

ZEBRAFISH SEBAGAI MODEL HEWAN COBA UNTUK RISET DIABETES

Anthony Camilo Lim¹, Maftuchah Rochmanti^{2,3}, Husnul Khotimah⁴

¹Program Studi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

²Departemen Anatomi, Histologi, dan Farmakologi, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

³Departemen Pendidikan Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

⁴Departemen Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

ABSTRAK

Diabetes mellitus (DM) merupakan masalah kesehatan global yang serius, mempengaruhi lebih dari 500 juta orang di seluruh dunia. Memahami patofisiologi dan komplikasi DM memerlukan model hewan yang sesuai. *Zebrafish* (*Danio rerio*) telah muncul sebagai model yang menjanjikan untuk penelitian diabetes. Tinjauan ini bertujuan untuk mensintesis penelitian terkini tentang penggunaan *zebrafish* sebagai model eksperimental untuk DM dan komplikasi mikrovaskularnya, dengan fokus pada metode induksi, tujuan penelitian, dan hasil yang diamati. Tinjauan pustaka ini dilakukan untuk menyelidiki variabel-variabel tersebut. DM pada *zebrafish* dapat diinduksi melalui perendaman glukosa, pemberian makanan berlebihan, agen kimia, dan modifikasi genetik. Model-model ini telah berhasil digunakan untuk studi uji obat, profil molekuler, dan komplikasi diabetes. Variabel yang diamati meliputi kadar glukosa, aktivitas enzim, ekspresi gen, perubahan histopatologis, dan respons perilaku. Hasil telaah menunjukkan kesamaan yang kuat dengan patologi diabetes pada manusia, termasuk perubahan vaskular, proteinuria, apoptosis ginjal, dan disfungsi neuropatik. *Zebrafish* menyediakan model yang kuat, efisien, dan relevan untuk penelitian diabetes. Meskipun terdapat keterbatasan seperti perbedaan fisiologis dan variabilitas metodologis, model ini memberikan wawasan berharga tentang gangguan metabolik dan komplikasi, sekaligus berfungsi sebagai platform efisien untuk penemuan obat.

Kata kunci: *zebrafish*, model hewan coba, riset diabetes, penyakit metabolik, *Danio rerio*

ABSTRACT

Diabetes mellitus (DM) is a major global health problem, affecting over 500 million people worldwide. Understanding its pathophysiology and complications requires suitable animal models. Zebrafish (Danio rerio) has emerged as a promising model for diabetes research. This review aims to synthesize current research on the use of zebrafish as an experimental model for DM and its microvascular complications, focusing on induction methods, research applications, and observed outcomes. A literature review was conducted to investigate those variables. DM in zebrafish can be induced through glucose immersion, overfeeding, chemical agents, and genetic modification. These models have been successfully used to study drug testing, molecular profiling, and diabetic complications. Observed variables included glucose levels, enzyme activity, gene expression, histopathological changes, and behavioral responses. Results demonstrated strong parallels with human diabetic pathology, including vascular alterations, proteinuria, renal apoptosis, and neuropathic dysfunction. Zebrafish provides a strong, cost-effective, and relevant model for diabetes research. Despite limitations such as physiological differences and methodological variability, they offer valuable insights into metabolic dysregulation and complications, while serving as an efficient platform for drug discovery.

Keywords: *zebrafish*, animal model, diabetes research, metabolic disease, *Danio rerio*

Pendahuluan

Diabetes Mellitus (DM) adalah salah satu penyakit yang jumlah penderitanya cukup banyak. Di dunia ini, 1 dari 10 orang menderita DM. Apabila dihitung berdasarkan jumlah, terdapat 537 juta penderita DM pada tahun 2021¹. Apabila tidak ditangani dengan baik, penyakit tersebut dapat menimbulkan masalah serius.

Salah satu hewan coba yang dapat digunakan untuk model diabetes adalah *zebrafish* (*Danio rerio*). Ikan tersebut merupakan ikan air tawar yang berasal dari Pakistan, India, Bangladesh, Myanmar, dan Bhutan². Ikan ini dapat dikembangkan menjadi berbagai model penyakit pada manusia, seperti gangguan perkembangan, gangguan mental, dan gangguan metabolik³. Manfaat menggunakan *zebrafish* sebagai hewan coba adalah tingkat kesamaan gennya dengan manusia yang mencapai 87%⁴, kesamaan proses metabolismenya dengan manusia³, dan ukurannya yang kecil, sehingga perawatan ikan tersebut dapat dilakukan dengan murah dan mudah⁵. Walaupun memiliki banyak kelebihan, ada beberapa kekurangan dalam menggunakan *zebrafish* sebagai hewan coba, seperti bentuk anatomi yang berbeda dengan manusia. Selain itu, ikan ini berdarah dingin dan tidak memiliki jaringan lemak coklat, sehingga sulit untuk mengukur resistensi insulin pada ikan ini⁴.



