

PENGARUH SUKROSA PADA *DANIO RERIO* TERHADAP PERUBAHAN DIAMETER GLOMERULUS DAN NEKROSIS TUBULUS KONTORTUS PROKSIMAL

Prameswari Diva Wardani, Yoyon Arif Martino, Dini Sri Damayanti*
Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang (UNISMA)

ABSTRAK

Pendahuluan: Sukrosa atau biasa dikenal sebagai gula meja adalah disakarida yang terdiri dari satu molekul glukosa dan satu molekul fruktosa. Pola makan tinggi sukrosa secara langsung dapat menyebabkan peningkatan kadar glukosa dalam darah, yang ditandai dengan hiperglikemia. Kondisi kronis hiperglikemia dapat merusak nefron ginjal yang akan menyebabkan komplikasi nefropati diabetik (ND). Perubahan ukuran glomerulus dan nekrosis sel tubulus kontortus proksimal (TKP) ini muncul pada tahap awal ND. Penelitian ini bertujuan membuktikan efek induksi sukrosa terhadap kerusakan ginjal *Danio rerio* dewasa.

Metode: Penelitian ini menerapkan desain eksperimen di laboratorium *in vivo control group post-test only*, menggunakan model ikan zebra (*Danio rerio*) jantan dewasa berusia 12 minggu, terdiri dari kelompok kontrol (K1), kelompok perlakuan induksi sukrosa yakni K2 (1%), K3 (2%) dan K4 (4%). Setiap kelompok terdiri dari 30 ekor yang diinduksi selama 28 hari. Proses *sacrifice* melalui perendaman dengan air es ($\pm 17^{\circ}\text{C}$) selama 10 menit. Pengambilan ginjal dilakukan dengan pembuatan preparat histopatologi organ ginjal dengan pewarnaan hematoxililn dan eosin (H&E). Diameter glomerulus diukur menggunakan software *ImageJ*, sedangkan nekrosis sel TKP dihitung secara manual perlapang pandang. Analisa data menggunakan *One way ANOVA* dengan signifikansi *p-value* kurang dari 0.05.

Hasil: Hasil analisa data pada kelompok normal K1 $146.73 \pm 11.45 \mu\text{m}$, sedangkan kelompok induksi K2, K3, K4 menyebabkan peningkatan diameter glomerulus sebesar 238.99 ± 14.95 ; 259.52 ± 19.84 ; $353.96 \pm 30.35 \mu\text{m}$. Pada analisa persentase nekrosis sel TKP menunjukkan kelompok normal K1 28.33 ± 2.16 , sedangkan kelompok induksi K2, K3, K4 menyebabkan peningkatan nekrosis sel TKP sebesar 161.33 ± 5.20 ; 171.50 ± 3.08 ; 203.00 ± 4.57 .

Kesimpulan: Induksi sukrosa pada ikan zebra (*Danio rerio*) menyebabkan *remodeling* jaringan nefron.

Penelitian ini memerlukan tindak lanjut untuk mengetahui efek sukrosa terhadap jaringan nefron dengan model hewan coba.

Kata kunci: Ikan zebra (*D. rerio*), Sukrosa, Jaringan nefron.

*Korespondensi: Dr. dr. Dini Sri Damayanti, M. Kes

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

Jl. MT Haryono 193 Malang, Jawa Timur Indonesia 65144. Telp. +62-341-57892

Email: dinisridamayanti@unisma.ac.id

THE EFFECT OF SUCROSE IN *DANIO RERIO* ON CHANGES IN GLOMERULUS DIAMETER AND PROXIMAL CONVOLUTED TUBULE NECROSIS

Prameswari Diva Wardani, Yoyon Arif Martino, Dini Sri Damayanti*
Faculty of Medicine, University of Islam Malang (UNISMA)

ABSTRACT

Introduction: Sucrose, commonly known as table sugar, is a disaccharide consisting of one glucose molecule and one fructose molecule. A diet high in sucrose can directly lead to increased blood glucose levels, which is characterized by hyperglycemia. Chronic hyperglycemia can damage the kidney nephrons, leading to diabetic nephropathy (DN) complications. Changes in glomerulus size and necrosis of proximal convoluted tubule (PCT) cells occur in the early stages of DN. This study aims to demonstrate the effects of sucrose induction on kidney damage in adult *Danio rerio*.

Methods: This study employed a laboratory *in vivo* experimental design with a control group post-test only, using a 12-week-old adult male zebrafish (*Danio rerio*) model, consisting of control group (K1), sucrose induction treatment groups, namely K2 (1%), K3 (2%) dan K4 (4%). Each group consisted of 30 fish that were induced for 28 days. The sacrifice process involves immersion in ice-cold water ($\pm 17^{\circ}\text{C}$) for 10 minutes. Kidney extraction is followed by creating histopathological preparations of the kidney organ with H&E staining. Glomerulus diameter is measured using *ImageJ* software, while cell necrosis is calculated manually per field of view. Data analysis using *One-way ANOVA* with significance *p-value* is less than 0.05.

