

PERUBAHAN STRUKTUR INNER PLEXIFORM LAYER (IPL) DAN SEL GANGLION RETINA IKAN ZEBRA BETINA (*Danio rerio*) AKIBAT INDUKSI VARIASI DIET LEMAK

Kamelia Wiam^{*}, Arif Yahya^{**}, Dini Sri Damayanti^{**#}

^{*}Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

^{**}Pusat Studi Integrasi Kedokteran Islam, Bioinformatika, dan Obat Tradisional Indonesia (PSIKIBiOTI)

ABSTRAK

Pendahuluan: Paparan diet tinggi lemak dapat menginduksi perubahan metabolik yang berkaitan dengan patogenesis diabetes melitus tipe 2 serta meningkatkan risiko terjadinya retinopati diabetik. Hiperglikemia kronis memicu stres oksidatif dan proses inflamasi yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan retina, ditandai antara lain oleh perubahan ketebalan *Inner Plexiform Layer* (IPL) dan peningkatan nekrosis sel ganglion. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini bertujuan mengevaluasi pengaruh variasi diet lemak terhadap ketebalan IPL dan tingkat nekrosis sel ganglion pada retina ikan zebra betina (*Danio rerio*).

Metode: Penelitian eksperimental *in vivo* selama 28 hari melibatkan 24 ikan zebra betina yang menerima empat variasi diet (n=6/kelompok), yaitu pelet (P), pelet + kolesterol 4% (KP), pelet + kuning telur ayam (KT), dan Artemia (A). Evaluasi histopatologis mencakup ketebalan IPL dan nekrosis sel ganglion retina, dengan analisis *One-Way ANOVA* ($p<0.05$).

Hasil dan Pembahasan: Nekrosis sel ganglion meningkat sebesar 49,01%, 76,07%, dan 47,75% pada kelompok KP, KT, dan A, sedangkan ketebalan IPL menurun masing-masing sebesar 23,75%, 30,94%, dan 11,89% dibandingkan kontrol ($P<0.05$). Kelompok P2 menunjukkan perubahan paling besar, yang diduga berkaitan dengan kombinasi glukotoksitas dan lipotoksitas.

Simpulan: Induksi variasi diet lemak menyebabkan perubahan struktur retina ikan zebra betina (*Danio rerio*), dengan penurunan ketebalan IPL dan peningkatan nekrosis sel ganglion paling pada kelompok KT.

Kata Kunci: Ikan zebra (*D. rerio*), variasi diet lemak, retina.

#Penulis Korespondensi: Dini Sri Damayanti (dinisridamayanti@unisma.ac.id)

Jl. M.T. Haryono 193, Kota Malang, 65144

STRUCTURAL CHANGES IN THE INNER PLEXIFORM LAYER (IPL) AND RETINAL GANGLION CELLS OF FEMALE ZEBRAFISH (*Danio rerio*) INDUCED BY DIETARY FAT VARIATIONS

Kamelia Wiam^{*}, Arif Yahya^{**}, Dini Sri Damayanti^{**#}

^{*}Faculty of Medicine, University of Islam Malang

^{**}Center for the Integration of Islamic Medicine, Bioinformatics, and Indonesian Traditional Medicine (CIIMBITM)

ABSTRACT

Background: Exposure to a high-fat diet may induce metabolic alterations associated with the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus and increase the risk of diabetic retinopathy. Chronic hyperglycemia promotes oxidative stress and inflammatory processes that may contribute to retinal tissue damage, characterized by alterations in *Inner Plexiform Layer* (IPL) thickness and increased retinal ganglion cell necrosis. Therefore, this study aimed to evaluate the effects of dietary fat variations on IPL thickness and the extent of retinal ganglion cell necrosis in female zebrafish (*Danio rerio*).

Methods: A 28-day *in vivo* experimental study was conducted using 24 female zebrafish, assigned to four dietary groups (n=6/group): pellet (P), 4% cholesterol-supplemented pellet (KP), chicken egg yolk-supplemented pellet (KT), and Artemia (A). Histopathological evaluation included IPL thickness and retinal ganglion cell necrosis, followed by *One-Way ANOVA* analysis ($p<0.05$).

Results and Discussion: Retinal ganglion cell necrosis increased by 49.01%, 76.07%, and 47.75% in the KP, KT, and A groups, respectively, whereas IPL thickness decreased by 23.75%, 30.94%, and 11.89% compared with the control group ($p<0.05$). The KT group exhibited the most pronounced changes, which may be associated with the combined effects of glucotoxicity and lipotoxicity.

Conclusion: Induction of dietary fat variations caused structural changes in the retina of female zebrafish (*Danio rerio*), with the greatest decrease in IPL thickness and the highest increase in retinal ganglion cell necrosis observed in the KT group.

Keywords: Zebrafish (*D. rerio*), dietary fat variations, retinal.

#Corresponding author: Dini Sri Damayanti (dinisridamayanti@unisma.ac.id)

Jl. M.T. Haryono 193, Kota Malang, 65144

PENDAHULUAN

Diet tinggi lemak dapat memicu akumulasi lemak tubuh dan perubahan fungsi metabolik yang berperan dalam meningkatkan risiko terjadinya diabetes melitus tipe 2. Akumulasi lipid pada jaringan yang terjadi akibat asupan lemak berlebih dapat mengganggu fungsi metabolik dan selanjutnya memicu peningkatan stres oksidatif serta inflamasi kronis. Kondisi ini mengganggu jalur persinyalan insulin, sehingga menyebabkan resistensi insulin.¹ Disregulasi metabolisme glukosa menyebabkan peningkatan kadar glukosa darah yang berlangsung terus-menerus dan dapat mempercepat perkembangan diabetes melitus tipe 2.