Gambar 1. *Zebrafish* (*Danio rerio*) (dokumentasi pribadi penulis)

Karena penggunaannya yang cukup luas dalam berbagai jenis eksperimen, pada tinjauan pustaka ini, penulis akan merangkum riset-riset mengenai penggunaan *zebrafish*, khususnya dalam eksperimen mengenai diabetes. Tinjauan pustaka ini akan merangkum mengenai metode induksi hiperglikemia pada *zebrafish*, tujuan riset-riset diabetes yang menggunakan *zebrafish*, dan variabel yang diamati pada riset mengenai *zebrafish*, baik itu pada *zebrafish* model diabetes secara umum, maupun *zebrafish* model nefropati, neuropati, dan retinopati.

Hasil

Hasil dari tinjauan pustaka ini akan dibagi dalam 5 bagian, yaitu (1) metode induksi diabetes pada *zebrafish*, (2) *zebrafish* sebagai model hewan coba diabetes secara umum, (3) *zebrafish* sebagai model hewan coba retinopati diabetik, (4) *zebrafish* sebagai model hewan coba nefropati diabetik, dan (5) *zebrafish* sebagai model hewan coba neuropati diabetik.

Metode Induksi Diabetes pada *Zebrafish*

Ada beberapa metode induksi yang dapat digunakan untuk membuat *zebrafish* model diabetes, seperti perendaman dalam air yang mengandung glukosa, pemberian makan berlebih, pemberian obat yang dapat menghancurkan sel β pankreas, dan mutasi genetik pada *zebrafish*.

1. Perendaman dalam Air yang Mengandung Glukosa
Metode ini telah digunakan pada beberapa riset. Penelitian oleh Mohammadi melakukan induksi dengan beberapa tahap, yaitu

merendam *zebrafish* dalam 50mM air glukosa selama 5 hari, dilanjutkan dengan perendaman pada 100mM selama 3 hari, dan selanjutnya direndam dalam 200mM air glukosa ⁶. Penelitian lainnya oleh Capiotti menginduksi *zebrafish* dengan merendam ikan tersebut dalam 111mM air glukosa selama 14 hari ⁷. Selanjutnya, penelitian lainnya oleh Jung merendam larva *zebrafish* pada 130mM air glukosa selama 3 hari, dimulai dari 3 hari setelah fertilisasi *zebrafish* ⁸. Ada pula riset oleh Kim yang merendam *zebrafish* pada air dengan kandungan glukosa 3% untuk membuat model ikan hiperglikemia ⁹. Riset lainnya mengembangkan model larva *zebrafish* hiperglikemia dengan merendam larva tersebut ke medium E3 yang mengandung 4% glukosa dan medium E3 yang tidak mengandung glukosa bergantian tiap 24 jam, mulai dari 24 jam setelah fertilisasi hingga 71-96 jam setelah fertilisasi ¹⁰. Riset oleh McCarthy merendam ikan tersebut pada larutan 1% glukosa pada minggu pertama dan kedua, dilanjutkan 2% glukosa pada minggu ketiga dan keempat. Apabila eksperimen berlanjut hingga 8 atau 12 minggu, ikan akan diletakkan pada 3% glukosa pada minggu ke-4 hingga 8, dan akan diletakkan dalam 4% glukosa pada minggu ke-8 hingga 12 ¹¹. Terakhir, riset oleh Ennerfelt merendam *zebrafish* dalam air glukosa dengan konsentrasi 40mM, 60mM, atau 120mM ¹².