Results: The results of data analysis in the normal group K1 $146.73 \pm 11.45 \mu\text{m}$, while the induction group K2, K3, K4 caused an increase in glomerular diameter of 238.99 ± 14.95 ; 259.52 ± 19.84 ; $353.96 \pm 30.35 \mu\text{m}$. In the analysis of the percentage of TKP cell necrosis showed the normal group K1 28.33 ± 2.16 , while the induction group K2, K3, K4 caused an increase in TKP cell necrosis of 161.33 ± 5.20 ; 171.50 ± 3.08 ; 203.00 ± 4.57 .

Conclusions: Induction of sucrose in zebrafish (*Danio rerio*) causes remodeling of nephron tissue. This study requires follow-up to determine the effects of sucrose on nephron tissue using an animal model.

Keywords: Zebrafish, *D. rerio*, Sucrose, Nephron tissue.

*Correspondence: Dr. dr. Dini Sri Damayanti, M. Kes

Faculty of Medicine, University of Islam Malang

Jl. MT Haryono 193 Malang, East Java Indonesia 65144. Call. +62-341-57892

Email: dinisridamayanti@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Sukrosa, yang sering dikenal sebagai gula pasir, adalah disakarida yang terdiri dari satu molekul glukosa dan satu molekul fruktosa¹. Konsumsi sukrosa dalam jumlah tinggi dapat menyebabkan penambahan berat badan yang cepat, gangguan tekanan darah, kadar gula darah, sensitivitas insulin, serta konsentrasi lipid dan asam urat. Efek ini terutama disebabkan oleh fruktosa dalam sukrosa, bukan glukosa. Fruktosa dapat memicu timbulnya gejala sindrom metabolik seperti peningkatan stres oksidatif, resistensi insulin, tekanan darah tinggi, obesitas sentral, dislipidemia, gangguan ginjal, penumpukan lemak hati, peradangan, disfungsi endotel, hiperurikemia, dan Diabetes Melitus Tipe 2 (DMT2)^{2,3}.

Penyakit metabolik kronis yang banyak terjadi salah satunya adalah Diabetes Melitus (DM). Kerusakan nefron akibat keterkaitan penyakit DM merupakan salah satu gangguan mikrovaskuler yang sering disebut dengan istilah nefropati diabetik (ND)⁴. Kelainan vaskuler yang menyebabkan ND dikaitkan dengan keberadaan stres oksidatif golongan *Reactive Oxygen Species* (ROS) akibat kondisi hiperglikemia, dislipidemia, dan inflamasi yang terjadi pada DM⁵.

Kondisi inflamasi akan menyebabkan kelainan patologis ginjal, dimana yang umum terlihat adalah terjadinya perubahan ukuran ginjal atau hipertrofi sel ginjal. Paparan glukosa yang berkepanjangan menyebabkan kerusakan glomerulus, yang ditandai dengan penebalan *glomerular basement membrane* (GBM). Selain itu, kerusakan ini mencakup perluasan mesangium glomerulus dan perubahan pada podosit. Perubahan ini mengganggu filtrasi glomerulus normal, yang menyebabkan proteinuria dan gangguan fungsi ginjal⁶. ND juga ditandai dengan degenerasi dan nekrosis sel tubulus serta perdarahan intertubulus yang dapat mengganggu fungsi reabsorpsi dan sekresi ginjal, terutama pada sel epitel tubulus kontortus proksimal (TKP) yang merupakan awal kontak ketika cairan-cairan yang difiltrasi oleh glomerulus keluar dari kapsula *bowman*^{7,8}.

D. rerio memiliki beberapa keunggulan sebagai hewan model, yaitu diketahui 84% gen manusia yang diketahui terkait dengan penyakit manusia juga ditemukan pada *D. rerio*⁹. Keunggulan lain ikan zebra sebagai model nefropati diabetik yakni kemudahan dalam perawatan, perkembangan embrio yang cepat,

diabetes dapat diinduksi pada ikan zebra melalui berbagai strategi seperti diet dan manipulasi genetik, pronefros ikan zebra terdiri dari bagian-bagian yang mirip dengan nefros mamalia¹⁰.

Terdapat dua penelitian yang telah dilakukan sebelumnya mengenai efek pemberian sukrosa dengan kadar yang berbeda-beda dan sudah terbukti menyebabkan hiperglikemia serta telah membuktikan ikan zebra sebagai model baru untuk studi DMT2^{11,12}. Dan berperan dalam perkembangan komplikasi diabetes seperti ND¹³.

Penelitian terbaru membuktikan bahwa Ikan zebra dalam pemberian makan yang berlebih selama 6 minggu telah menunjukkan terjadinya hiperglikemia dimana terjadi hipertrofi glomerulus sebagai tanda awal ND⁶. Dan juga penelitian lain yang membuktikan bahwa induksi hiperglikemia menggunakan pemberian 10 µL streptozotocin (STZ) untuk induksi nefropati diabetik selama 7 hari menunjukkan terjadinya tanda-tanda inflamasi dan nekrosis tubulus pada ginjal ikan zebra¹⁴.

Berdasarkan keterangan diatas, maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui membuktikan pengaruh induksi sukrosa (1%, 2%, 4%) dalam air selama 28 hari terhadap nekrosis TKP dan perubahan diameter glomerulus ikan zebra (*Danio rerio*).