Diabetes melitus (DM) merupakan gangguan metabolik kronis yang ditandai oleh hiperglikemia akibat ketidakcukupan sekresi insulin, penurunan sensitivitas terhadap insulin, atau kombinasi keduanya. Pada tahun 2021, diabetes melitus diperkirakan dialami oleh 536,6 juta orang berusia 20–79 tahun di seluruh dunia, atau sekitar 10,5% dari populasi pada kelompok usia tersebut. Jumlah ini diproyeksikan meningkat menjadi 783,2 juta orang (12,2%) pada tahun 2045. Berbagai faktor dapat berkontribusi terhadap meningkatnya kejadian diabetes melitus (DM), termasuk pertambahan usia, faktor genetik, obesitas, kebiasaan makan yang kurang sehat, serta aktivitas fisik yang rendah.²

Gangguan penglihatan pada penderita diabetes melitus tipe 2 salah satunya disebabkan oleh retinopati diabetik, yaitu komplikasi mikrovaskular yang umum terjadi akibat diabetes. Retinopati diabetic ditemukan pada sekitar 34,6% individu yang hidup dengan diabetes secara global.³ Secara patofisiologis, paparan hiperglikemia yang berlangsung terus-menerus dapat meningkatkan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) dan *advanced glycation end products* (AGEs), sehingga mendorong terjadinya stres oksidatif. Peningkatan stres oksidatif dan akumulasi AGEs selanjutnya dapat menyebabkan kerusakan pada sel-sel retina serta mengganggu integritas vaskular retina.⁴

Ikan zebra (*Danio rerio*) banyak dimanfaatkan sebagai model vertebrata dalam penelitian biomedis, didukung oleh tingkat homologi genetik sekitar 70% dengan manusia.⁵ Salah satu model induksi diabetes melitus pada ikan zebra dapat dilakukan dengan cara pemberian diet tinggi lemak. Penelitian oleh Jin et al. (2023) menunjukkan bahwa pemberian *high-cholesterol diet* (HCD) dengan kolesterol 4% selama 14 hari menyebabkan hiperkolesterolemia pada ikan zebra.⁶ Selain itu, Silva et al. (2024) melaporkan bahwa pemberian diet tinggi lemak berbasis kuning telur ayam dan artemia selama 8 minggu meningkatkan kadar trigliserida, glukosa darah, serta insulin pada ikan zebra.⁷ Pada model mamalia, Wang et al. (2025) menemukan bahwa diet tinggi lemak selama 4 bulan menginduksi apoptosis sel retina, sedangkan Cao et al. (2025) melaporkan terjadinya penurunan ketebalan retina setelah pemberian diet tinggi lemak selama 6 bulan.^{8,9}

Berdasarkan fakta-fakta tersebut, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh variasi diet lemak terhadap ketebalan IPL dan nekrosis sel ganglion retina ikan zebra betina (*Danio rerio*) setelah pemberian perlakuan selama 28 hari.

METODE

Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian laboratorium dengan metode *true experimental* menggunakan desain *Posttest-Only Control Group*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Riset Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang serta Laboratorium Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang pada periode November 2025-Mei 2026. Persetujuan etik penelitian telah diperoleh dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Rumah Sakit Islam Malang dengan nomor surat No. 43/KEPK/RSI-U/VII/2025.

Subyek/Sample Penelitian

Subyek penelitian ini adalah 24 ekor ikan zebra betina (*Danio rerio*) berusia 3-5 bulan yang dibagi secara acak ke dalam empat kelompok ($n=6$), yaitu kelompok diet pelet (P), diet campuran pelet dan kolesterol 4% (KP), diet campuran pelet dan kuning telur ayam (KT), serta diet artemia (A). Rerata kadar glukosa darah masing-masing kelompok berturut-turut sebesar 151 ± 59 mg/dL, 154 ± 23 mg/dL, 189 ± 89 mg/dL, dan 215 ± 106 mg/dL pada kelompok P, KP, KT, dan A.

Kegiatan Pra Penelitian

Aklimatisasi Ikan Zebra Betina (*D. rerio*)

Sebelum penelitian, seluruh ikan menjalani proses aklimatisasi selama satu minggu dalam akuarium dengan suhu air 25°C, pH 6–8, siklus pencahayaan 14 jam terang dan 10 jam gelap, serta aerasi kontinu. Pakan pelet diberikan tiga kali sehari dan pergantian air dilakukan secara rutin untuk menjaga kualitas lingkungan pemeliharaan.¹⁰

Persiapan Pakan Variasi Diet Lemak

Diet KP dibuat dengan mencampurkan bubuk kolesterol (Sigma-Aldrich) sebanyak 40 mg ke dalam 960 mg pelet ikan sehingga diperoleh konsentrasi kolesterol 4%. Kolesterol terlebih dahulu dilarutkan dalam etanol 99,7%, kemudian dicampurkan dengan pelet. Pelarut diuapkan menggunakan rotavapor pada suhu 40°C, dilanjutkan pengeringan dalam oven selama 24 jam. Pakan yang telah kering disaring menggunakan mesh 500 μ m dan disimpan dalam freezer hingga digunakan.⁶

Diet KT dibuat dengan mencampurkan kuning telur ayam rebus dan pelet dengan rasio 5:1 sesuai metode Silva et al. (2024). Kuning telur dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40°C selama 24 jam, kemudian dihaluskan dan dicampur dengan pelet. Campuran selanjutnya ditambahkan larutan natrium karboksimetil selulosa (Na-CMC) sebagai bahan pengikat hingga homogen. Pakan kemudian dikeringkan kembali pada suhu 40°C selama 24 jam, disaring menggunakan mesh 500 μ m, dan disimpan dalam freezer hingga digunakan.⁷

Diet A yang digunakan berupa artemia kering komersial (*Polar Red*). Artemia ditimbang sesuai dosis pemberian pakan yang telah ditentukan, kemudian dikemas sesuai kebutuhan harian dan disimpan pada kondisi kering hingga digunakan selama periode perlakuan.⁷

Kegiatan Saat Penelitian

Perlakuan Hewan Coba

Setelah aklimatisasi, ikan dibagi menjadi empat kelompok perlakuan yang masing-masing terdiri atas enam ekor ikan. Kelompok P diberikan pakan pelet komersial, kelompok KP diberikan pakan campuran pelet + kolesterol 4%, kelompok KT diberikan pakan campuran pelet + kuning telur ayam, dan kelompok A diberikan pakan artemia kering (*Polar Red*). Perlakuan diberikan selama 28 hari dengan frekuensi tiga kali sehari.

Kelompok P menerima pelet sebanyak 3,5% dari berat badan ikan per kali pemberian. Kelompok KP dan KT menerima pakan sebanyak 5% dari berat badan ikan per kali pemberian, sedangkan kelompok A menerima artemia sebanyak 20 mg/ekor setiap kali pemberian pakan. Sisa pakan dibersihkan satu jam setelah pemberian pakan dan pergantian air dilakukan tiga kali sehari untuk menjaga kualitas media pemeliharaan.