2. Pemberian Makan Berlebih

Chen dalam artikelnya menyatakan bahwa induksi diabetes pada *zebrafish* dapat dilakukan dengan memberikan *zebrafish* makanan berlebih dengan menggunakan

pemberi makan otomatis ¹³. Riset lainnya oleh Zang menginduksi *zebrafish* dewasa dengan pemberian makanan berlebih selama 20 minggu ¹⁴. Lalu, riset oleh Zang juga memberi makan secara berlebihan pada *zebrafish* betina sebanyak 4mg/ikan setiap hari selama 1 bulan ¹⁵. Terakhir, riset oleh Gao merendam *zebrafish* dalam glukosa 2% dan 3% secara bergantian dan diberi makanan tinggi lemak 4 kali sehari, selama 14 hari ¹⁶.

3. Pemberian Obat

Metode ini telah dilaksanakan dalam beberapa riset. Riset oleh Oyelaja-Akinsipo menginjeksikan streptozotocin (STZ) 20mg/kg berat badan secara intravena pada ekor *zebrafish*, setiap 7 hari selama 28 hari (dengan total 4 kali pemberian) ¹⁷. Metode yang mirip juga dilakukan oleh Wang dengan menginjeksikan 5nL STZ 0,1 M pada rongga perikardium larva *zebrafish* ¹⁸. Penelitian lain oleh Benchoula melakukan induksi diabetes dengan injeksi tunggal alloxan secara intraperitoneal dengan dosis 300mg/kgbb ¹⁹. Riset lainnya oleh Wang yang meneliti mengenai efek terapeutik quercetin menginduksi *zebrafish* dengan menyuntikkan STZ dalam rongga peritoneum sebanyak 350mg/kg berat badan pada hari pertama dan 20 µl STZ dengan konsentrasi 7% w/v (*weight/volume*) pada hari ke-7 ²⁰. Lalu, riset oleh Paramakrishnan menyuntikkan 350mg/kg berat badan STZ secara intraperitoneum ²¹. Riset lainnya merendam *zebrafish* dalam larutan 0,04% alloxan selama 30 menit, lalu memindahkan ikan tersebut dalam larutan 0,2% glukosa selama 24 jam, diulang 3 kali ²². Penelitian lainnya oleh Nayak memberikan

larutan alloxan 500 μ M pada larva *zebrafish* selama 3 hari untuk menginduksi hiperglikemia²³. Terakhir, penelitian oleh Nam menginduksi *zebrafish* dengan merendam larva *zebrafish* pada air yang mengandung alloxan²⁴.

4. Mutasi Genetik

Metode mutasi genetik telah diterapkan untuk memicu diabetes

pada *zebrafish*. Penelitian oleh Ali menggunakan *zebrafish* yang memiliki mutasi pada gen *pdx1*, suatu gen yang dikaitkan dengan diabetes pada manusia²⁵. Riset lainnya oleh She menggunakan *zebrafish* transgenik yang memiliki gen regulasi produksi eritropoietin yang inaktif²⁶.

Tabel 1. Metode-metode induksi diabetes pada *zebrafish*

No	Metode Induksi	Deskripsi
1	Perendaman pada air glukosa	Air glukosa 50mM 5 hari; 100mM selama 3 hari; dilanjutkan dengan 200mM (dewasa) ⁶
		Air glukosa 111mM selama 14 hari (dewasa) ⁷
		Air glukosa 130mM selama 3 hari, mulai dari 3 hari setelah fertilisasi (larva) ⁸
		Medium E3 dengan glukosa dan E3 mengandung 4% glukosa bergantian tiap 24 jam, mulai dari 24 jam setelah fertilisasi hingga 71-96 jam setelah fertilisasi (larva) ¹⁰
		Air glukosa 1% selama 2 minggu, dilanjutkan air glukosa 2% selama 2 minggu, lalu air glukosa 3% selama 4 minggu, dan air glukosa 4% selama 4 minggu (dewasa) ¹¹ .
		Air glukosa 3% (dewasa) ⁹
		Air glukosa 40mM, 60mM, atau 120mM (dewasa) ¹²
2	Pemberian makanan berlebihan	Dengan pemberi makan otomatis (dewasa) ¹³
		4mg/ikan selama 1 bulan (dewasa) ¹⁵
		Pemberian makanan tinggi lemak 4 kali sehari selama 14 hari, disertai dengan perendaman dalam larutan glukosa 2% dan 3% bergantian (dewasa) ¹⁶ .
		Pemberian makan berlebih selama 20 minggu (dewasa) ¹⁴
3	Pemberian obat	30mg/kgbb STZ i.v. (intravena) 4 kali, sekali per minggu (dewasa) ¹⁷
		0,1M 5nl STZ pada rongga perikardium (larva) ¹⁸
		300mg/kgbb alloxan i.p. (intraperitoneum) dosis tunggal (dewasa) ¹⁹
		350mg/kgbb STZ i.p. hari ke-1, dilanjutkan 20 μ L STZ 7% pada hari ke-7 secara intravitreal (dewasa) ²⁰
		350mg/kgbb STZ i.p. (dewasa) ²¹
		Merendam dalam larutan 0,04% alloxan selama 30 menit, lalu memindahkan ikan tersebut dalam larutan 0,2% glukosa selama 24 jam, diulang 3 kali (dewasa) ²²
		Larutan alloxan 500 μ M selama 3 hari (larva) ²³
		Perendaman pada air yang mengandung alloxan (larva) ²⁴
4	Mutasi genetik	Mutasi gen <i>pdx1</i> (dewasa) ²⁵
		<i>Knockdown</i> gen yang memproduksi eritropoietin (larva) ²⁶