METODE PENELITIAN

Desain, Kode Etik, Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan prosedur laboratoris menggunakan desain *post-test control group* untuk memeriksa perubahan histologi pada ginjal ikan zebra. Penelitian ini dilakukan setelah mendapatkan persetujuan dari *Health Research Ethics Committee* di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang dengan nomor sertifikat No.077/LE.003/X/03/2023. Penelitian berlangsung dari Agustus 2023 hingga Januari 2024. Proses pemeliharaan, aklimatisasi, perlakuan, pembedahan ikan dilakukan di Laboratorium Budidaya Ikan, Divisi Reproduksi Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan (FPIK) Universitas Brawijaya, Malang. Observasi, penilaian nekrosis TKP, dan pengukuran diameter glomerulus dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran (FK), Universitas Islam Malang. *D. rerio* diidentifikasi di FPIK Universitas Airlangga dengan nomor 71/ULMKILP/UA.FPK/12/2023.

Perlakuan pada Hewan Coba *D. rerio*

Penelitian ini menggunakan Ikan zebra (*Danio rerio*) jantan dewasa usia 12 minggu (3 bulan) terdiri dari 4 kelompok yang berbeda. Kelompok kontrol (K1), kelompok perlakuan induksi sukrosa dengan konsentrasi 1% (K2), kelompok perlakuan induksi sukrosa konsentrasi 2% (K3), dan kelompok perlakuan induksi sukrosa konsentrasi 4% (K4).

Proses adaptasi lingkungan *D. rerio* dilakukan dengan kondisi laboratorium yang konstan (cahaya 14 jam, penyinaran gelap 10 jam, pakan, air, 28°C) selama 1 minggu, dengan frekuensi pemberian pakan pelet 2 kali setiap hari yaitu pagi dan sore. Setelah satu minggu proses adaptasi, dilakukan induksi sukrosa dengan konsentrasi 1%, 2%, 4% selama 28 hari dengan penggantian air dilakukan 2 hari sekali¹¹. Setelah dilakukan induksi selama 28 hari, pada hari ke 29 *D. rerio* dipuasakan selama lebih dari 12 jam, kemudian sebelum dilakukan pembedahan, *D. rerio* dikorbankan (*sacrifice*) menggunakan air es dengan suhu $\pm 17^{\circ}\text{C}$ selama 10 menit¹⁵, kemudian dilakukan pembedahan dengan cara menyayat pada lokasi retroperitoneal, tepat di bagian ventral kolom vertebral, dimana ginjal terbagi menjadi bagian kranial dan bagian kaudal¹⁶. *D. rerio* kemudian dilakukan pembuatan preparat dengan pewarnaan H&E.

Pembuatan Preparat Histologi Ginjal dengan Pewarnaan H&E

Ginjal direndam dalam larutan buffer fosfat formalin 10%. Setelah itu, ginjal dipotong hingga ketebalan sekitar 3 μm kemudian diproses menggunakan *tissue processor*. Proses dehidrasi dilakukan dengan alkohol 70%, 80%, dan 96% secara bergantian selama 2 jam. Slide jaringan direndam dalam parafin cair pada suhu 56°C selama 2 jam, dan proses ini diulang dua kali. Pewarnaan dilakukan dengan merendam jaringan yang sudah berada di atas slide dalam xylol I, II, dan III masing-masing selama lima menit. Selanjutnya, jaringan direndam dalam alkohol 96%, 80%, dan 70% secara bergantian selama lima menit, kemudian dicuci dengan aquades dan direndam dalam H&E selama tujuh menit. Preparat kemudian dikeringkan dan dipasang dengan menggunakan entelan (lem)¹⁷.

Penghitungan Jumlah Nekrosis TKP Ikan Zebra (*Danio rerio*)

Preparat ginjal yang telah diwarnai dengan H&E selanjutnya diamati untuk menghitung jumlah nekrosis pada sel TKP menggunakan mikroskop trinokuler dengan perbesaran 400x pada 5 lapang pandang. Penghitungan nekrosis dilakukan secara manual dengan bantuan aplikasi *ImageJ* oleh tiga orang pengamat berbeda menggunakan *blind method*. Pengamatan nekrosis sel TKP dapat diidentifikasi dari perubahan yang terjadi pada inti sel, dimana terdapat 3 pola perubahan yang disebabkan oleh kerusakan DNA dan kromatin. Pola perubahan tersebut adalah piknosis (inti sel menyusut dan warna basofilik meningkat), karioreksis (inti piknotik mengalami pemecahan), dan kariolisis (memudarnya warna kromatin basofil)¹⁸. Perhitungan jumlah nekrosis pada sel TKP menggunakan rumus proporsi sebagai berikut:

$$(\%) = \frac{a}{b} \times 100\%$$

Rumus 1. Proporsi Perhitungan Nekrosis

Keterangan:

a = Jumlah total nekrosis sel TKP pada 5 lapang pandang

b = Jumlah total sel TKP normal pada 5 lapang pandang.