Pembuatan Preparat Histopatologi Retina

Setelah periode perlakuan berakhir, jaringan retina ikan zebra difiksasi menggunakan formalin buffer fosfat 10% selama 24 jam. Sampel kemudian diproses melalui tahapan dehidrasi menggunakan alkohol bertingkat, *clearing* menggunakan xylol, infiltrasi parafin, *embedding*, dan pembedahan jaringan setebal 4–5 µm menggunakan mikrotom. Preparat selanjutnya diwarnai dengan Hematoxylin-Eosin (HE) sesuai prosedur histopatologi standar sebelum dilakukan pengamatan mikroskopis.¹¹

Kegiatan Akhir Penelitian

Pengamatan Nekrosis Sel Ganglion Retina

Pengamatan nekrosis sel ganglion retina dilakukan menggunakan mikroskop trinokuler Olympus IX53M yang terhubung dengan komputer. Perhitungan jumlah sel menggunakan perangkat

lunak *ImageJ* yang dilakukan pada lima lapang pandang berbeda dengan perbesaran 960×. Sel ganglion yang mengalami nekrosis diidentifikasi berdasarkan perubahan morfologi berupa piknosis, karioreksis, kariolisis, dan hilangnya integritas membran sel.¹² Hasil pengamatan dinyatakan sebagai persentase jumlah sel nekrosis terhadap jumlah total sel ganglion retina pada setiap lapang pandang dengan menggunakan rumus proporsi yaitu $\frac{a}{b} \times 100\%$.

Keterangan:

a = Jumlah nekrosis sel ganglion dalam 1 lapang pandang

b = jumlah keseluruhan sel ganglion dalam 1 lapang pandang

Pengamatan Ketebalan *Inner Plexiform Layer* (IPL) Retina

Pengukuran ketebalan IPL dilakukan menggunakan perangkat lunak *ImageJ* pada preparat retina yang diamati dengan perbesaran 400×. Pengukuran dilakukan pada 5 lapang pandang berbeda. Pada setiap lapang pandang dilakukan pengukuran pada 4 titik berbeda dengan menarik garis tegak lurus dari batas bawah *Ganglion Cell Layer* (GCL) hingga batas atas *Inner Nuclear Layer* (INL). Nilai ketebalan IPL dinyatakan dalam mikrometer (µm) sebagai rerata seluruh hasil pengukuran.

Analisa Data

Data disajikan dalam bentuk rerata ± SD. Analisis data diawali dengan uji normalitas dan homogenitas untuk menentukan distribusi dan kesamaan varians data. Selanjutnya, perbedaan rerata antar kelompok dianalisis menggunakan uji *One-Way ANOVA* dengan $p < 0.05$. Apabila diperoleh hasil yang signifikan, analisis dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tukey HSD* untuk mengetahui perbedaan antar pasangan kelompok perlakuan. Pengolahan dan analisis data dilakukan menggunakan *software SPSS Statistics* versi 27.0.

HASIL DAN ANALISA DATA

Hasil Pengukuran Analisis Kadar Lemak Kasar Pakan

Hasil persentase kadar lemak kasar pakan yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada **Tabel 1**.

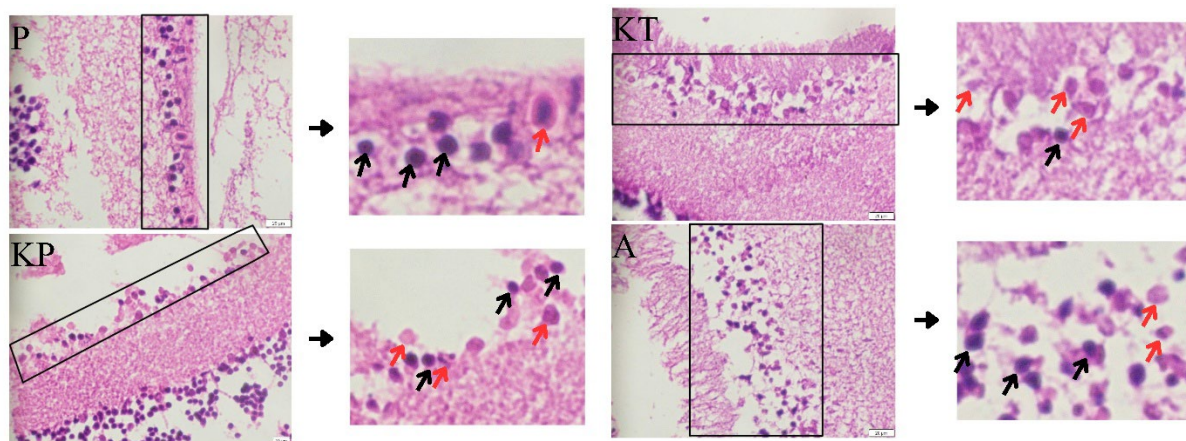
Tabel 1. Kadar lemak kasar pakan

Jenis pakan	Persentase kadar lemak kasar (%)
P	3,22%
KP	7,1%
KT	50,5%
A	4,5%

Keterangan: P: pakan pelet; KP: pakan pelet + kolesterol 4%; KT: pakan pelet + kuning telur ayam; A: pakan *Artemia*. Persentase menunjukkan hasil analisis kadar lemak kasar pada masing-masing jenis pakan.

Pengaruh Variasi Diet Lemak terhadap Jumlah Nekrosis Sel Ganglion Retina Ikan Zebra Betina (*D. rerio*).

Hasil Perhitungan jumlah nekrosis sel ganglion retina ikan zebra betina dapat dilihat pada **Tabel 2**, **Gambar 1**, dan **Gambar 2**.

