setelah ikan zebra tidak sadar, ikan dikorbankan untuk dilakukan pembedahan dan pengambilan organ matanya. Seluruh mata dikeluarkan dari tubuh ikan dengan cara batang otak dibelah dengan sayatan rostral-kaudal melalui otak. Jaringan retina ikan zebra diblok parafin untuk dilakukan preparasi histologi dengan pewarnaan HE.

Pembuatan Preparat Histologi Retina dengan Pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE).

Mata diinkubasi dalam larutan buffer fosfat formalin 10% pada suhu selama satu minggu. Mata (trimming) diiris dengan ketebalan $\pm 3 \mu\text{m}$ agar dapat dimasukkan dalam kaset untuk diproses dalam tissue prosesor. Selanjutnya dilakukan proses dehidrasi dengan alkohol 70%, 80% dan 96% masing-masing selama 2 jam. Slide jaringan dimasukkan ke dalam paraffin cair dengan suhu 56°C selama 2 jam sebanyak 2 kali. Pewarnaan dilakukan dengan cara preparate di atas gelas objek direndam dalam xylol I, II dan III masing-masing selama 5 menit. Kemudian preparate direndam dalam alkohol 96%, 80% dan 70% masing-masing 5 menit, selanjutnya dicuci dengan aquades, kemudian direndam dalam Hematoxylin Eosin selama 7 menit. Preparat dikeringkan dan dilakukan mounting dengan menggunakan entelan (lem) (Isaac *et al.*, 2023).

Perhitungan Jumlah Apoptosis Sel Ganglion retina Ikan Zebra (*D. rerio*)

Preparat retina yang sudah dilakukan pewarnaan HE kemudian dilakukan perhitungan apoptosis sel ganglion retina menggunakan mikroskop trinokuler dengan pembesaran 400x pada 10 lapang pandang untuk setiap preparat. Perhitungan jumlah apoptosis sel ganglion retina dilakukan secara manual dengan bantuan aplikasi *Image J* dan diamati oleh 3 orang pengamat dengan metode *blind*. Apoptosis sel ganglion ditandai dengan inti sel yang mengalami piknotik/inti mengecil dan apoptosis sel muncul sebagai massa bulat/oval dengan sitoplasma eosinofilik gelap serta fragmen inti kromatin padat (Lim *et al.*, 2020). Perhitungan apoptosis sel ganglion retina dengan rumus proporsi yaitu (%) $\frac{a}{b} \times 100\%$.

Keterangan:

a = Jumlah apoptosis sel ganglion dalam 1 lapang pandang

b = Jumlah keseluruhan sel ganglion dalam 1 lapang pandang

Hasil penghitungan dari 3 pengamat selanjutnya dirata-rata dan dilakukan analisa data.

Perubahan Ketebalan Lapisan Inner Plexiform Layer (IPL) Retina Ikan Zebra (*D. rerio*)

Preparat retina yang telah dilakukan pewarnaan HE dilakukan pengamatan menggunakan mikroskop trinokuler dengan pembesaran 400x, preparat difoto dan di pindahkan ke *image j* untuk pengukuran ketebalan lapisan pleksiform dalam (IPL), dihitung dari 10 lapang pandang oleh 3 orang yang berbeda. Data hasil perhitungan 3 pengamat dirata-rata untuk mendapatkan jumlah hasilnya.