Perubahan Diameter Glomerulus Ikan Zebra (*D. rerio*)

Preparat ginjal yang diwarnai dengan H&E, preparat dilihat menggunakan mikroskop trinokuler perbesaran 400x. Gambar hasil observasi dipindahkan ke *ImageJ* untuk mengukur diameter glomerulus. Diameter glomerulus dihitung dengan mengukur jarak terjauh dan jarak tegak lurus nya, kemudian dirata-rata. Pengukuran dilakukan dalam 5 lapang pandang oleh tiga pengamat, dan rata-rata data dari ketiga pengamat digunakan untuk hasil akhir¹⁹.

Teknik Analisa Data

Data disajikan sebagai bentuk rata-rata $\pm$ SD. Analisis statistik dilakukan menggunakan *one-way ANOVA* untuk mengevaluasi perbedaan antara kelompok dengan signifikansi $p < 0.05$. Untuk membandingkan setiap kelompok secara lebih mendetail, dilakukan uji lanjutan dengan *post hoc test*, dengan signifikansi $p < 0.05$. Semua analisis statistik dilakukan menggunakan perangkat lunak SPSS (*Statistical Product and Service Solution*) versi 27.

HASIL DAN ANALISIS DATA

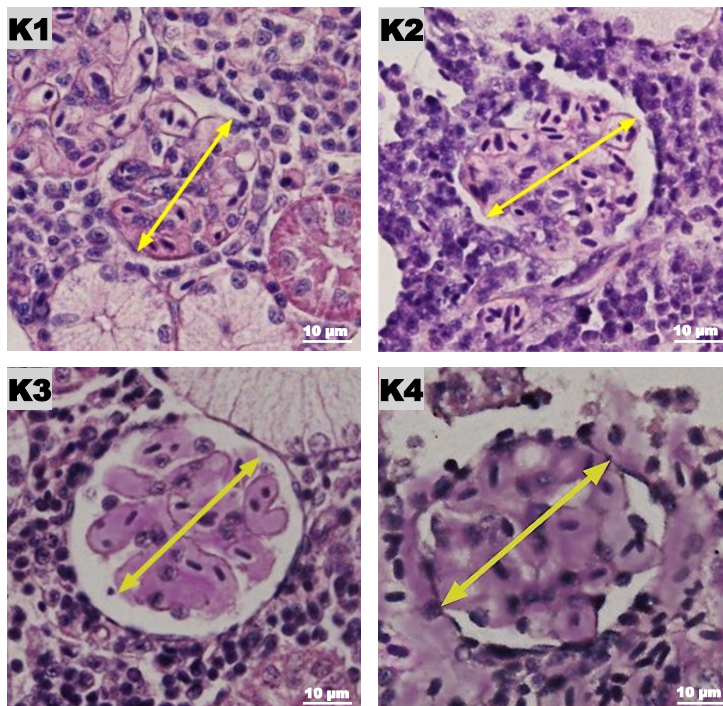
Sampel *D. rerio* yang digunakan pada penelitian ini memiliki karakteristik yakni berjenis kelamin jantan, usia 12 minggu, panjang badan 3-5 cm. Pemberian induksi sukrosa dilakukan selama 28 hari. Masing-masing kelompok dilakukan pengulangan sebanyak 5

kali. K0 merupakan kelompok normal/ tanpa induksi, K1 adalah kelompok dengan pemberian induksi sukrosa 1%, K2 adalah kelompok dengan pemberian induksi sukrosa 2%, dan K3 adalah kelompok dengan pemberian induksi sukrosa 4%.

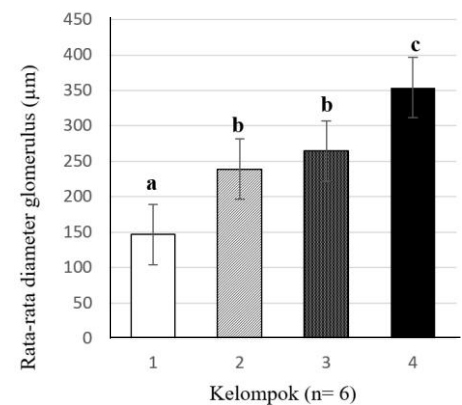
Efek induksi sukrosa terhadap Diameter Glomerulus Ginjal *Danio rerio*

Untuk mengidentifikasi terkait perkembangan diabetes nefropati pada ikan zebra, kami melakukan analisis histopatologi menggunakan jaringan ginjal utuh dari ikan zebra yang tanpa perlakuan atau normal (kontrol) dan yang diberi perlakuan dengan induksi sukrosa. Hasil pengukuran diameter glomerulus ikan zebra yang diinduksi sukrosa bisa dilihat pada Gambar 1.

A



B



C

Kelompok	n	Diameter Glomerulus (Rata-rata ± SD)	Notasi
Kelompok K1	6	146.73 ± 11.45	a
Kelompok K2	6	238.99 ± 14.95	b
Kelompok K3	6	259.52 ± 19.84	b
Kelompok K4	6	353.96 ± 30.35	c

Gambar 1. Induksi sukrosa pada ikan zebra (*Danio rerio*) menunjukkan perubahan diameter (H&E, skala batang: 10 µm). (A) Kontrol (K1), induksi sukrosa K2 (1%), induksi sukrosa K3 (2%), induksi sukrosa K4 (4%). Preparat histopatologi menunjukkan hipertrofi glomerulus yang nyata pada ikan zebra. (B) Histogram Diameter Glomerulus ikan zebra (*D. rerio*). (C) Hasil Analisa Diameter Glomerulus Ginjal Ikan Zebra (*D. rerio*). Notasi huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan signifikan.