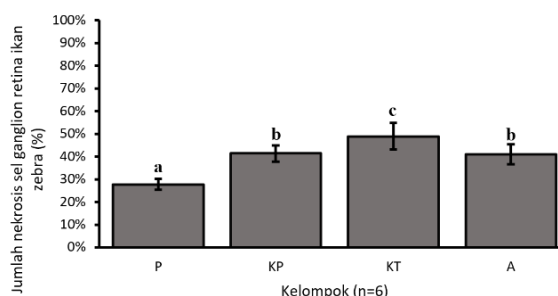


Gambar 1. Gambaran histopatologis nekrosis sel ganglion retina pada ikan zebra betina (*Danio rerio*) (HE, 960x)

Keterangan: Pada kelompok kontrol (P), sel ganglion masih menunjukkan morfologi normal dengan proporsi sel nekrotik yang rendah. Sebaliknya, kelompok KP, KT, dan A memperlihatkan lebih banyak sel dengan karakteristik nekrotik serta kepadatan sel normal yang lebih rendah dibandingkan kelompok P. P: pelet; KP: pelet + kolesterol 4%; KT: pelet + kuning telur ayam; A: *Artemia*. Kotak hitam menandai area *Ganglion Cell Layer* (GCL) yang diperbesar dan ditampilkan pada panel sebelah kanan. Panah hitam menandai sel ganglion yang menunjukkan morfologi normal, dengan bentuk bulat, struktur sel utuh, dan pewarnaan basofilik yang homogen. Panah merah menunjukkan sel ganglion yang mengalami nekrosis, ditandai oleh perubahan morfologi berupa kerusakan membran plasma sel, inti piknotik (inti mengecil), karioreksis (fragmentasi inti), atau kariolisis (hilangnya pewarnaan inti).

Tabel 2. Nekrosis sel ganglion retina ikan zebra betina (*Danio rerio*) setelah pemberian variasi diet lemak selama 28 hari

Kelompok	n (sampel)	Nekrosis sel ganglion retina (rata-rata $\pm$ SD)
P	6	27.75 $\pm$ 2.44% ^a
KP	6	41.35 $\pm$ 3.64% ^b
KT	6	48.86 $\pm$ 5.88% ^c
A	6	41.00 $\pm$ 4.41% ^b



Gambar 2. Histogram jumlah nekrosis sel ganglion retina ikan zebra betina (*D. rerio*)

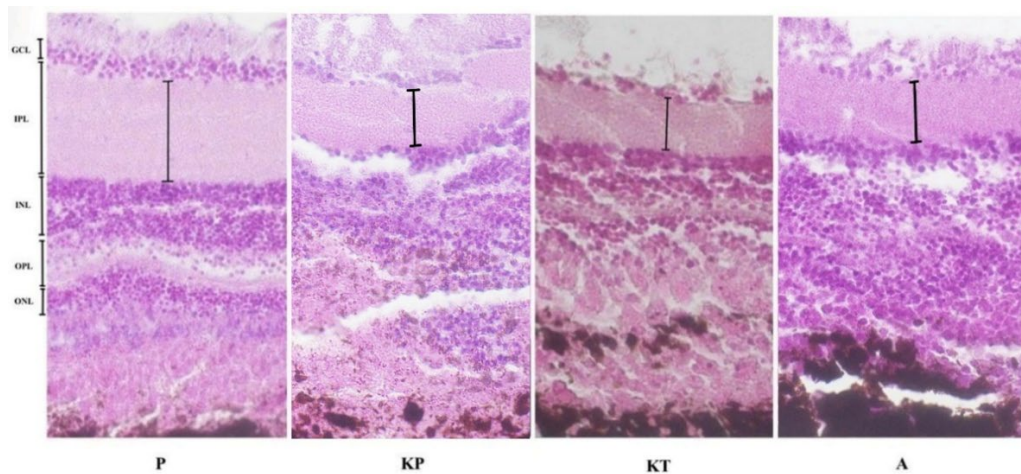
Keterangan: Data dianalisis menggunakan *One-Way ANOVA* dan menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$). P: diet pelet; KP: diet pelet + kolesterol 4%; KT: diet pelet + kuning telur ayam; A: diet artemia. Huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan signifikan berdasarkan uji *Post Hoc Tukey HSD* ($p < 0.05$).

Pemberian variasi diet lemak menyebabkan terjadinya peningkatan jumlah nekrosis sel ganglion retina dibandingkan kelompok kontrol (P) dengan $p < 0.05$. Persentase peningkatan nekrosis sel ganglion retina pada ikan zebra betina masing-masing

mencapai 49,01%, 76,07%, dan 47,75% pada kelompok KP, KT, dan A. Analisis antar kelompok perlakuan menunjukkan bahwa jumlah nekrosis pada kelompok KT lebih tinggi secara signifikan dibandingkan kelompok P, KP, dan A ($p < 0.05$).

Pengaruh Variasi Diet Lemak terhadap Ketebalan *Inner Plexiform Layer* (IPL) Ikan Zebra Betina (*D. rerio*)

Hasil pengukuran ketebalan *Inner Plexiform Layer* (IPL) dapat dilihat pada Tabel 3, Gambar 3, dan Gambar 4.

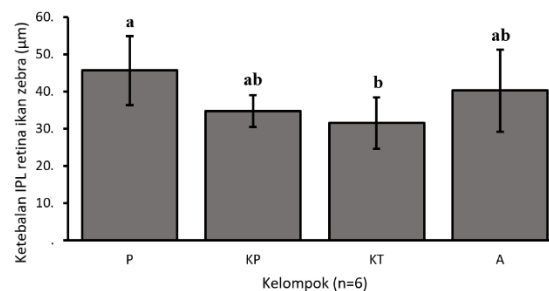


Gambar 3. Histologi lapisan retina ikan zebra betina (*D. rerio*) (HE, 400x)

Keterangan: Ketebalan *Inner Plexiform Layer* (IPL) pada kelompok P menunjukkan nilai tertinggi dibandingkan kelompok diet lainnya, sedangkan kelompok KP, KT, dan A menunjukkan ketebalan IPL yang relatif serupa. P: pelet; KP: pelet + kolesterol 4%; KT: pelet + kuning telur ayam; A: *artemia*. GCL: *Ganglion Cell Layer*; IPL: *Inner Plexiform Layer*; INL: *Inner Nuclear Layer*; OPL: *Outer Plexiform Layer*; ONL: *Outer Nuclear Layer*.

