



ANALISIS KELAYAKAN MODEL BIOMEDIS EKSPERIMENTAL PADA KASUS DIABETES MELLITUS MENGGUNAKAN MODEL ORGANISME IKAN ZEBRA (*Danio rerio*)

FEASIBILITY ANALYSIS OF EXPERIMENTAL BIOMEDICAL MODELS IN CASES OF DIABETES MELLITUS USING ZEBRAFISH (*Danio rerio*) MODEL ORGANISM

Willy A.Yashilva^{1*}, Delita Septia Rosdiana², Indira Aulia Syafina³, Yusuf Cahyadi⁴,
Farrah Lula Klarissa Hendroyono⁵

^{1,2,3,4,5} Universitas Pendidikan Indonesia, Jl. Dr. Setiabudhi No. 229 Bandung 40154, Jawa Barat, Indonesia

*yashilva@upi.edu

INFORMASI ARTIKEL

Article history

Submitted: 28 – 10 – 2023

Accepted: 04 – 06 – 2024

Published: 28 – 06 – 2024

DOI :

<https://doi.org/10.47522/jmk.v6i2.305>

Kata Kunci:

Danio rerio ; Diabetes Mellitus ;
Ikan Zebra ; Model Hewan

ABSTRAK

Pendahuluan : Model hewan sangat penting untuk penelitian diabetes, karena memungkinkan para ilmuwan mempelajari penyakit ini dalam lingkungan yang terkendali. Ikan air tawar kecil yang dikenal sebagai ikan zebra (*Danio rerio*) semakin banyak digunakan sebagai organisme model dalam mempelajari penyakit manusia. Mereka secara genetik mirip dengan manusia, dan memiliki banyak jalur metabolisme yang sama. Penelitian ini bertujuan untuk menilai kelayakan pemanfaatan ikan zebra sebagai organisme model dalam studi diabetes mellitus. **Metode:** Penelitian ini diperiksa di tiga database, termasuk Google Scholar, PubMed, dan Scopus, dan 19 publikasi dimasukkan. Untuk database itu, kami menjalankan permintaan pencarian berikut di judul. Tinjauan literatur dilakukan dalam penelitian ini, dan diagram alur Prisma digunakan untuk meningkatkan kejelasan dan transparansi proses peninjauan. Sebuah metode untuk merangkum karakteristik Ikan Zebra yang menjadikannya organisme model yang diinginkan untuk penelitian Diabetes Mellitus. **Hasil:** Temuan penelitian ini menunjukkan bahwa ikan zebra dapat digunakan untuk menyelidiki genetika, perkembangan, dan pengobatan diabetes karena metabolisme glukosa dan jalur produksi metabolit reaktifnya sangat mirip dengan manusia. Temuan serupa dibuat mengenai konservasi fungsional dalam biologi adiposa, anatomi pankreas, metabolisme lipid, dan homeostasis glukosa. **Kesimpulan:** Kesimpulan penelitian ini adalah Ikan Zebra sebagai salah satu hewan coba

untuk mengidentifikasi target baru dalam pencegahan dan pengobatan diabetes melitus.

ABSTRACT

Keywords :

Animal Models ; *Danio rerio* ;
Diabetes Mellitus ; Zebrafish ;

Introduction : Animal models are essential for research into diabetes, as they allow scientists to study the disease in a controlled environment. Small freshwater fish known as zebrafish (*Danio rerio*) are being employed more and more as model organisms in studying human diseases. They are genetically similar to humans, and they share many of the same metabolic pathways. This study aims to assess the viability of utilizing zebrafish as a model organism in the study of diabetes mellitus. **Method:** This study was examined in three databases, including Google Scholar, PubMed, and Scopus, and 19 publications were included. For that database, we ran the following search query in the titles. A literature review was performed in this study, and Prisma flow diagrams were employed to enhance the clarity and transparency of the review process. A method for summarizing the characteristics of the Zebrafish that make it a desirable model organism for Diabetes Mellitus research. **Result:** The findings of this study show that zebrafish may be used to investigate the genetics, development, and treatment of diabetes since their glucose metabolism and reactive metabolite production pathways are remarkably similar to those of humans. Similar findings were made regarding the functional conservation in adipose biology, pancreatic anatomy, lipid metabolism, and glucose homeostasis. **Conclusion:** The conclusion of this study is that the Zebrafish can be used as one of the animal models for identifying new targets for the precaution and medication of diabetes mellitus.