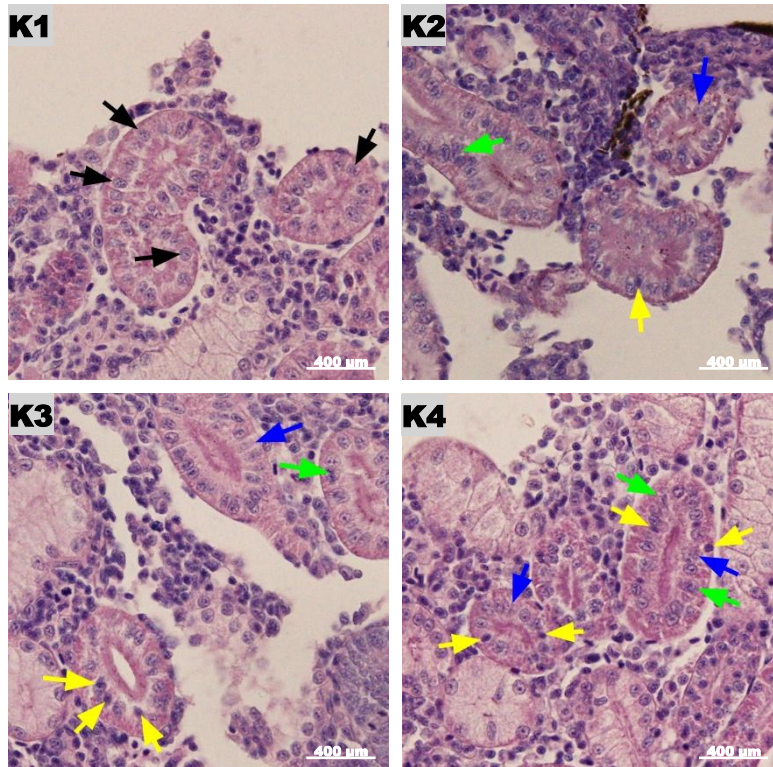
Hasil penelitian menunjukkan induksi sukrosa dosis 1%, 2% dan 4% menyebabkan peningkatan diameter glomerulus dibandingkan kontrol ($p < 0.05$) yakni dengan nilai $p < 0.01$. Antar dosis perlakuan didapatkan K2 $238.99 \pm$

14.95 tidak berbeda secara signifikan dibandingkan K3 259.52 ± 19.84 tetapi berbeda signifikan terhadap K4 353.96 ± 30.35 µm. Semakin tinggi dosis sukrosa semakin besar diameter glomerulus.

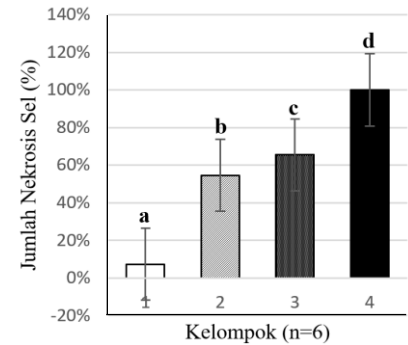
Efek Induksi Sukrosa terhadap Nekrosis Sel Tubulus Kontortus Proksimal (TKP) *Danio rerio*

Hasil penghitungan Nekrosis Sel TKP dapat dilihat pada Gambar 2. Hasil penelitian menunjukkan induksi sukrosa menyebabkan terjadinya peningkatan jumlah nekrosis TKP dibandingkan kelompok normal ($p < 0.05$) yakni dengan nilai $p < 0.01$. Antar kelompok perlakuan didapatkan bahwa K1 (normal) 28.33 ± 2.16 berbeda signifikan dibandingkan K2 161.33 ± 5.20 , K3 171.50 ± 3.08 , K4 203.00 ± 4.57 .

A



B



C

Kelompok	n	Rata-rata ± SD Nekrosis TKP	Notasi
Kelompok K1	6	28.33 ± 2.16	a
Kelompok K2	6	161.33 ± 5.20	b
Kelompok K3	6	171.50 ± 3.08	c
Kelompok K4	6	203.00 ± 4.57	d

Gambar 2. Induksi sukrosa pada ikan zebra (*D. rerio*) menunjukkan nekrosis TKP (H&E, 400x). (A) Kontrol (K1), induksi sukrosa K2 (1%), induksi sukrosa K3 (2%), induksi sukrosa K4 (4%). sel TKP normal (tanda hitam), sel mengalami piknotik (tanda kuning), sel yang mengalami karioreksis (tanda hijau), sel mengalami kariolisis (tanda biru). (B) Histogram rerata nekrosis sel TKP Ikan Zebra (*D. rerio*). (C) Jumlah Nekrosis Sel TKP Ikan Zebra (*D. rerio*) yang diinduksi sukrosa selama 28 hari. Notasi huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan signifikan.