Tabel 3. Ketebalan IPL retina ikan zebra betina (*D. rerio*) yang diinduksi diet lemak selama 28 hari

Kelompok	n (sampel)	Ketebalan IPL (rata-rata $\pm$ SD)
P	6	45.616 $\pm$ 9.262 μm ^a
KP	6	34.782 $\pm$ 4.284 μm ^{ab}
KT	6	31.503 $\pm$ 6.870 μm ^b
A	6	40.190 $\pm$ 11.083 μm ^{ab}



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

Keterangan: Data dianalisis menggunakan *One-Way ANOVA* dan menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$). P: diet pelet; KP: diet pelet + kolesterol 4%; KT: diet pelet + kuning telur ayam; A: diet *Artemia*. Huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan signifikan berdasarkan uji *Post Hoc Tukey HSD* ($p < 0,05$).

Pemberian variasi diet lemak pada kelompok KT menyebabkan penurunan ketebalan *Inner Plexiform Layer* (IPL) yang signifikan dibandingkan kelompok kontrol (P) ($p < 0,05$). Ketebalan IPL pada kelompok KP, KT dan A mengalami penurunan berturut-turut sebesar 23,75%, 30,94%, dan 11,89% dibandingkan kelompok P.

PEMBAHASAN

Karakteristik Sampel Penelitian

Dalam penelitian biomedis, ikan zebra (*Danio rerio*) banyak dimanfaatkan sebagai hewan model karena menunjukkan kesamaan aspek fisiologis, genetik, dan metabolik dengan vertebrata.¹³ Ikan zebra (*Danio rerio*) juga memiliki keunggulan berupa siklus hidup yang singkat dan kebutuhan pemeliharaan yang relatif sederhana. Penelitian ini

melibatkan ikan zebra betina berusia 3–5 bulan yang dibagi ke dalam kelompok perlakuan, masing-masing terdiri atas enam ekor. Pemilihan rentang usia tersebut didasarkan pada pertimbangan bahwa ikan zebra telah memasuki tahap dewasa, sehingga perkembangan organ tubuh diharapkan telah berlangsung secara optimal. Ikan zebra betina digunakan sebagai subjek penelitian karena memiliki kemampuan penyimpanan lipid yang relatif lebih besar daripada ikan zebra jantan.¹⁴

Pada penelitian ini, ikan zebra betina diberikan perlakuan variasi diet lemak selama 28 hari sesuai dengan kelompok perlakuan. Durasi pemberian diet lemak selama 8 minggu pada ikan zebra dalam penelitian terdahulu menunjukkan adanya perkembangan obesitas yang disertai perubahan histopatologis pada beberapa organ.⁷ Penelitian lain juga menyebutkan bahwa pemberian diet tinggi

kolesterol pada ikan zebra selama 14 hari menyebabkan terjadinya hiperkolesterolemia.⁶ Oleh karena itu, durasi perlakuan selama 28 hari dipilih untuk mengamati kemungkinan terjadinya perubahan metabolik akibat variasi diet lemak serta dampaknya terhadap struktur jaringan retina.

Sebagai kelompok kontrol, ikan zebra pada kelompok P diberi pakan pelet yang digunakan untuk mendukung pemeliharaan dalam kondisi normal tanpa ditujukan untuk memicu perubahan metabolik. Variasi diet diberikan sesuai dengan kelompok perlakuan. Kelompok KP memperoleh pelet yang disuplementasi kolesterol 4%, sedangkan kelompok KT mendapat kombinasi pelet dan kuning telur ayam sebagai sumber kolesterol serta lemak. Sementara itu, kelompok A diberi *Artemia* sebagai pakan alami yang mengandung protein dan lipid. Variasi komposisi nutrisi pada masing-masing kelompok diet diharapkan dapat menimbulkan respons metabolik yang berbeda dan selanjutnya memengaruhi perubahan pada jaringan retina.

Pemberian variasi diet lemak ditujukan untuk memicu perubahan metabolik yang berkaitan dengan obesitas, yang selanjutnya berpotensi memengaruhi sensitivitas insulin dan fungsi sel β pankreas dalam menghasilkan insulin. Pengukuran kadar glukosa darah menunjukkan bahwa setiap kelompok perlakuan memiliki kadar glukosa yang berbeda. Rerata kadar glukosa darah pada kelompok P, KP, KT, dan A masing-masing tercatat sebesar 151 ± 59 mg/dL, 154 ± 23 mg/dL, 189 ± 89 mg/dL, dan 215 ± 106 mg/dL. Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa kadar glukosa darah puasa normal pada ikan zebra sebesar $74 \pm 8,5$ mg/dL, sedangkan kondisi hiperglikemia pada ikan zebra umumnya didefinisikan sebagai kadar glukosa darah yang melebihi tiga kali nilai normal.¹⁵ Pada penelitian ini, peningkatan tertinggi ditemukan pada kelompok A, dengan kadar glukosa darah puasa mencapai 1,42 kali nilai normal.

Variasi kadar glukosa darah antar kelompok diduga berkaitan dengan perbedaan kandungan nutrisi pada diet yang diberikan. Kadar glukosa darah tertinggi ditemukan pada kelompok A. Kondisi tersebut diduga berkaitan dengan kandungan protein yang tinggi pada *artemia*. Pada ikan, asam amino menjadi salah satu substrat utama dalam metabolisme energi, sementara pemanfaatan glukosa dan asam lemak sebagai sumber energi berlangsung dalam proporsi yang lebih rendah.¹⁶ Ketersediaan asam amino yang meningkat akibat asupan protein yang lebih tinggi dapat dimanfaatkan sebagai prekursor dalam proses glukoneogenesis, sehingga mendukung pembentukan glukosa. Kadar glukosa darah pada kelompok KT berada di bawah kelompok A, tetapi masih lebih tinggi dibandingkan kelompok P dan KP. Perbedaan tersebut diduga berkaitan dengan tingginya kandungan lemak dan kolesterol dalam kuning telur ayam. Asupan lipid yang tinggi dapat

mendorong akumulasi lipid dan perubahan metabolik, termasuk inflamasi serta penurunan sensitivitas insulin, yang pada akhirnya berpotensi mengganggu homeostasis glukosa.¹⁷ Kadar glukosa darah pada kelompok KP lebih rendah daripada kelompok KT, meskipun kedua kelompok memperoleh tambahan sumber lipid dalam diet. Perbedaan respons tersebut kemungkinan berkaitan dengan jumlah dan karakteristik lipid yang diberikan. Suplementasi kolesterol pada kelompok KP hanya sebesar 4%, sedangkan kelompok KT memiliki kandungan lemak kasar yang jauh lebih tinggi, yaitu 50,5%, dengan komponen lipid yang lebih beragam, termasuk trigliserida, fosfolipid, dan kolesterol.¹⁸ Sementara itu, kadar glukosa darah paling rendah ditemukan pada kelompok P. Kondisi tersebut dapat dikaitkan dengan pemberian pakan pelet tanpa suplementasi sumber lipid dalam jumlah tinggi, sehingga paparan terhadap kelebihan lipid relatif lebih rendah.