Zebrafish sebagai Model Hewan Coba Diabetes secara Umum

1. Tujuan Penelitian

Riset yang dapat dilakukan pada *zebrafish* model diabetes adalah uji obat, pemetaan profil molekul, atau pengamatan efek diabetes pada metabolisme. Riset oleh Mohammadi mengamati efek pemberian silymarin dan metformin pada *zebrafish*⁶. Selanjutnya, riset oleh Oyelaja-Akinsipo memberikan diosgenin pada *zebrafish*¹⁷. Lalu, Capiotti memberikan metformin dan glimepiride kepada *zebrafish*⁷. Selain itu, riset oleh Benchoula, Zang, dan Ullah memberikan ramuan herbal pada *zebrafish*, yaitu ekstrak *Psychotria malayana*, ekstrak *Citrus junco*, dan madu hijau dari Pulau Banggi^{19 15 27}. Lalu, Chen melakukan pemetaan profil lipid pada serum *zebrafish*¹³. Terakhir, Wang mengamati metabolisme glukosa pada larva *zebrafish* diabetes¹⁸.

2. Variabel yang Diamati

a. Kadar Zat

Diabetes memiliki hubungan dengan kadar glukosa darah. Pada umumnya, pengukuran glukosa darah dilakukan dengan menggunakan glukometer^{6, 7, 19, 27, 21, 26}. Selain glukometer, spektrofotometri juga digunakan untuk mengukur kadar glukosa pada *post-mitochondrial supernatant*¹⁷. Selain itu, juga ada pengukuran rasio glukosa-protein pada larva *zebrafish*¹⁸. Metode lain seperti *glucose colorimetric assay* juga digunakan untuk menentukan kadar glukosa pada jaringan *zebrafish*¹². Selain itu, enzim glukosa oksidase dan peroksidase juga dapat

digunakan untuk mengukur kadar glukosa²⁰. Selain kadar glukosa, kadar fruktosamin juga dapat diukur dengan menggunakan metode spektrofotometri⁷. Lalu, bisa juga dilakukan analisis *liquid chromatography and mass spectroscopy* (LC-MS) untuk menganalisis profil lipid pada serum *zebrafish*¹³.

b. Kadar Enzim

Terdapat riset yang mengukur kadar AST (aspartat aminotransferase), ALT (alanin transaminase), dan ALP (alkali fosfatase) dengan sampel berupa *supernatant* dari jaringan *zebrafish* dengan metode ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*)⁶. Selain itu, aktivitas katalase juga dapat diukur dengan metode spektrofotometri¹⁷.

c. Ekspresi Gen

Terdapat beberapa gen yang dapat diamati ekspresinya pada *zebrafish* dengan PCR (*polymerase chain reaction*), seperti gen penanda inflamasi (TNF- α [*tumor necrosis factor* α], IFN- γ [interferon γ], dan INL-1 β [interleukin 1 β])⁶. Selain itu, gen lain yang dapat diamati ekspresinya adalah gen isoform insulin¹⁷. Ada pula ekspresi gen yang diamati tanpa melalui metode PCR, melainkan melalui proses sekuensing langsung pada RNA (*ribonucleic acid*)¹⁴.

d. Pengamatan Mikroskopis

Pengamatan mikroskopis yang dilakukan dapat berupa pengamatan usus, jaringan otak, dan jaringan hati *zebrafish* yang diwarnai dengan hematoksilin

dan eosin (HE) ^{6,17}. Selain itu, juga dapat dilakukan pewarnaan imunohistokimia pada pankreas *zebrafish* untuk mengamati ekspresi insulin ¹⁸.