PEMBAHASAN

Karakteristik Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan ikan zebra (*Danio rerio*) jantan dewasa berusia 12 minggu sebagai sampel. Pemilihan jantan bertujuan agar selama proses induksi sukrosa yang berlangsung 28 hari, tidak terjadi pembuahan. *D. rerio* yang sedang hamil tidak dapat digunakan sebagai sampel karena berat telur dapat mempengaruhi hasil pengukuran berat badan. Usia 12 minggu dipilih karena pada usia ini *D. rerio* telah mencapai kematangan fisik, dengan perkembangan anatomi tubuh yang sudah lengkap. Proses induksi yang diterapkan dalam penelitian ini adalah induksi sukrosa selama 28 hari²⁰ untuk membuktikan bahwa kadar gula

darah tinggi yang terjadi secara kronis, dimana ditunjukkan dengan penurunan kadar insulin pada *D. rerio*. Ketika kadar insulin rendah, tubuh tidak dapat mengontrol kadar gula darah dengan baik, menyebabkan hiperglikemia (kadar gula darah tinggi) yang berkepanjangan. Hiperglikemia kronis dapat merusak pembuluh darah kecil di ginjal, yang mengarah pada kerusakan ginjal²¹. *D. rerio* dipilih sebagai model hewan coba karena 84% gen manusia yang diketahui terkait dengan penyakit manusia juga ditemukan pada *D. rerio*⁹, sehingga diharapkan dapat menggambarkan efek sukrosa pada manusia.

Peningkatan Diameter Glomerulus Ginjal Ikan Zebra (*D. rerio*)

Induksi sukrosa dosis 1%, 2% dan 4% menyebabkan peningkatan diameter (hipertrofi) glomerulus dibandingkan kontrol. Lingkungan hiperglikemik yang terus-menerus merangsang banyak jalur biokimia yang menyebabkan nekrosis stres oksidatif. Kelebihan glukosa dalam lingkungan ini masuk ke jalur poliol dan menginduksi produksi ROS³⁰. ROS menyebabkan kelainan patologis ginjal yang umum terlihat adalah terjadinya perubahan ukuran ginjal atau hipertrofi sel glomerulus. Paparan hiperglikemia yang berkepanjangan menyebabkan kerusakan glomerulus, yang ditandai dengan penebalan *glomerular basement membrane* (GBM) yaitu komponen penting dari fungsi filtrasi. Selain itu, kerusakan ini mencakup perluasan mesangium glomerulus yaitu jaringan pendukung yang mengelilingi glomerulus dan perubahan pada podosit yaitu sel yang membungkus kapiler glomerulus⁶. Perubahan ini mengganggu filtrasi glomerulus normal, yang menyebabkan mikroalbuminuria yang merupakan kondisi di mana terdapat kadar albumin (sejenis protein) yang terdeteksi dalam urin dimana sering merupakan indikator awal kerusakan ginjal³¹.

Antar dosis perlakuan didapatkan K2 tidak berbeda secara signifikan dibandingkan K3 tetapi berbeda signifikan terhadap K4 ($p < 0.05$). Semakin tinggi dosis sukrosa semakin tinggi diameter glomerulus. Hasil penelitian ini konsisten dengan hasil sebelumnya juga pada hewan ikan zebra dalam pemberian makan yang berlebih selama 6 minggu telah menunjukkan terjadinya hiperglikemia dimana terjadi hipertrofi glomerulus sebagai tanda awal ND⁶. Hal ini terjadi karena pengaruh induksi sukrosa secara terus-menerus pada masing-masing kelompok yang mengakibatkan tingginya kadar glukosa darah atau hiperglikemia, yang mengakibatkan peningkatan ROS sehingga menyebabkan hipertrofi glomerulus ginjal ikan zebra (*D. rerio*)³².

Nekrosis TKP Ginjal Ikan Zebra (*D. rerio*)

Induksi sukrosa 1%, 2%, 4% menyebabkan nekrosis sel TKP pada ikan zebra (*D. rerio*). Hasil ini konsisten dengan penelitian yang menunjukkan bahwa semakin besar dosis sukrosa yang diberikan melalui paparan, semakin tinggi pula stres yang dialami tikus, yang kemudian menyebabkan gangguan dalam regulasi kadar gula darah dan berujung pada peningkatan glukosa darah²². Peningkatan glukosa darah akan menyebabkan kelainan

vaskuler dikaitkan dengan keberadaan stres oksidatif golongan ROS akibat kondisi hiperglikemia pada kelompok perlakuan dibandingkan kelompok normal⁸. Hasil penelitian satu pohon terhadap gula darah, didapatkan bahwa induksi sukrosa dosis 2%, 4% dalam 2L air akuarium selama 28 hari meningkatkan kadar glukosa darah puasa sebesar 25% dan 35%, dibandingkan kontrol²³.