Pengaruh Variasi Diet Lemak terhadap Nekrosis Sel Ganglion Retina Ikan Zebra Betina (*D. rerio*)

Hasil pengamatan menunjukkan adanya perbedaan persentase nekrosis sel ganglion retina ikan zebra betina antar kelompok perlakuan. Kelompok P memiliki persentase nekrosis sebesar $27,75 \pm 2,44\%$ dan berbeda signifikan dibandingkan seluruh kelompok perlakuan. Persentase nekrosis pada kelompok KP, KT, dan A masing-masing meningkat sebesar 49,01%, 76,07%, dan 47,75% dibandingkan kelompok P. Peningkatan tertinggi ditemukan pada kelompok KT, sedangkan kelompok KP dan A menunjukkan persentase nekrosis yang relatif serupa. Temuan ini menunjukkan bahwa pemberian diet campuran pelet dan kuning telur ayam berkaitan dengan tingkat kerusakan sel ganglion retina yang lebih tinggi dibandingkan kelompok diet lainnya.

Peningkatan nekrosis sel ganglion retina yang ditemukan dalam penelitian ini diduga berhubungan dengan perubahan metabolik akibat pemberian diet lemak. Asupan lemak yang berlebihan dapat menyebabkan ketidakseimbangan antara asupan dan penggunaan energi, sehingga kelebihan energi disimpan sebagai jaringan adiposa dan berpotensi memicu terjadinya obesitas.¹⁹ Kelebihan lipid yang terakumulasi pada jaringan berpotensi menginduksi proses inflamasi melalui peningkatan pelepasan mediator proinflamasi, seperti $\text{TNF-}\alpha$ dan IL-6 .²⁰ Respons inflamasi yang berlangsung dapat menurunkan efektivitas sinyal insulin, sehingga menghambat regulasi glukosa dan berkontribusi terhadap peningkatan kadar glukosa darah.¹⁷ Paparan kadar glukosa yang tinggi secara terus-menerus dapat memicu berbagai jalur metabolik patologis yang meningkatkan produksi *reactive oxygen species* (ROS). Akumulasi ROS berlebih selanjutnya menimbulkan stres oksidatif dan menyebabkan kerusakan pada membran sel, protein, DNA, serta

mitokondria, sehingga keseimbangan fungsi seluler dapat terganggu.⁴ Kerusakan sel yang terjadi secara berkelanjutan dapat mengganggu stabilitas dan integritas membran plasma, sehingga pada kondisi yang berat dapat berujung pada kematian sel melalui proses nekrosis.¹²

Pada penelitian ini, kelompok KT menunjukkan persentase nekrosis sel ganglion retina tertinggi, meskipun kadar glukosa darah pada kelompok A lebih tinggi. Perbedaan tersebut mengindikasikan bahwa perubahan struktur retina kemungkinan tidak hanya berkaitan dengan kadar glukosa, tetapi juga dengan komposisi lipid dalam diet. Kandungan lemak kasar pada diet KT mencapai 50,5%, jauh lebih tinggi dibandingkan diet A yang sebesar 4,5%, sehingga paparan lipid yang lebih tinggi pada kelompok KT berpotensi meningkatkan akumulasi lipid dan memicu lipotoksitas jaringan. Kondisi tersebut diduga memperberat kerusakan sel melalui interaksi antara glukotoksitas dan lipotoksitas. Kombinasi keduanya atau glukolipotoksitas berpotensi meningkatkan stres oksidatif secara lebih berat dibandingkan paparan glukotoksitas atau lipotoksitas secara individual, sehingga dapat berkontribusi terhadap tingginya nekrosis sel ganglion pada kelompok KT.²¹ Glukotoksitas dan lipotoksitas yang terjadi secara terpisah dapat meningkatkan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS). Namun, keberadaan lipotoksitas dalam kondisi glukotoksik dapat memperkuat produksi ROS dan menyebabkan gangguan homeostasis mitokondria yang lebih berat.²²

Temuan dalam penelitian ini konsisten dengan hasil penelitian Shrestha et al. (2022) pada ikan zebra, yang menunjukkan bahwa kondisi hiperglikemia berkaitan dengan penurunan jumlah sel ganglion retina, gangguan perkembangan retina, serta perubahan organisasi sinaps pada jaringan retina.²³ Meskipun hiperglikemia diketahui berkaitan dengan penurunan jumlah sel ganglion retina pada ikan zebra sebagaimana dilaporkan oleh Shrestha et al. (2022), penelitian ini menunjukkan bahwa persentase nekrosis sel ganglion tertinggi terdapat pada kelompok KT. Temuan tersebut menunjukkan bahwa kadar glukosa darah bukan merupakan satu-satunya faktor yang berkaitan dengan terjadinya kerusakan sel ganglion retina. Meskipun kelompok A memiliki kadar glukosa darah yang lebih tinggi, tingginya kandungan lemak pada kelompok KT diduga turut berperan dalam meningkatkan lipotoksitas, sehingga berpotensi memperberat kerusakan sel ganglion retina dan meningkatkan terjadinya nekrosis.