Penulisan Sitasi

Yashilva, W.A., Rosdiana, D.S., Syafina, I.A., Cahyadi, I., Hendroyono, F.L.K. (2024). Analisis Kelayakan Model Biomedis Eksperimental Pada Kasus Diabetes Mellitus Menggunakan Model Organisme Zebrafish (*Danio rerio*). *Jurnal Mitra Kesehatan (JMK)*, 6 (2), 83-104. <https://doi.org/10.47522/jmk.v6i2.305>

PENDAHULUAN

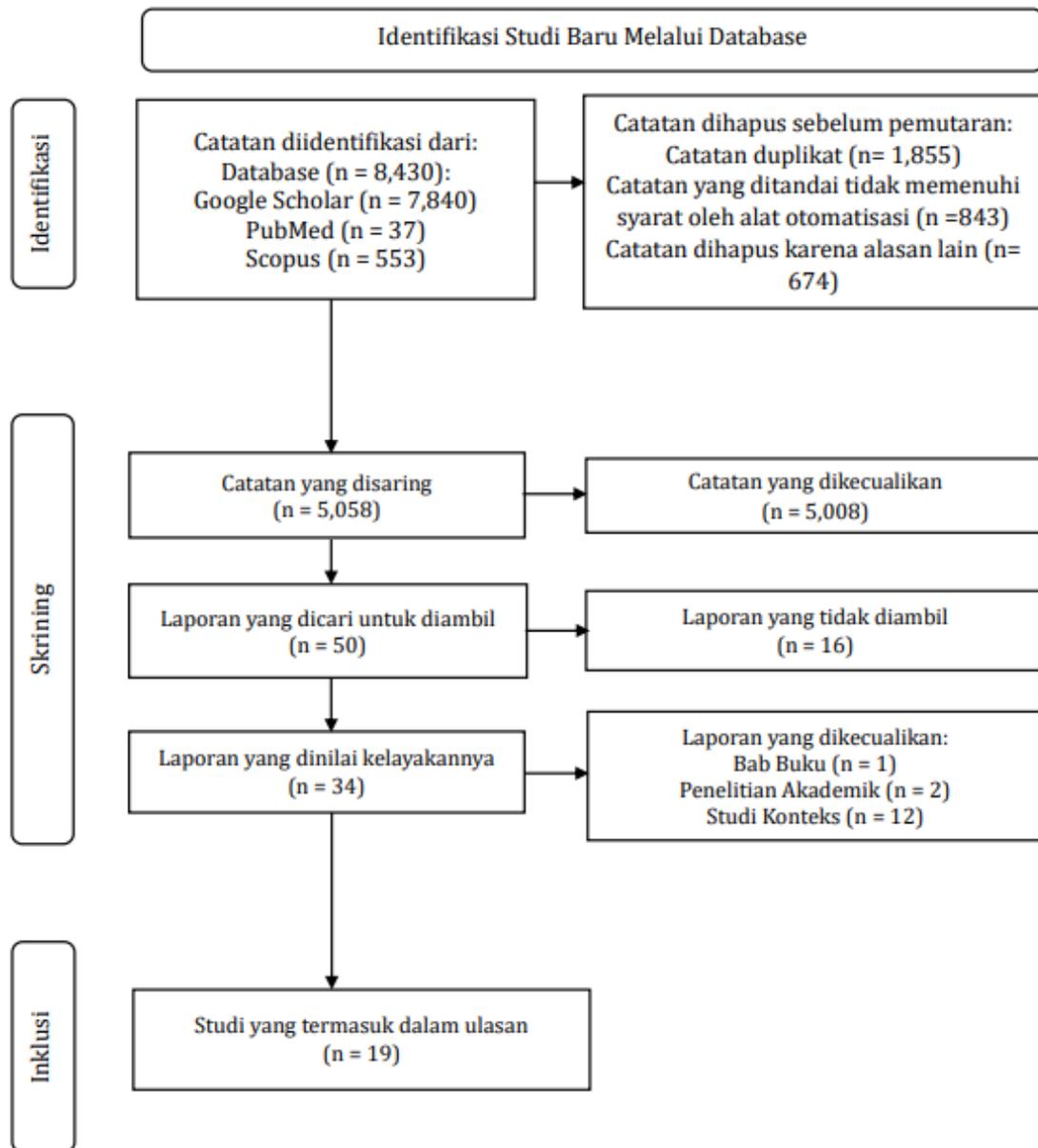
Diabetes melitus merupakan kelainan metabolisme yang disebabkan oleh terganggunya sekresi atau fungsi insulin. Diabetes datang dalam tiga bentuk utama: diabetes tipe 1 (DMT1), diabetes tipe 2 (DMT2), dan diabetes gestasional. Diabetes umum ditemukan di seluruh dunia dan dapat menyerang orang-orang dari segala usia, jenis kelamin, dan etnis (Assosiation, 2010). Penyakit ini dianggap sebagai epidemi global karena prevalensinya yang tinggi dan terus meningkat. Prevalensi diabetes global diperkirakan mencapai 1,31 miliar pada tahun 2050 dari perkiraan 529 juta kasus pada tahun 2021 (GBD Diabetes Collaborators, 2023). Obesitas dan berbagai komplikasi seperti penyakit arteri perifer, penyakit ginjal diabetik, retinopati, neuropati perifer, penyakit jantung koroner, dan stroke sering dikaitkan dengan diabetes (Tomic, D., Shaw, J. E., & Magliano, 2022).