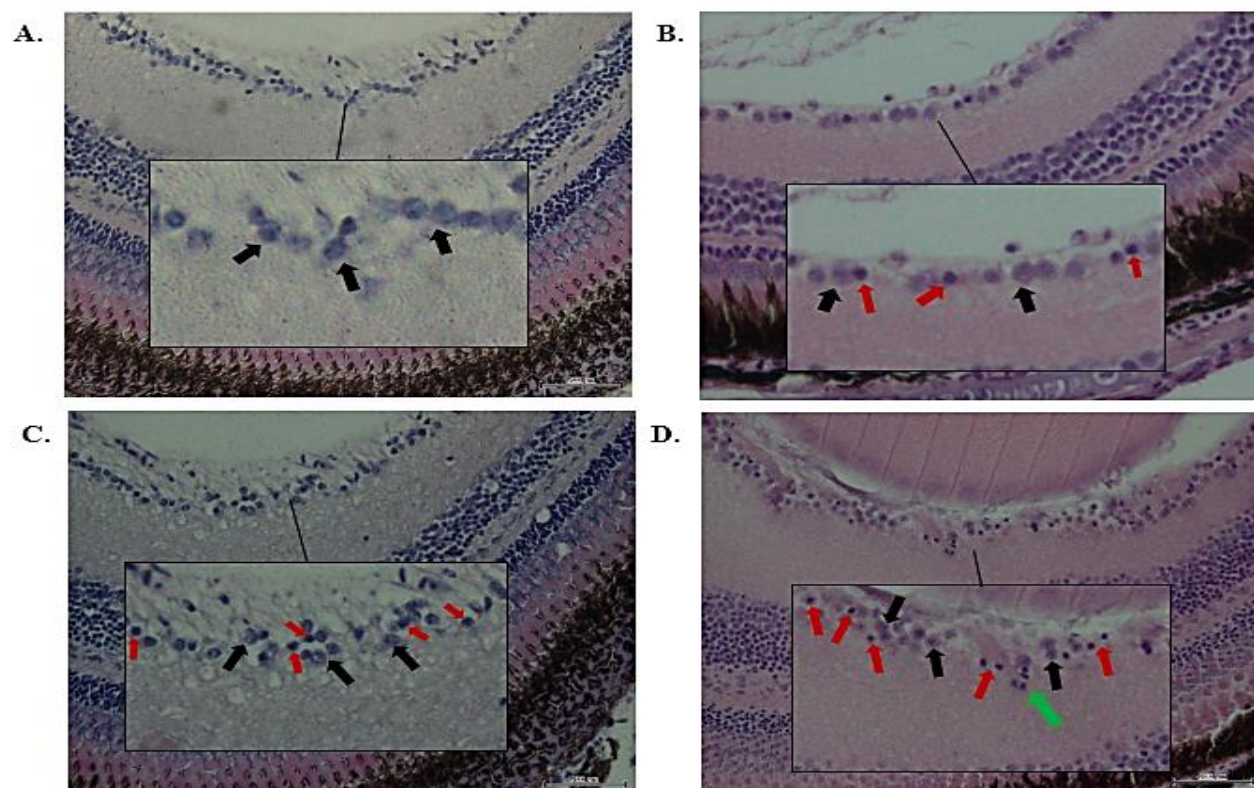
Teknik Analisa Data

Data dinyatakan dalam bentuk rerata $\pm$ SD. Selanjutnya data dianalisa statistik menggunakan *one-way ANOVA* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok dengan derajat signifikansi $p < 0,05$. Uji lanjutan untuk mengetahui perbandingan masing-masing kelompok perlakuan menggunakan *post hoc test* dengan signifikansi $p < 0,05$. Analisa statistik menggunakan SPSS (*Statistical Product and Service Solution*) versi 25.

HASIL DAN ANALISIS DATA

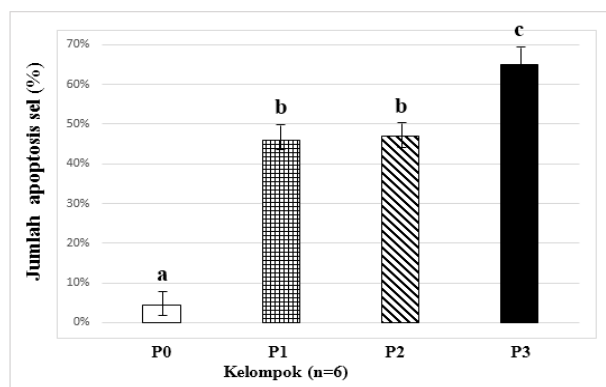
Efek Induksi sukrosa terhadap Apoptosis Sel Ganglion Retina Ikan Zebra (*D. rerio*)

Hasil penghitungan apoptosis sel ganglion dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 1 dan Gambar 2



Gambar 1. Gambaran histopatologi apoptosis sel ganglion retina ikan zebra (*D. rerio*) (HE,400x).

(A)Kontrol normal, (B)induksi sukrosa 1%, (C)induksi sukrosa 2%, (D)induksi sukrosa 4%. (panah hitam) sel ganglion normal, (panah merah) sel yang mengalami piknotik ditandai dengan fragmentasi sel berupa warna ungu kehitaman pada inti sel, (panah hijau) *apoptotic body*.