Hiperglikemia, atau kadar glukosa darah yang tinggi, dapat menyebabkan nekrosis melalui beberapa mekanisme, dimana kondisi kadar glukosa yang tinggi meningkatkan produksi ROS, yang dapat merusak komponen seluler seperti lipid, protein, dan DNA. Kerusakan ini mengganggu fungsi sel dan menyebabkan kematian sel²⁴. Glukosa berlebihan bereaksi dengan protein untuk membentuk AGE (*Advanced glycation end products*), yang dapat merusak struktur dan fungsi protein, berkontribusi pada peradangan, dan merusak jaringan²⁵. Hiperglikemia dapat menyebabkan kerusakan pada sel endotel yang melapisi pembuluh darah, mengganggu aliran darah dan meningkatkan permeabilitas vaskular, yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan²⁶. Dan juga kadar glukosa yang tinggi dapat memicu respons inflamasi sistemik, yang berkontribusi pada kerusakan jaringan. Peradangan kronis dapat menyebabkan kerusakan lebih lanjut pada sel dan jaringan, meningkatkan risiko nekrosis. Faktor-faktor tersebut akan menyebabkan degenerasi dan nekrosis sel tubulus serta perdarahan intertubulus yang dapat mengganggu fungsi reabsorpsi dan sekresi ginjal, terutama pada sel epitel TKP dimana merupakan bagian yang terpapar setelah glomerulus²⁷.

Dosis sukrosa 4% menginduksi nekrosis TKP lebih banyak dibandingkan dosis 1% dan 2% ($p < 0.05$). Hasil dari penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan sebelumnya dengan menggunakan tikus²⁸. Hal ini diduga terjadi karena tingginya kadar glukosa darah seiring dengan meningkatnya kadar sukrosa yang diberikan pada masing-masing kelompok sehingga terjadi peningkatan nekrosis TKP ginjal²⁹.

KELEMAHAN PENELITIAN

Penelitian dengan pemberian jarak dosis induksi dari 1% ke 2% yang terlalu dekat dapat menyebabkan hasil yang kurang signifikan. Pengaruh pemindahan ikan saat penggantian air akuarium dengan cara menjaring ikan dapat memberikan beberapa dampak negatif, seperti stres dan cedera fisik, pada ikan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Induksi sukrosa 4% selama 28 hari merupakan dosis yang terbaik mengakibatkan *remodeling* jaringan nefron dengan peningkatan diameter glomerulus dan peningkatan nekrosis TKP pada ginjal ikan zebra yang sesuai dengan gambaran nefropati diabetik pada manusia.

Dengan keberhasilan penelitian ini dalam menghasilkan model hewan coba hiperglikemia dengan nefropati, penelitian selanjutnya perlu dilakukan untuk mengetahui efek sukrosa terhadap jaringan nefron menggunakan model hewan coba lainnya, serta untuk menguji efektivitas suatu obat atau bahan alam dalam mencegah terjadinya nefropati pada ikan zebra (*Danio rerio*).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan rasa terima kasih kepada dosen pembimbing dan dosen penguji *peer reviewer*. Ucapan terima kasih juga ditujukan kepada Ikatan Orang tua Mahasiswa (IOM) dan FK UNISMA, yang telah mendanai penelitian ini dan memberikan dukungan finansial yang penting. Serta tim penelitian *Danio rerio* yang telah membantu melaksanakan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

1. Astawan IM. Evaluasi Nilai Gizi Karbohidrat. 2014.
2. Prahastuti S. Konsumsi Fruktosa Berlebihan dapat Berdampak Buruk bagi Kesehatan Manusia. 2011.
3. Lean MEJ, Te Morenga L. Sugar and type 2 diabetes. Vol. 120, British Medical Bulletin. Oxford University Press; 2016. p. 43–53.
4. Rivandi J, & YA. Hubungan Diabetes Melitus Dengan Kejadian Gagal Ginjal Kronik. 2015.
5. Li B, Liu S, Miao L, Cai L. Prevention of diabetic complications by activation of Nrf2: Diabetic cardiomyopathy and nephropathy. Vol. 2012, Experimental Diabetes Research. 2012.
6. Zang L, Saitoh S, Katayama K, Zhou W, Nishimura N, Shimada Y. A zebrafish model of diabetic nephropathy shows hyperglycemia, proteinuria and activation of the PI3K/Akt pathway. DMM Disease Models and Mechanisms. 2024 May 1;17(5).
7. Esther G. Effect of Eugenia Jambolana on Streptozotocin-Nicotinamide induced type-2 Diabetic Nephropathy in Rats. 2014;
8. Habib SL. Kidney atrophy vs hypertrophy in diabetes: which cells are involved? Vol. 17, Cell Cycle. Taylor and Francis Inc.; 2018. p. 1683–7.
9. Shehwana H, Konu O. Comparative Transcriptomics Between Zebrafish and Mammals: A Roadmap for Discovery of Conserved and Unique Signaling Pathways in Physiology and Disease. Front Cell Dev Biol. 2019 Feb 1;7.
10. Sharchil C, Vijay A, Ramachandran V, Bhagavatheeswaran S, Devarajan R, Koul B, et al. Zebrafish: A Model to Study and Understand the Diabetic Nephropathy and Other Microvascular Complications of Type 2 Diabetes Mellitus. Vol. 9, Veterinary Sciences. MDPI; 2022.
11. Gleeson M, Connaughton V, Arneson LS. Induction of hyperglycaemia in zebrafish (*Danio rerio*) leads to morphological changes in the retina. Acta Diabetol. 2007 Sep;44(3):157–63.
12. Ranjan S, Kumar Sharma P. Development of High Sugar Induced Hyperglycemia or Type 2 Diabetes in Zebrafish (*Danio rerio*) Model. 2018; Available from: <https://www.researchgate.net/publication/330521116>
13. Sabi EM, Mujamammi AH, Althafar ZM, Al-Shouli ST, Dahman LSB, Sumaily KM. Protective Effects of *Ficus benghalensis* in Streptozotocin (STZ) Induced Diabetic Zebrafish (*Danio rerio*) Model. Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research. 2022 Jul 1;56(3):822–9.
14. Mujamammi AH, M.Sabi E, M. Althafa Z, M. Sumaily K, Bin Dahman LS. *Crataegus oxyacantha* Extract Mitigates Diabetic Nephropathy via Oxidative Stress Regulation in Streptozotocin-Induced Zebrafish Model. International Journal of Pharmacology. 2022 Jun 15;18(6):1252–60.
15. Aini FN, Elfita L, Fitriana N. Efektivitas Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) sebagai Wound Healing Menggunakan Ikan Zebra *Danio rerio* Hamilton, 1822 Yang Diinduksi Hiperglikemia sebagai Model. 2024;
16. Menke AL, Spitsbergen JM, Wolterbeek APM, Woutersen RA. Normal anatomy and histology of the adult zebrafish. Vol.