Pengaruh Variasi Diet Lemak terhadap Ketebalan *Inner Plexiform Layer* (IPL) Ikan Zebra Betina (*Danio rerio*)

Hasil pengukuran menunjukkan bahwa kelompok KT memiliki ketebalan *Inner Plexiform Layer* (IPL) yang lebih rendah dibandingkan kelompok P. Penurunan ketebalan IPL pada kelompok KT mencapai 30,94% dari nilai kelompok P ($45,62 \pm 9,26 \mu\text{m}$). Kelompok KP dan A tidak menunjukkan perbedaan ketebalan IPL yang signifikan dibandingkan kelompok P. Sebaliknya, kelompok KT menunjukkan perubahan ketebalan IPL yang lebih besar, sehingga pemberian diet kombinasi pelet dan kuning telur ayam diduga memberikan pengaruh yang lebih nyata terhadap struktur IPL retina. Perubahan tersebut diduga berkaitan dengan gangguan metabolik akibat paparan diet dengan kandungan lemak yang tinggi. Peningkatan ketersediaan lipid dapat mendorong akumulasi lemak pada jaringan dan memicu respons inflamasi. Proses inflamasi tersebut selanjutnya berpotensi mengganggu jalur persinyalan insulin, sehingga regulasi glukosa darah menjadi terganggu dan dapat berkontribusi terhadap terjadinya hiperglikemia.¹⁷ Paparan hiperglikemia dalam jangka panjang dapat mengaktifasi berbagai jalur patologi yang berperan dalam meningkatkan stres oksidatif. Kondisi tersebut ditandai dengan peningkatan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) yang dapat merusak komponen seluler, termasuk membran sel, protein, dan DNA, sehingga mengganggu homeostasis sel. Kerusakan sel yang berlangsung secara berkelanjutan selanjutnya dapat memicu degenerasi neuron retina dan berpotensi menyebabkan perubahan struktural pada lapisan *Inner Plexiform Layer* (IPL), termasuk penurunan ketebalannya.⁴

Kelompok KP dan A tidak menunjukkan penurunan ketebalan IPL yang signifikan dibandingkan kelompok P. Temuan tersebut menunjukkan bahwa pemberian kedua jenis diet tersebut belum menimbulkan perubahan metabolik yang cukup berat untuk menghasilkan perubahan struktural IPL yang bermakna. Meskipun kelompok A memiliki kadar glukosa darah tertinggi, kondisi tersebut belum diikuti oleh penurunan ketebalan IPL yang signifikan. Hal ini diduga berkaitan dengan rendahnya kandungan lemak pada diet A, yaitu sebesar 4,5%, sehingga paparan glukosa yang tinggi tanpa disertai asupan lipid yang tinggi kemungkinan belum cukup untuk menimbulkan kerusakan struktural IPL secara nyata. Selain itu, *Artemia* memiliki kandungan protein yang relatif tinggi, sekitar 50–60%, sehingga asupan nutrisi tersebut diduga lebih banyak digunakan untuk memenuhi kebutuhan pertumbuhan dan pemeliharaan jaringan daripada disimpan sebagai cadangan energi dalam bentuk lipid.^{24,25}

Kelompok KT memiliki nilai ketebalan IPL paling rendah dibandingkan kelompok lainnya. Kondisi tersebut diduga berkaitan dengan tingginya kandungan lemak pada diet KT, yaitu sekitar 50,5%, yang berpotensi meningkatkan akumulasi lipid di dalam jaringan. Penumpukan lipid yang berlebihan selanjutnya dapat memicu lipotoksitas melalui

berbagai mekanisme, termasuk peningkatan stres oksidatif, gangguan fungsi mitokondria, dan aktivasi respons inflamasi seluler.²⁶ Peningkatan kadar glukosa darah yang disertai tingginya paparan lipid pada kelompok KT diduga menimbulkan kondisi glukolipotoksitas. Keadaan tersebut mencerminkan interaksi antara gangguan metabolisme glukosa dan lipid yang berpotensi menghasilkan efek sitotoksik lebih besar dibandingkan apabila kedua kondisi tersebut terjadi secara terpisah.²¹ Peningkatan stres oksidatif yang terjadi akibat kondisi glukolipotoksitas berpotensi menimbulkan kerusakan pada neuron retina, termasuk sel ganglion beserta dendritnya yang merupakan salah satu komponen penyusun *Inner Plexiform Layer* (IPL).⁴ Kerusakan pada neuron retina dapat menyebabkan berkurangnya koneksi sinaptik yang terdapat pada lapisan IPL, sehingga integritas struktural lapisan tersebut terganggu dan berpotensi menyebabkan penurunan ketebalan IPL.

Temuan penelitian ini sejalan dengan laporan Lim et al. (2020) yang menunjukkan adanya penurunan ketebalan lapisan *ganglion cell-inner plexiform layer* (GC-IPL) pada pasien diabetes selama masa observasi tiga tahun. Penurunan ketebalan GC-IPL tersebut mengindikasikan adanya kerusakan neuronal retina yang dapat berlangsung secara progresif pada kondisi diabetes.²⁷ Pada penelitian ini, penurunan ketebalan IPL yang lebih besar pada kelompok KT diduga berkaitan dengan kombinasi peningkatan kadar glukosa darah dan tingginya kandungan lemak dalam diet. Kondisi tersebut berpotensi meningkatkan paparan lipid dan memicu lipotoksitas yang selanjutnya dapat berkontribusi terhadap perubahan struktur retina. Namun, penelitian ini belum melakukan pengukuran kadar lipid darah sehingga perubahan metabolisme lipid pada ikan zebra belum dapat diketahui secara langsung.

SIMPULAN

Pemberian variasi diet lemak menyebabkan perubahan struktur retina ikan zebra betina (*Danio rerio*), yang ditandai dengan penurunan ketebalan IPL dan peningkatan nekrosis sel ganglion retina. Kelompok diet campuran pelet dan kuning telur ayam menunjukkan penurunan ketebalan IPL dan peningkatan nekrosis sel ganglion paling tinggi dibandingkan kelompok lainnya.

SARAN

Merupakan pengalaman dan pertimbangan penulis yang diperuntukkan bagi:

1. Menambah jumlah sampel untuk mengantisipasi kehilangan hewan coba selama masa penelitian
2. Melakukan analisis nutrisi pakan yang lebih lengkap untuk memperjelas hubungan komposisi pakan dengan perubahan retina