Gambar 2 Histogram rerata apoptosis sel ganglion Retina Ikan Zebra (*D. rerio*)

Keterangan :

P0 : ikan zebra dalam 2 L air akuarium

P1: ikan zebra dengan induksi sukrosa 1% dalam 2L air akuarium

P2: ikan zebra dengan induksi sukrosa 2% dalam 2L air akuarium

P3 : ikan zebra dengan induksi sukrosa 4% dalam 2L air akuarium

n : jumlah ulangan

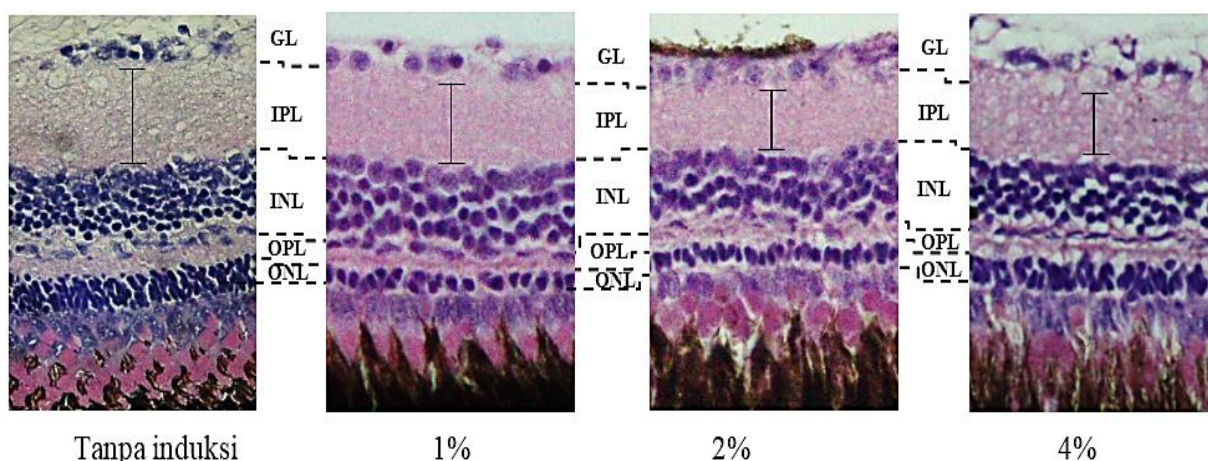
Tabel 1. Jumlah Apoptosis Sel Ganglion Retina Ikan Zebra (*D. rerio*) yang diinduksi sukrosa selama 28 hari

Kelompok	n	Rata-rata $\pm$ SD Apoptosis Sel Ganglion Retina (%)
Kelompok P0	6	15,00 $\pm$ 5,65
Kelompok P1	6	91,00 $\pm$ 6,66
Kelompok P2	6	94,00 $\pm$ 2,28
Kelompok P3	6	129,17 $\pm$ 10,79

Induksi glukosa menyebabkan terjadinya peningkatan jumlah apoptosis sel ganglion dibandingkan kelompok normal $p < 0.05$. Peningkatan jumlah apoptosis sel ganglion retina ikan zebra (*D. rerio*) berturut-turut adalah 46%, 47%, 65% pada kelompok P1, P2, P3 dibandingkan kontrol. Antar kelompok perlakuan didapatkan bahwa P1 tidak berbeda dengan P2 namun berbeda signifikan dibandingkan P3. Semakin tinggi dosis semakin besar persentase jumlah sel ganglion yang mengalami apoptosis.

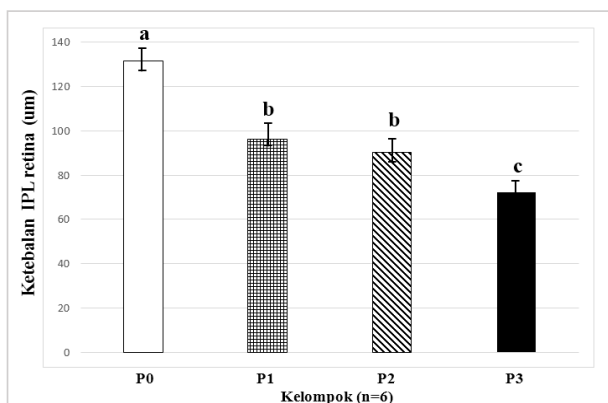
Efek induksi sukrosa terhadap Ketebalan Lapisan IPL Retina Ikan Zebra (*D. rerio*).