- 39, Toxicologic Pathology. 2011. p. 759–75.
17. Isaac UE, Oyo-Ita E, Igwe NP, Ije EL. Preparation of histology slides and photomicrographs: Indispensable techniques in anatomic education. *Anatomy Journal of Africa*. 2023 Apr 6;12(1):2252–62.
18. Kumar KV, Sharief SD, Rajkumar R, Ilango B, Sukumar E. Antidiabetic potential of *Lantana aculeata* root extract in alloxan-induced diabetic rats. *International Journal of Phytomedicine*. 2010;2(3):299–303.
19. Mufidah T. Perbandingan Tingkat Kerusakan Jaringan, Diameter Glomerulus Dan Luas Ruang Bowman Ginjal Tikus Diabetes Melitus Yang Diberi Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) dan Sambiloto (*Andrographis paniculata*). 2020;
20. Dorsemans AC, Lefebvre d'hellencourt C, Ait-Arsa I, Jestin E, Meilhac O, Diotel N. 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 Jun 26;2017(124).
21. Rivandi J, Yonata A. Hubungan Diabetes Melitus Dengan Kejadian Gagal Ginjal Kronik. 2015.
22. Sakamoto E, Seino Y, Fukami A, Mizutani N, Tsunekawa S, Ishikawa K, et al. Ingestion of a moderate high-sucrose diet results in glucose intolerance with reduced liver glucokinase activity and impaired glucagon-like peptide-1 secretion. *J Diabetes Investig*. 2012 Oct;3(5):432–40.
23. Salsabil Alfiyah, Rina Bintari Yoni, Sri Damayanti Dini. Hiperglikemia dan Kerusakan Pankreas Pada Ikan Zebra yang Diinduksi Perendaman Sukrosa. 2024. 2024;
24. Brownlee M. The Pathobiology of Diabetic Complications A Unifying Mechanism [Internet]. Banting Lecture. 2004. Available from: <http://diabetesjournals.org/diabetes/article-pdf/54/6/1615/381945/zdb00605001615.pdf>
25. Singh VP, Bali A, Singh N, Jaggi AS. Advanced glycation end products and diabetic complications. Vol. 18, *Korean Journal of Physiology and Pharmacology*. Korean Physiological Soc. and Korean Soc. of Pharmacology; 2014. p. 1–14.
26. Inoguchi T, Li P, Umeda F, Yu HY, Kakimoto M, Imamura M, et al. High Glucose Level and Free Fatty Acid Stimulate Reactive Oxygen Species Production Through Protein Kinase C-Dependent Activation of NAD(P)H Oxidase in Cultured Vascular Cells [Internet]. Vol. 49, *DIABETES*. 2000. Available from: <http://diabetesjournals.org/diabetes/article-pdf/49/11/1939/365261/11078463.pdf>
27. Giacco F, Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. Vol. 107, *Circulation Research*. 2010. p. 1058–70.
28. Kamaliani BR, Setiasih NLE, Winaya IBO. Histopathological Kidney Overview Of Experimental Diabetes Mellitus Wistar Rats Given Ethanol Extract Of Moringa Leaf. *Buletin Veteriner Udayana*. 2019 Jan 24;71.
29. Zang L, Shimada Y, Nishimura N. Development of a Novel Zebrafish Model for Type 2 Diabetes Mellitus. *Sci Rep*. 2017 Dec 1;7(1).
30. Ahmed I, Zia M, Da'as S, Hasan W, Jeya SP, Aliyev E, et al. Network-based identification and prioritization of key transcriptional factors of diabetic kidney disease. *Comput Struct Biotechnol J*. 2023 Jan 1;21:716–30.
31. Christou-Savina S, Beales PL, Osborn DPS. Evaluation of Zebrafish kidney function using a fluorescent clearance assay. *Journal of Visualized Experiments*. 2015 Feb 22;(96).
32. Jefferson JA, Shankland SJ, Pichler RH. Proteinuria in diabetic kidney disease: A mechanistic viewpoint. Vol. 74, *Kidney International*. Nature Publishing Group; 2008. p. 22–36.