3. Menggunakan hewan coba berukuran lebih besar guna mempermudah pengambilan sampel dan pengamatan histologi.
4. Menganalisis profil lipid untuk mengonfirmasi terjadinya dislipidemia akibat diet lemak.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terimakasih kepada Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang (FK UNISMA) dan Ikatan Orang Tua Mahasiswa (IOM FK UNISMA) atas dukungan pendanaan yang telah diberikan sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik. Ucapan terimakasih juga disampaikan kepada dosen pembimbing dan *peer reviewer* artikel ini, serta teman tim penelitian yang membantu terlaksananya penelitian ini dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Elkanawati R, Sumiwi S, Levita J. Impact of Lipids on Insulin Resistance: Insights from Human and Animal Studies. *Drug Des Devel Ther* 2024; Volume 18: 3337–3360.
2. Prasetyo B. Type 2 Diabetes Mellitus: A Review of Determinants, Pathophysiology, Diagnostics, Management, and Complications. *Journal of Scientific Research, Education, and Technology (JSRET)* 2025; 4: 1347–1354.
3. Harjanti AP, Yuliani. The Analysis Study of Association of Dyslipidemia and Diabetic Retinopathy: A Comprehensive Systematic Review. *The Indonesian Journal of General Medicine* 2024; 7: 55–77.
4. Ansari P, Tabasumma N, Snigdha NN, et al. Diabetic Retinopathy: An Overview on Mechanisms, Pathophysiology and Pharmacotherapy. *Diabetology* 2022; 3: 159–175.
5. Siddiqui S, Siddiqui H, Riguene E, et al. Zebrafish: A Versatile and Powerful Model for Biomedical Research. *BioEssays*; 47. Epub ahead of print 18 December 2025. DOI: 10.1002/bies.70080.
6. Jin Y, Kozan D, Anderson JL, et al. A high-cholesterol zebrafish diet promotes hypercholesterolemia and fasting-associated liver triglycerides accumulation. Epub ahead of print 4 November 2023. DOI: 10.1101/2023.11.01.565134.
7. Silva MGFR, Luchiari AC, Medeiros I, et al. Evaluation of the Effects of Diet-Induced Obesity in Zebrafish (*Danio rerio*): A Comparative Study. *Nutrients*; 16. Epub ahead of print 1 October 2024. DOI: 10.3390/nu16193398.
8. Wang X, Ding JJ, Yu CF, et al. PPARα deficiency exacerbates retinal pathological changes and dysfunction in high-fat diet mice. *Int J Ophthalmol* 2025; 18: 986–995.

9. Cao J, Li J, Zheng H, et al. High-fat diet activates pyroptosis of retinal pigment epithelial cells in aged TgAPPswePS1 transgenic mice. *Eur J Med Res*; 30. Epub ahead of print 16 July 2025. DOI: 10.1186/s40001-025-02898-5.
10. Aleström P, D'Angelo L, Midtlyng PJ, et al. Zebrafish: Housing and husbandry recommendations. *Lab Anim* 2020; 54: 213–224.
11. Maftuch, Marsoedi, Putri VD, et al. Studi Ikan Bandeng (*Chanos chanos*) yang Dibudidayakan di Tambak Tercemar LimbahKadmium (Cd) dan Timbal (Pb) di Kalanganyar, Sidoarjo, Jawa Timur terhadap Histopatologi Hati, Ginjal dan Insang. *Journal of Environmental Engineering & Sustainable Technology* 2015; 02: 114–122.
12. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. *Robbins Basic Pathology*. 9th ed. Elsevier, 2013.
13. Hardianti M, Yuniarto A, Hasimun P. Review: Zebrafish (*Danio Rerio*) Sebagai Model Obesitas dan Diabetes Melitus Tipe 2. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis* 2021; 8: 69.
14. Xiang X, Palasuberniam P, Pare R. The Role of Estrogen across Multiple Disease Mechanisms. *Curr Issues Mol Biol* 2024; 46: 8170–8196.
15. Cao Y, Chen Q, Liu Y, et al. Research Progress on the Construction and Application of a Diabetic Zebrafish Model. *International Journal of Molecular Sciences*; 24. Epub ahead of print 1 March 2023. DOI: 10.3390/ijms24065195.
16. Jia S, Li X, He W, et al. Oxidation of Energy Substrates in Tissues of Fish: Metabolic Significance and Implications for Gene Expression and Carcinogenesis. 2021, pp. 67–83.
17. Choo YN, Ravi RN, Subramaniyan V. Insulin resistance induced by obesity: Mechanisms, metabolic implications and therapeutic approaches. *Molecular Biology Reports*; 53. Epub ahead of print 1 December 2026. DOI: 10.1007/s11033-026-11509-3.
18. Abeyrathne EDNS, Nam K-C, Huang X, et al. Egg yolk lipids: separation, characterization, and utilization. *Food Sci Biotechnol* 2022; 31: 1243–1256.
19. Tang C, Wang Y, Xu Z, et al. The relationships between high-fat diet and metabolic syndrome: Potential mechanisms. *Food Biosci* 2024; 59: 104261.
20. Xu S, Lu F, Gao J, et al. Inflammation-mediated metabolic regulation in adipose tissue. *Obesity Reviews*; 25. Epub ahead of print 26 June 2024. DOI: 10.1111/obr.13724.
21. Liu Y, Xiang H, Xiong W, et al. Glucolipotoxicity induces endothelial cell dysfunction by activating autophagy and inhibiting autophagic flow. *Diab Vasc Dis Res*; 19. Epub ahead of print 12 May 2022. DOI: 10.1177/14791641221102513.
22. Kumar B, Kowluru A, Kowluru RA. Lipotoxicity Augments Glucotoxicity-Induced Mitochondrial Damage in the Development of Diabetic Retinopathy. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 2015; 56: 2985.
23. Shrestha AP, Saravanakumar A, Konadu B, et al. Embryonic Hyperglycemia Delays the Development of Retinal Synapses in a Zebrafish Model. *Int J Mol Sci* 2022; 23: 9693.
24. Anh NTN, Toi HT, Hoa N Van. Evaluating Artemia biomass and gut weed (*Ulva intestinalis*) meal as a dietary protein source for black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) postlarvae. *Egypt J Aquat Res* 2023; 49: 97–103.
25. Xing S, Liang X, Zhang X, et al. Essential amino acid requirements of fish and crustaceans, a meta-analysis. *Rev Aquac* 2024; 16: 1069–1086.
26. Römer A, Linn T, Petry SF. Lipotoxic Impairment of Mitochondrial Function in β -Cells: A Review. *Antioxidants* 2021; 10: 293.
27. Lim H Bin, Shin Y Il, Lee MW, et al. Ganglion Cell – Inner Plexiform Layer Damage in Diabetic Patients: 3-Year Prospective, Longitudinal, Observational Study. *Sci Rep* 2020; 10: 1470.