Hasil pengukuran ketebalan lapisan IPL ikan zebra yang diinduksi sukrosa dapat dilihat pada **Tabel 2** dan **Gambar 3** dan **Gambar 4**.



Gambar 3. Gambaran histologi lapisan retina ikan zebra (*D. rerio*) (HE, 400x).

Terdapat 4 lapisan utama dalam jaringan retina, diantaranya; (GL) *ganglion layer*, (IPL) *inner plexiform layer*, (INL) *inner neural layer*, (OPL) *outer plexiform layer*, (ONL) *outer neural layer*.



Gambar 4. Histogram ketebalan lapisan IPL retina ikan zebra (*D. rerio*).

Keterangan :

P0 : ikan zebra dalam 2 L air akuarium

P1: ikan zebra dengan induksi sukrosa 1% dalam 2L air akuarium

P2: ikan zebra dengan induksi sukrosa 2% dalam 2L air akuarium

P3 : ikan zebra dengan induksi sukrosa 4% dalam 2L air akuarium

n : jumlah ulangan

Tabel 2 Hasil Analisis Ketebalan IPL Retina Ikan Zebra (*D. rerio*)

Kelompok	n (sampel)	Ketebalan IPL (Rata-rata ± SD)
Kelompok P0	6	131,33 ± 16,15
Kelompok P1	6	96,17 ± 8,65
Kelompok P2	6	90,17 ± 12,54
Kelompok P3	6	72,17 ± 7,11

Induksi sukrosa dosis 1%, 2% dan 4% menyebabkan penurunan ketebalan retina berturut-turut adalah 35%, 41%, 59% dibandingkan kontrol ($p < 0.05$). Antar dosis perlakuan didapatkan P1 tidak berbeda secara signifikan dibandingkan P2 tetapi berbeda signifikan terhadap P3 ($p < 0.05$). Semakin tinggi dosis sikrosa semakin besar penurunan ketebalan IPL.

PEMBAHASAN

Apoptosis Sel Ganglion Retina Ikan Zebra (*D. rerio*)

Induksi sukrosa menyebabkan peningkatan jumlah apoptosis sel ganglion retina ikan zebra (*D. rerio*) berturut-turut adalah 46%, 47%, 65% pada kelompok P1, P2, P3 dibandingkan kontrol ($p < 0.05$). Hal ini diduga disebabkan peningkatan kadar glukosa darah yang terjadi pada kelompok perlakuan dibandingkan kelompok normal.

Hasil penelitian didapatkan bahwa induksi sukrosa 4% selama 28 hari menyebabkan terjadinya apoptosis. Hiperglikemi merupakan factor utama untuk menginduksi terjadinya diabetik retinopati. Induksi sukrosa dapat menyebabkan terjadinya hiperglikemia. Hasil penelitian yang dilakukan oleh (Alfiyah, 2024 ongoing) didapatkan bahwa induksi sukrosa dosis 1%, 2%, 4% dalam 2L air akuarium selama 28 hari menyebabkan peningkatan kadar glukosa darah puasa dibandingkan normal. Kadar glukosa darah P1 (131,67 3,78 mg/dl) tidak berbeda secara signifikan dibandingkan P2 (137,83 4,71 mg/dl) dan P0 (84,17 5,71), namun berbeda signifikan dibandingkan P3 (188,67 15,97).

Larutan sukrosa akan masuk ke dalam darah melalui saluran cerna dan insang, sukrosa akan dirubah menjadi glukosa dan fruktosa. Glukosa akan digunakan terlebih dahulu oleh tubuh. Peningkatan kadar glukosa darah secara kronis akan menyebabkan terjadinya resistensi insulin, sehingga glukosa yang beredar didalam darah tidak dapat digunakan oleh sel, hal ini mengakibatkan terjadinya hiperglikemi (Laville *et al.*, 2009). Hiperglikemia kronis meningkatkan kadar ROS disertai penurunan antioksidan pada kondisi DM, hal ini menyebabkan kerusakan pada lipid membran sel, kerusakan pada sitoplasma, sehingga terjadi kerusakan rantai DNA yang menginduksi apoptosis. Paparan hiperglikemia kronis juga menyebabkan tingginya kadar AGEs. Pengikatan AGEs dan reseptornya, RAGE, menginduksi stres oksidatif (Kowluru, 2015). Kondisi DM mengaktifkan sistem renin-angiotensin yang ditemukan secara lokal di retina. Ikatan antara angiotensin II dan reseptor AT1R juga menginduksi stres oksidatif pada sel neuron retina. Peningkatan konsentrasi glutamat pada DM menyebabkan gangguan eksitatorik pada neuron sehingga terjadi eksitotoksitas yang menginduksi apoptosis sel (Zong *et al.*, 2011).