Banyaknya pengetahuan tentang data genetik dan epidemiologi dari manusia memberikan banyak peluang untuk mengembangkan desain mekanistik untuk penyelidikan hewan. Keterlibatan hewan coba dalam kegiatan penelitian ilmiah telah berlangsung selama beberapa dekade, salah satunya dalam Deklarasi Helsinki (1964) yang menjelaskan tentang etika eksperimen. Salah satu item di dalamnya menjelaskan perlunya penelitian eksperimental biomedis pada hewan sebelum diterapkan pada manusia untuk mendukung keselamatan manusia (Sherin, 2008). Hewan telah digunakan untuk mempelajari dasar-dasar kehidupan serta untuk meningkatkan pengetahuan kita tentang anatomi, fisiologi, patologi, dan farmakologi manusia dan hewan. Proses pemilihan model hewan untuk digunakan dalam penelitian biomedis merupakan proses yang sangat kompleks, sebab tidak semua model dapat diterima karena berbagai keterbatasan. Banyak faktor yang harus dipertimbangkan ketika memilih model hewan yang ideal untuk uji biomedis, yang paling penting adalah kemiripan antara spesies hewan dan manusia dalam aspek fisiologis dan/atau patofisiologis (Zang, L., Maddison, L. A., & Chen, 2018).

Ada beberapa spesies hewan yang cocok untuk digunakan sebagai model eksperimental dalam penelitian biomedis. Salah satu model hewan yang paling umum digunakan adalah hewan pengerat kecil seperti tikus dan mencit. Hewan lain yang populer digunakan terutama di kalangan penelitian diabetes dan obesitas adalah ikan zebra (*Danio rerio*) (Handajani, 2021). Penggunaan ikan zebra dalam penelitian terbukti memiliki beberapa keunggulan dibandingkan hewan pengerat. Sistem model ikan zebra banyak digunakan dalam bidang biologi perkembangan, genetika manusia, dan penyakit manusia (Dooley dan Zon, 2000; Gibert et al., 2013; Freifeld et al., 2017). Beberapa karakteristik telah membuat ikan zebra menjadi terkenal dalam biologi perkembangan dan pemodelan penyakit. Ikan ini merupakan hewan vertebrata yang memiliki tingkat kemiripan genetik, anatomi, dan fisiologis yang tinggi dengan manusia (Zang, L., Maddison, L. A., & Chen, 2018). Dalam penelitian ini, kami menyoroti keuntungan dan kerugian penggunaan ikan zebra sebagai model penyakit metabolik, khususnya diabetes melitus.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini diteliti dari tiga database yaitu Google Scholar, PubMed, dan Scopus. Dalam judul database tersebut, kami menggunakan permintaan pencarian dengan memilah hasil yang tersisa berdasarkan judul dan abstrak untuk menelaah Diabetes Mellitus pada model hewan Ikan Zebra. Tidak ada batasan pada tanggal publikasi. Penelitian ini ditinjau dari 19 makalah metodologi yang mengacu pada ikan zebra sebagai model hewan untuk induksi Diabetes Mellitus dan akan ditinjau dalam penelitian kami secara sistematis.