***Zebrafish* sebagai Model Hewan Coba Retinopati Diabetik**

1. Tujuan Penelitian

Riset oleh Jung menggunakan larva *zebrafish* model diabetes dan mengamati perubahan pada larva tersebut ⁸. Riset tersebut juga menguji efek VEGFR (*vascular endothelial growth factor receptor*) tyrosine kinase inhibitor, NOS (*nitric oxide synthase*) inhibitor, dan antibodi VEGF pada *zebrafish*. Selain itu, riset lainnya oleh Ali membandingkan struktur pembuluh darah pada *zebrafish* dengan mutasi *pdx1* dan *zebrafish* kontrol ²⁵. Lalu, Wang menggunakan *zebrafish* model retinopati diabetik untuk mempelajari efek quercetin ²⁰.

2. Variabel yang Diamati

a. Ekspresi Gen

Ekspresi gen yang diamati adalah Vegf165 dan β -actin ⁸.

b. Pengamatan Mikroskopis

Pengamatan mikroskopis yang dapat dilakukan adalah mengamati lensa pada larva *zebrafish* dengan pewarnaan menggunakan 3% trypsin pada Tris-HCl buffer selama 80 menit pada suhu 37°C ⁸. Selain itu, pengamatan lainnya dengan pewarnaan imunohistokimia juga mengamati keberadaan GLUT-1 (*glucose transporter* 1), ZO.1 (*zonula occludens* 1), transgelin1, dan sel retina pada *zebrafish*. Dan juga, mikroskop elektron dapat digunakan untuk

mengamati langsung sel retina pada *zebrafish* ²⁵.

c. Aktivitas Listrik pada Mata

Aktivitas listrik pada mata *zebrafish* dapat diukur dengan menggunakan elektroretinogram ²⁵.

d. Kadar Zat

Kadar zat yang dapat diperiksa meliputi produksi NO (*nitric oxide*) pada larva ⁸. Selain itu, kadar homosistein juga dapat diperiksa pada serum *zebrafish* dengan menggunakan HPLC (*high performance liquid chromatography*). Dan juga, zat lainnya yang dapat diperiksa adalah konsentrasi TBARS (*thiobarbituric acid reactive substances*), GSH (*glutathione*), aktivitas arginase reduktase, dan konsentrasi protein total dengan menggunakan otak *zebrafish* sebagai substrat ²⁰.

e. Perilaku

Perilaku yang dapat diamati pada *zebrafish* model retinopati diabetik adalah perilaku yang berkaitan dengan respons cahaya. Ada 4 perilaku yang dapat diamati, yaitu *optokinetic motor response* (OMR), *startle response* (SR), *phototactic response* (PTR), dan *escape response* (ER) ²⁰.

***Zebrafish* sebagai Model Hewan Coba Nefropati Diabetik**

1. Tujuan Penelitian

Penelitian oleh Zang menggunakan *zebrafish* dewasa yang diberi makan berlebih selama 8 minggu dan mengalami proteinuria. *Zebrafish* dibagi dalam 2 kelompok, yakni kelompok yang diberi makan berlebih dan kelompok metformin.

Setelah 7 hari, kadar glukosa darah dan proteinuria diukur. Penelitian ini bertujuan untuk menunjukkan bahwa *zebrafish* model nefropati diabetik dapat mengaktifkan jalur PI3k/Akt (*phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B*)¹⁴. Selanjutnya, riset oleh She menggunakan larva *zebrafish* model nefropati diabetik yang dibuat dengan meng-knockdown gen EPO (*erythropoietin*) and EPOR (*erythropoietin receptor*) in pada ginjal *zebrafish* dengan menggunakan teknologi morpholino dan CRISPR/Cas9 (*clustered regularly interspaced short palindromic repeats and CRISPR-associated protein 9*). Larva *zebrafish* akan dianalisis dengan mikroskop fluoresens. Selain itu, juga akan diukur apoptosis sel dengan TUNEL (*terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick-end labeling*) assay dan pewarnaan Annexin V, dan inhibitor caspase zVADfmk digunakan untuk *rescue experiment*²⁶.