Apoptosis sel yang terjadi menyebabkan reaktivitas sel glial. Reaktivitas sel glial menginduksi faktor pro-apoptotik. Hubungan antara apoptosis dan reaktivitas sel glial berjalan dua arah. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa pada sel neuron retina penderita DM terjadi

penurunan faktor neuroprotektif dan tingginya kadar berbagai faktor pro-apoptotik, sehingga tingkat apoptosis yang tinggi dapat ditemukan pada jaringan sel ganglion retina (Zong *et al.*, 2011).

Studi eksperimental dan klinis menunjukkan bahwa perubahan neurodegeneratif, termasuk hilangnya sel ganglion dan reaktivitas glial juga merupakan peristiwa awal dalam patogenesis DR (Lim *et al.*, 2020). DR dikaitkan dengan hilangnya sel ganglion retina dan kematian pada sel ganglion yang menyebabkan gangguan fungsi penglihatan (Kim *et al.*, 2015). Neurodegenerasi retina ikan zebra (*D. rerio*) diperkirakan terjadi sebelum adanya tanda-tanda perubahan pada sistem mikrovaskular. Degenerasi saraf terjadi dalam dua fase: kerusakan langsung pada *Retinal Ganglion Cell* (RGC) dan kerusakan sekunder pada RGC akibat respons sel non-neuronal. Kerusakan sekunder ini dianggap sebagai penyebab utama hilangnya RGC, yang terjadi pada retinopati diabetik (Kern dan Barber, 2008).

Dosis sukrose 4% menginduksi apoptosis sel ganglion lebih banyak dibandingkan dosis 1% dan 2% ($p < 0.05$). Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menggunakan tikus (Park *et al.*, 2003). Hal ini diduga karena pengaruh meningkatnya kadar glukosa darah seiring dengan meningkatnya dosis sukrosa yang diberikan pada masing-masing kelompok sehingga terjadi peningkatan apoptosis sel ganglion (Gleeson *et al.*, 2007 dan Singh *et al.*, 2019).

Penurunan Ketebalan Lapisan IPL Retina Ikan Zebra (*D. rerio*)

Induksi sukrosa dosis 1%, 2% dan 4% menyebabkan penurunan ketebalan retina berturut-turut adalah 35%, 41%, 59% dibandingkan kontrol ($p < 0.05$). Hilangnya sel ganglion akibat apoptosis disertai dengan disfungsi sel ganglion menyebabkan penurunan ketebalan pada lapisan IPL retina ikan zebra (*D. rerio*) (Gleeson *et al.*, 2007 dan Nesper *et al.*, 2017). Inner Plexiform Layer (IPL) retina terdiri dari dendrit sel ganglion, dimana sel ganglion sendiri merupakan neuron yang mengumpulkan semua informasi visual di retina dan mengirimnya ke otak. Dendrit sel ganglion kemudian bersinaps dengan akson sel bipolar dan membentuk lapisan serabut saraf yang selanjutnya akan membentuk akson nervus optikus. Dengan berkembangnya angiografi tomografi koherensi optik (OCTA) yang memungkinkan visualisasi mikrovaskular halus retina berlapis-lapis, beberapa penelitian telah melaporkan kerusakan mikrovaskular retina pada pasien DM. Penelitian oleh Nesper *et al* mendapatkan bahwa pembuluh

nonperfusi retina dan choriocapillaris pada OCTA berkorelasi secara signifikan dengan tingkat keparahan penyakit pada mata dengan DR (Nasper *et al.*, 2017). Lebih spesifik penelitian oleh Cao *et al.* mendapatkan bahwa kepadatan pembuluh darah parafoveal pada pleksus kapiler superfisial dan profunda berkurang pada pasien DM (Cao *et al.*, 2018). Terdapat hubungan timbal balik antara penipisan GC-IPL dengan gangguan mikrovaskular, dimana penipisan retina bagian dalam dapat menyebabkan gangguan mikrovaskular, dan gangguan perfusi retina dapat menyebabkan atrofi retina bagian dalam (Lee *et al.*, 2020).