Gambar 1. Metode Pencarian Tinjauan Pustaka

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan database yang akan ditinjau, ditemukan bahwa 19 makalah metodologis didedikasikan untuk studi ikan zebra dan kegunaannya yang luar biasa dalam bidang penelitian diabetes mellitus. Makalah ini menyelidiki berbagai aspek penelitian ikan zebra, menjelaskan peran mereka yang sangat berharga sebagai organisme model untuk memahami dan memajukan pengetahuan kita tentang diabetes mellitus.

Tabel 1. Makalah Penelitian Ikan Zebra dalam Studi Diabetes

Penulis	Tahun Terbit	Sampel	Judul	Sumber	Temuan
Hardianti, M., Yuniarto, A., & Hasimun	2021	Artikel review inklusif yaitu sebanyak 46 artikel internasional 2015-2020, terdapat 4 artikel nasional di rentang tahun 2015-2020, 3 artikel internasional rentang 2011-2014 dan 4 literatur dari (WHO, Riskesdas, dan UNICEF) dengan kriteria artikel sesuai tema dan memenuhi kriteria tahun yang digunakan	Review: Zebrafish (<i>Danio rerio</i>) as a model Obesity and Type 2 Diabetes Mellitus	Jurnal Sains Farmasi & Klinis	Penerapan model Ikan Zebra pada kejadian obesitas dan DMT2 pada Ikan Zebra yang diinduksi makanan dan obat memiliki keunggulan dibandingkan manusia dan mamalia lain karena mereka menunjukkan gejala obesitas yang serupa dengan peningkatan berat badan yang signifikan, glukosa darah puasa, volume jaringan adiposa visceral, trigliserida plasma, dan akumulasi lipid di hati mereka. Selain itu, ikan zebra yang diinduksi dengan metode perendaman glukosa darah menghasilkan kadar glukosa darah yang lebih tinggi dan penurunan respon terhadap insulin eksogen.
Liqing Zang, Yasuhito Shimada, dan Norihiro Nishimura	2017	Ikan zebra jantan dewasa umur 4 sampai 6 bulan dibagi menjadi dua kelompok: satu kelompok menerima pemberian makan berlebih dan kelompok lainnya sebagai kontrol, dengan masing-masing kelompok terdiri dari 5 ikan	Development of a Novel Zebrafish Model for Type 2 Diabetes Mellitus	Scientific Reports	Model ikan zebra DMT2 menawarkan banyak keuntungan: 1) menunjukkan kemunculan ciri-ciri DMT2 yang cepat dibandingkan dengan model hewan pengerat; 2) menunjukkan reaksi positif terhadap obat antidiabetik manusia melalui paparan atau