2. Variabel yang Diamati

a. Pengamatan Mikroskopis

Pada pengamatan mikroskopis, penggunaan pewarnaan O-dianiside pada larva *zebrafish* dapat digunakan untuk mendeteksi hemoglobin, aktivitas peroksidase, konten glukosa, dan aktivitas myeloperoxidase. Selain itu, pengamatan mikroskopis lainnya yang dapat dilakukan adalah pengamatan kerusakan DNA (*deoxyribonucleic acid*) dengan TUNEL assay, yang pada akhirnya dapat diamati dengan mikroskop. Selain itu, pengamatan lainnya yang dapat dilakukan adalah pengamatan

histologis pada jantung larva *zebrafish*²⁶. Pengamatan mikroskopis lainnya yang dapat dilakukan adalah pengamatan ginjal *zebrafish* yang diwarnai dengan pewarnaan HE, serta pengamatan sel dengan mikroskop elektron¹⁴.

b. Flow cytometry

Sitometri dapat digunakan untuk mengamati sel yang mengekspresikan EPO and EPOR pada sel positif EGFP (*enhanced green fluorescent protein*). Selain itu, pengamatan sitometri dapat menganalisis sel apoptosis¹⁴.

c. Ekspresi Gen

Ekspresi gen dapat diamati dengan langsung melakukan sekuensing pada RNA²⁶. Selain sekuensing RNA, RT-PCR (*reverse transcriptase polymerase chain reaction*) juga dapat dilakukan untuk mengamati ekspresi gen pada *zebrafish* model nefropati diabetik¹⁴.

d. Proteinuria

Proteinuria dapat diamati dengan menganalisis air yang digunakan untuk merawat *zebrafish*. Air tersebut akan dikonsentrasikan hingga mencapai volume 50 µl, lalu air tersebut akan dianalisis dengan ELISA²⁶.

e. Analisis Protein

Analisis protein dapat dilakukan pada ginjal *zebrafish*. Ginjal *zebrafish* diambil, lalu dilakukan *western blotting*²⁶.

Zebrafish sebagai Model Hewan Coba Neuropati Diabetik

1. Tujuan Penelitian

Penelitian oleh Ennerfelt mengamati gangguan perkembangan saraf pada model larva *zebrafish* diabetes¹². Selain itu, penelitian oleh Paramakrishnan menguji efek β -carotene terhadap neuralgia pada *zebrafish* betina model diabetes²¹. Selain itu, Nam juga menguji efek Panax ginseng terhadap efek pemulihan sensorineural pada larva *zebrafish* model diabetes²⁴.

2. Variabel yang Diamati

a. Pengamatan Mikroskopis

Pengamatan mikroskopis yang dapat dilakukan meliputi pengamatan *tight junction* pada daerah perineurium dengan pewarnaan imunohistokimia. Selain itu, juga dapat dilakukan penghitungan dan pengamatan defasikulasi akson motorik, fungsi dan struktur perineurium, myelinasi, dan kemunculan neuron sensorik atopi dengan menggunakan pengamatan mikroskopis¹². Lalu, pengamatan dengan mikroskop elektron dapat mengamati *hair cell* pada *zebrafish*. Selain itu, dengan mikroskop fluoresens,

jumlah garis lateral neuromast dapat dihitung²⁴.

b. Perilaku

Perilaku yang diamati dapat berupa *temperature test*, *acetic acid test*, dan *fin clip test* untuk mengamati sensasi nyeri pada *zebrafish*²¹. Selain itu, dapat juga dilakukan touch-response locomotor assay untuk menentukan apakah terjadi perbedaan somatosensasi¹².

c. Kadar Zat

Kadar zat yang diamati dapat berupa TBARS, GSH, kadar protein total, dan aktivitas MMP-13 (*matrix metalloproteinase-13*). TBARS, GSH, dan kadar protein total dapat diamati dengan spektroskopi, sedangkan aktivitas MMP-13 dapat diukur dengan ELISA²¹.

d. Ekspresi Gen

Ekspresi gen dapat diamati dengan RT-PCR²⁴.

e. Analisis Protein

Analisis protein dapat dilakukan dengan elektroforesis dengan menggunakan metode SDS-PAGE (*sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis*)²⁴.