Antar dosis perlakuan didapatkan P1 tidak berbeda secara signifikan dibandingkan P2 tetapi berbeda signifikan terhadap P3 ($p < 0.05$). Semakin tinggi dosis sukrosa semakin besar penurunan ketebalan IPL. Hasil penelitian ini konsisten dengan hasil sebelumnya pada hewan coba tikus dengan hiperglikemia spontan (Barber *et al.*, 2005), hewan coba tikus dan mencit diabetes yang diinduksi streptozotocin (Lee *et al.*, 2020 dan Barber *et al.*, 2005), serta sesuai dengan kondisi DR dalam pemeriksaan OCTA (Nasper *et al.*, 2017, Cao *et al.*, 2018). Hal ini diduga karena pengaruh meningkatnya kadar glukosa darah seiring dengan meningkatnya dosis sukrosa yang diberikan pada masing-masing kelompok sehingga terjadi peningkatan apoptosis sel ganglion yang menyebabkan penurunan ketebalan lapisan IPL retina ikan zebra (*D. rerio*) (Gleeson *et al.*, 2007 dan Singh *et al.*, 2019).

SIMPULAN DAN SARAN

Induksi sukrosa 4% selama 28 hari merupakan dosis yang terbaik mengakibatkan peningkatan apoptosis sel ganglion dan penurunan lapisan IPL pada retina ikan zebra (*D. rerio*) yang sesuai dengan gambaran retinopati diabetik pada manusia.

Dengan adanya keberhasilan penelitian ini menghasilkan model hewan coba hiperglikemia dengan retinopati, maka penelitian kedepan perlu dilanjutkan untuk uji efektifitas suatu obat atau bahan alam dalam mencegah terjadinya retinopati akibat peningkatan glukosa darah pada ikan zebra.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada dosen pembimbing yang telah membimbing dari awal hingga akhir dan kepada reviewer artikel ini. Ikatan Orang tua Mahasiswa (IOM) dan Fakultas Kedokteran UNISMA yang mendanai penelitian, serta teman tim penelitian yang turut membantu terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ranjan, S. and Sharma, P.K., 2018. Development of high sugar induced hyperglycemia or type 2 diabetes in zebrafish (*Danio rerio*) model. *Measurement*, 17, p.18.
2. Laville, M. and Nazare, J.A., 2009. Diabetes, insulin resistance and sugars. *Obesity reviews*, 10, pp.24-33.
3. PERKENI (Perkumpulan Endokrinologi Indonesia). (2021). Pedoman Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 Dewasa di Indonesia 2021. *In PB PERKENI*. www.ginasthma.org
4. Farid, M., Darwin, E., & Sulastri, D. (2014). Pengaruh Hiperglikemia terhadap Gambaran Histopatologis Pulau Langerhans Mencit. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 3(3), 420–428. <https://doi.org/10.25077/jka.v3i3.162>
5. WHO. (2016) "Global report on adult learning executive summary", *World Organization Health*, 3. http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/204874/WHO_NMH_NVI_16.3_e;jsessionid=1B12DB893FDEE9D962EE8E75B37A2B25?sequence=1
6. International Diabetes Federation [IDF]. (2019). "International Diabetes Federation, The Lancet, 266(6881), 134–137. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(55\)92135-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(55)92135-8)
7. Mitchell, P., Suriya F. (2008). Guidelines for the Management of Diabetic Retinopathy. (on line) <http://www.nhmrc.gov.au>. Mitchell, P., Suriya F. (2008). Guidelines for the Management of Diabetic Retinopathy. (on line) <http://www.nhmrc.gov.au>.
8. Hernández, C., Simó-Servat, A., Bogdanov, P. and Simó, R., 2017. Diabetic retinopathy: new therapeutic perspectives based on pathogenic mechanisms. *Journal of Endocrinological Investigation*, 40(9), pp.925-935.
9. 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.
10. Ola, M.S., Nawaz, M.I., Khan, H.A. and Alhomida, A.S. (2013). Neurodegeneration and neuroprotection in diabetic retinopathy. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(2), pp.2559-2572.
11. Gleeson, M., Connaughton, V., & Arneson, L. S. (2007). Induction of hyperglycaemia in zebrafish (*D. rerio*) leads to morphological changes in the retina, *Acta Diabetologica*, 44(3), 157–163.