Penulis	Tahun Terbit	Sampel	Judul	Sumber	Temuan
		yang ditempatkan dalam tangki 2 L. Ikan zebra yang diberi makan berlebihan menerima dosis 120 mg Otohime B2 per ikan per hari, sedangkan kontrol (termasuk ikan zebra non-DIO) menerima dosis 20 mg per ikan per hari.			teknik pemberian oral; 3) menunjukkan kesamaan jalur transkriptomik patologis dengan manusia.
Sharchil, C., Vijay, A., Ramachandran, V., Bhagavatheswaran, S., Devarajan, R., Koul, B., Yadav, D., & Balakrishnan	2022	Literature Review	Zebrafish: A Model to Study and Understand the Diabetic Nephropathy and Other Microvascular Complications of Type 2 Diabetes Mellitus	Review Article (Veterinary Science) - MDPI	Dalam tinjauan ini, fokusnya adalah pada aspek fisiologis dan patologis yang terkait dengan masalah mikrovaskuler pada ikan zebra dan menyoreroti berbagai model eksperimental ikan zebra yang digunakan untuk mempelajari nefropati diabetik (DN), beserta hasil terkait dan mekanisme yang diamati. dengan ND pada ikan zebra.
Bobby Madhukumar Mathews	2019	Thesis	A Zebrafish Model System for Drug screening in Diabetes	Master Degree Project	Dalam penelitian ini disajikan bahwa mutasi MODY disebabkan oleh CRISPR dapat menyebabkan peningkatan kadar gula darah pada larva ikan zebra berumur 10 hari dan bagaimana obat tolbutamid dapat

Penulis	Tahun Terbit	Sampel	Judul	Sumber	Temuan
					mengurangi dampak hiperglikemia yang disebabkan oleh mutasi MODY. Mutan ikan zebra hnf1a dan pdx1 menunjukkan hasil yang paling menjanjikan.
Tabassum, N., Tai, H., Jung, D. W., & Williams	2015	Literature Review	Fishing for Nature's Hits: Establishment of the Zebrafish as a Model for Screening Antidiabetic Natural Products	Hindawi	Ikan zebra memiliki mekanisme biologis yang sama dengan manusia dalam hal regulasi glukosa. Penggunaannya untuk obat antidiabetes memiliki manfaat utama: mudah diperoleh dari toko hewan peliharaan, biaya peralatan yang rendah. Ikan zebra semakin populer karena memungkinkan analisis farmakokinetik, sehingga menambah daya tariknya.
Matthew B. Veldman and Shuo Lin	2008	Literature Review	Developmental Biology: Model Systems - A Series of Reviews	Pediatric Research (Review Article)	Kapasitas untuk mengenali sifat fisik yang berubah, menentukan gen yang berubah, mengeksplorasi perannya dengan menggunakan produksi protein yang berlebihan, reduksi, studi embrio, dan analisis ekspresi gen, dan kemudian memeriksa berbagai elemen kimia dan genetik yang

Penulis	Tahun Terbit	Sampel	Judul	Sumber	Temuan
					memengaruhi sifat tersebut, semuanya dalam satu waktu. Biaya yang tepat, menghadirkan prospek ilmiah yang menarik. Hal ini menjadi sangat penting ketika mempertimbangkan implikasi biomedis potensial dari model ini untuk mengungkapkan temuan yang berharga secara klinis.
Intine, R. V., Olsen, A. S., & Sarras	2013	Representasi ikan Zebra dewasa diabetes tipe 1 dikembangkan dengan menggunakan obat yang menginduksi diabetes, streptozocin.	A Zebrafish Model of Diabetes Mellitus and Metabolic Memory	JoVE (Journal of Visual Experiments)	Dalam penelitian ini, model ikan zebra DMT1 menunjukkan komplikasi sekunder yang muncul pada manusia seperti retinopati dan nefropati. Salah satu keuntungan menggunakan ikan zebra adalah bahwa penelitian dapat dilakukan dalam organisme hidup karena ikan yang sebelumnya digunakan akan kembali ke keadaan kadar gula darah normal. Model ini juga menawarkan metode yang sederhana dan dapat diukur, namun tetap efisien dalam hal waktu.
Sarras Jr	2018	Literature Review	Genetic and chemically-induced	MOJ anatomy and	Artikel ini membahas berbagai model ikan zebra