Tabel 2. Variabel yang diamati pada *zebrafish* model diabetes

No	Komplikasi	Variabel yang Diamati
1	Diabetes secara umum	Ekspresi gen Pengamatan mikroskopis (pewarnaan HE, imunohistokimia) Kadar glukosa darah, kadar fruktosamin, dan profil lipid AST, ALT, ALP, katalase
2	Retinopati diabetik	Ekspresi gen Pengamatan mikroskopis (imunohistokimia, penggunaan mikroskop elektron) Aktivitas listrik pada mata

		Produksi NO, kadar homosistein, TBARS, GSH, arginase reduktase, dan kadar protein total Perilaku (<i>optokinetic motor response, startle response, phototactic response, escape response</i>)
3	Nefropati diabetik	Ekspresi gen Pengamatan mikroskopis (TUNEL <i>asay</i> , penggunaan mikroskop elektron, pewarnaan HE) Ekspresi EPO dan EPOR Proteinuria Analisis protein
4	Neuropati diabetik	Ekspresi gen Pengamatan mikroskopis (imunohistokimia, penggunaan mikroskop elektron) Perilaku (<i>temperature test, acetic acid test, fin clip test, touch-response locomotor assay</i>) TBARS, GSH, kadar protein total, aktivitas MMP-13 Analisis protein

Simpulan dan Saran

Tinjauan pustaka ini menyimpulkan bahwa *zebrafish* adalah suatu model yang menjanjikan yang dapat digunakan untuk diabetes mellitus dan komplikasi mikrovaskularnya. Diabetes pada *zebrafish* dapat diinduksi dengan perendaman pada air glukosa, pemberian makan berlebih, pemberian obat-obatan, atau modifikasi genetik. *Zebrafish* juga telah menjadi model yang efektif pada penelitian mengenai retinopati, nefropati, dan neuropati diabetik. Akan tetapi, metode untuk induksi yang bervariasi dan sedikitnya studi mengenai komplikasi spesifik diabetes menunjukkan bahwa perlu adanya protokol induksi yang terstandarisasi dan pengukuran variabel yang terstandarisasi. Riset-riset di masa depan sebaiknya menggabungkan metode pengamatan molekuler dan membandingkan hasilnya dengan studi pada mamalia untuk memperkuat hubungan studi. Secara praktis, model hewan coba *zebrafish* menawarkan alternatif dengan biaya yang lebih murah untuk penelitian obat preklinis dan penemuan *marker* biologis, dengan potensi mempercepat riset mengenai diabetes dan mengurangi ketergantungan pada model hewan coba tradisional.

Daftar Pustaka

1. International Diabetes Federation. Diabetes around the world [Homepage on the Internet]. 2021; Available from: www.diabetesatlas.org
2. Nico L, Fuller P, Loftus B. Danio rerio Hamilton, 1822. US Geological Survey, Nonindigenous Aquatic Species Database, Gainesville, Florida [Homepage on the Internet]. 2024 [cited 2024 May 11]; Available from: <https://nas.er.usgs.gov/queries/FactSheet.aspx?SpeciesID=505>
3. Choi TY, Choi TI, Lee YR, Choe SK, Kim CH. Zebrafish as an animal model for biomedical research. *Exp Mol Med*. 2021;53(3):310–317.
4. Cao Y, Chen Q, Liu Y, Jin L, Peng R. Research Progress on the Construction and Application of a Diabetic Zebrafish Model. *Int J Mol Sci*. 2023;24(6).
5. Teame T, Zhang Z, Ran C, et al. The use of zebrafish (*Danio rerio*) as