- <https://doi.org/10.1007/s00592-007-0257-3>
12. Septadina, I. S. (2015). Perubahan Anatomi Bola Mata pada Penderita Diabetes Mellitus. *Majalah Kedokteran Sriwijaya*, 47(2), 139-143.
 - Suyono, S. (2009). Diabetes Melitus di Indonesia. Dalam: Sudoyo, Aru W. dkk. (Editor). *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam* (halaman 1873-1879). Indonesia: Interna Publishing.
 13. Midena E Angeli CD Blarzino MC. Macular function impairment in eyes with early age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997;38:469±77, 1997
 14. Shehwana, H., & Konu, O. (2019). Comparative Transcriptomics Between Zebrafish and Mammals: A Roadmap for Discovery of Conserved and Unique Signaling Pathways in Physiology and Disease. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 7(2), 1–5. <https://doi.org/10.3389/fcell.2019.00005>
 15. Jaroszynska, N., Harding, P., & Moosajee, M. (2021). Metabolism in the zebrafish retina. *Journal of Developmental*
 16. Singh, A., Castillo, H. A., Brown, J., Kaslin, J., Dwyer, K. M., & Gibert, Y. (2019). High glucose levels affect retinal patterning during zebrafish embryogenesis. *Scientific Reports*, 9(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41009-3>
 17. Sharma, P. and Ramachandran, R., 2019. Retina injury and retina tissue preparation to study regeneration in zebrafish. *Bio-protocol*, 9(24), pp.e3466-e34 66.
 18. Dorsemans, A. C., Lefebvre d'hellencourt, C., Ait-Arsa, I., Jestin, E., Meilhac, O., & Diotel, N. (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), 4–11. <https://doi.org/10.3791/55203>
 19. Isaac, U. E., Oyo-Ita, E., Igwe, N. P., & Ije, E. L. (2023). Preparation of histology slides and photomicrographs: Indispensable techniques in anatomic education. *Anatomy Journal of Africa*, 12(1), 2252–2262. <https://doi.org/10.4314/aja.v12i1.1>
 20. 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.
 21. Alfiah, S. (2024). Hiperglikemi dan Kerusakan Pankreas Yang di Induksi Sukrosa. On going.
 22. Kowluru RA, Mishra M. (2015). Oxidative stress, mitochondrial damage and diabetic retinopathy. *Biochim Biophys Acta BBA - Mol Basis Dis*, 1;1852(11):2474–83
 23. Zong H, Ward M, Stitt AW. (2011). AGEs, RAGE, and Diabetic Retinopathy, *Curr Diab Rep*, 1;11(4):244–52.
 24. 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
 25. Kern, T.S. and Barber, A.J., (2008). Retinal ganglion cells in diabetes. *The Journal of physiology*, 586(18), pp.4401-4408.
 26. Park, S.H., Park, J.W., Park, S.J., Kim, K.Y., Chung, J.W., Chun, M.H. and Oh, S.J., 2003. Apoptotic death of photoreceptors in the streptozotocin-induced diabetic rat retina. *Diabetologia*, 46, pp.1260-1268.
 27. 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(6): BIO307–BIO315
 28. Cao D, Yang D, Huang Z, et al. (2018). Optical coherence tomography angiography discerns preclinical diabetic retinopathy in eyes of patients with type 2 diabetes without clinical diabetic retinopathy. *Acta Diabetologica* ; 55(5): 469–477.
 29. Lee M-W, Lee W-H, Ryu C-K, et al. (2020). Effects of prolonged type 2 diabetes on the inner retinal layer and macular microvasculature: an optical coherence tomography angiography study. *J Clin Med.*; 9(6): 1849.
 30. Barber AJ, Antonetti DA, Kern TS, Reiter CEN, Soans RS, Krady JK, Levison SW, Gardner TW, Bronson SK (2005) The Ins2Akita mouse as a model of early retinal complications in diabetes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 46:2210–2218
 31. Barber A (2003) A new view of diabetic retinopathy: a neurodegenerative disease of the eye. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 27:283–290