- biomedical models. *Animal Frontiers* 2019;9(3):68–77.
6. Mohammadi H, Manouchehri H, Changizi R, Bootorabi F, Khorramizadeh MR. Concurrent metformin and silibinin therapy in diabetes: assessments in zebrafish (*Danio rerio*) animal model. 2020;Available from: <https://doi.org/10.1007/s40200-020-00637-7>
7. Capiotti KM, Antonioli R, Kist LW, Bogo MR, Bonan CD, Silva RS Da. Persistent impaired glucose metabolism in a zebrafish hyperglycemia model. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 2014;171(1):58–65.
8. Jung SH, Kim YS, Lee YR, Kim JS. High glucose-induced changes in hyaloid-retinal vessels during early ocular development of zebrafish: A short-term animal model of diabetic retinopathy. *Br J Pharmacol* 2016;173(1):15–26.
9. Kim HH, Vaidya B, Cho SY, Kwon J, Kim D. Anti-hyperglycemic potential of alginate oligosaccharide in a high glucose-induced zebrafish model. *J Funct Foods* 2022;94.
10. Shrestha AP, Saravanakumar A, Konadu B, Madireddy S, Gibert Y, Vaithianathan T. Embryonic Hyperglycemia Delays the Development of Retinal Synapses in a Zebrafish Model. *Int J Mol Sci* 2022;23(17).
11. McCarthy E, Dunn J, Augustine K, Connaughton VP. Prolonged Hyperglycemia Causes Visual and Cognitive Deficits in *Danio rerio*. *Int J Mol Sci* 2022;23(17).
12. Ennerfelt H, Voithofer G, Tibbo M, et al. Disruption of peripheral nerve development in a zebrafish model of hyperglycemia. *J Neurophysiol* 2019;122(2):862–871.
13. Chen Z, Zang L, Wu Y, et al. Lipidomic Profiling on Oxidized Phospholipids in Type 2 Diabetes Mellitus Model Zebrafish. 2018;34.
14. 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;17(5).
15. Zang L, Shimada Y, Kawajiri J, Tanaka T, Nishimura N. Effects of Yuzu (*Citrus junos* Siebold ex Tanaka) peel on the diet-induced obesity in a zebrafish model. *J Funct Foods* 2014;10:499–510.
16. Gao Y, Wu Y, Tie F, Wang H. Stilbenoids from fenugreek seeds alleviate insulin resistance by regulating the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in a type 2 diabetes zebrafish model. *Heliyon* 2024;10(13).
17. Oyelaja-Akinsipo OB, Dare EO, Katere DP. Protective role of diosgenin against hyperglycaemia-mediated cerebral ischemic brain injury in zebrafish model of type II diabetes mellitus. *Heliyon* 2020;6(1).
18. Wang X, Yang X liang, Liu K chun, et al. Effects of streptozotocin on pancreatic islet β -cell apoptosis and glucose metabolism in zebrafish larvae. *Fish Physiol Biochem* 2020;46(3):1025–1038.
19. Benchoula K, Khatib A, Quzwain FMC, et al. Optimization of hyperglycemic induction in zebrafish and evaluation of its blood glucose level and metabolite

- fingerprint treated with psychotria malayana Jack Leaf extract. *Molecules* 2019;24(8).
20. Wang S, Du S, Wang W, Zhang F. Therapeutic investigation of quercetin nanomedicine in a zebrafish model of diabetic retinopathy. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 2020;130.
21. Paramakrishnan N, Chavan L, Lim KG, Paramaswaran Y, Muthuraman A. Reversal of Neuralgia Effect of Beta Carotene in Streptozotocin-Associated Diabetic Neuropathic Pain in Female Zebrafish via Matrix Metalloprotease-13 Inhibition. *Pharmaceuticals* 2023;16(2).
22. Virakawugi Darniwa A, Cahyanto T, Hidayah SN. Effect of Mango Leaf Shoot Extract (*Mangifera indica* L.) on Zebra Fish (*Danio rerio*) Cell Regeneration Induced by Hyperglycemia [Homepage on the Internet]. 2021; Available from: <http://journal2.um.ac.id/index.php/jih/index>
23. Nayak SPRR, Haridevamuthu B, Murugan R, et al. Furan-based chalcone protects β -cell damage and improves glucose uptake in alloxan-induced zebrafish diabetic model via influencing Peroxisome Proliferator-Activated Receptor agonists (PPAR- γ) signaling. *Process Biochemistry* 2024;142:149–161.
24. Nam YH, Moon HW, Lee YR, et al. *Panax ginseng* (Korea Red Ginseng) repairs diabetic sensorineural damage through promotion of the nerve growth factor pathway in diabetic zebrafish. *J Ginseng Res* 2019;43(2):272–281.
25. Ali Z, Zang J, Lagali N, et al. Photoreceptor degeneration accompanies vascular changes in a zebrafish model of diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2020;61(2).
26. She J, Yuan Z, Wu Y, Chen J, Kroll J. Targeting erythropoietin protects against proteinuria in type 2 diabetic patients and in zebrafish. *Mol Metab* 2018;8:189–202.
27. Ullah S, Huyop F, Huda N, et al. Green honey of Banggi Island: A preliminary anti-diabetic study on zebrafish model. *Heliyon* 2024;e26469.