Penulis	Tahun Terbit	Sampel	Judul	Sumber	Temuan
			Zebrafish models for the study of diabetes mellitus	physiology	yang cocok untuk DMT1 dan DMT2. Metode modifikasi genetik dengan mengkodekan enzim nitroreduktase (NTR) dapat digunakan untuk memodelkan DMT1. Metode ini cocok untuk penelitian tentang regenerasi sel, komplikasi, dan kemungkinan pengobatan.
Carril Pardo, C. A., Masoz, L., Dupont, M. A., Bergeman, D., Bourdouxhe, J., Lavergne, A., Tarifeño-Saldivia, E., Helker, C. S. M., Stainier, D. Y. R., Peers, B., Voz, M. L., & Manfroid	2022	Ikan zebra dewasa (6-10 bulan) dan larva dengan sel β terablasia menggunakan sistem kemogenetik.	A δ -cell subpopulation with a pro- β -cell identity contributes to efficient age independent recovery in a zebrafish model of diabetes	ASM (American Society of Microbiology) Journal	Penelitian ini menunjukkan kesesuaian ikan zebra yang digunakan untuk mempelajari sel-sel yang terkena diabetes dan regenerasinya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ikan zebra larva dan dewasa kembali ke kondisi euglikemia setidaknya 20 hari setelah mengalami hiperglikemia karena sel β pankreas yang rusak telah diregenerasi menjadi sel β bihormonal. Dibandingkan dengan ikan zebra, model mamalia seperti tikus tidak dapat bertahan hidup tanpa injeksi insulin eksogen pada bulan-bulan pertama setelah ablasi karena pemulihannya

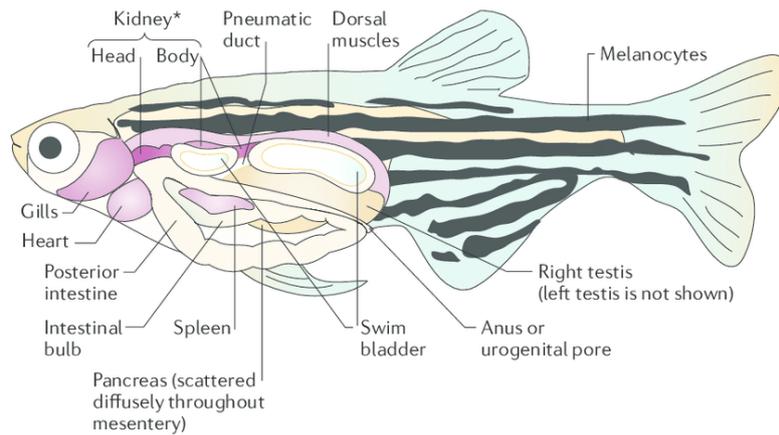
Penulis	Tahun Terbit	Sampel	Judul	Sumber	Temuan
					lambat.
Linkai Qu, a,b Fan Liu, a Yimeng Fang, a Lei Wang, a Haojie Chen, a Qinsi Yang, c Hao Dong, b Libo Jin, a Wei Wu, d Da Sun	2023	Model ikan zebra diabetes dan penyakit Alzheimer diberi diet tinggi glukosa menggunakan udang peri (HGFS) dan menerima pemberian <i>A. muciniphila</i> secara intragastrik.	Improvement in Zebrafish with Diabetes and Alzheimer's Disease Treated with Pasteurized <i>Akkermansia muciniphila</i>	eLife	Ikan zebra digunakan karena mereka memiliki pembentukan dan pematangan jantung dan sistem saraf yang mirip dengan manusia. Bagaimana <i>A. muciniphila</i> mempengaruhi diabetes ditunjukkan melalui peningkatan kadar glukosa darah, BMI, kolesterol total, LDL, dan IFN- γ .
Li, X., Ge, G., Song, G., Li, Q., & Cui	2023	Ikan zebra jantan dibagi menjadi dua kelompok: Kelompok kontrol menerima diet standar, dan kelompok yang diberi makan berlebihan menerima diet kaya lemak selama empat minggu untuk menginduksi diabetes.	Transcriptome Analysis Reveals the Molecular Basis of Overfeeding-Induced Diabetes in Zebrafish	International Journal of Molecular Sciences	Studi ini menemukan bahwa pemberian makan ikan zebra secara berlebihan menyebabkan akumulasi tetesan lemak yang berlebihan di hati mereka, yang merupakan ciri khas resistensi insulin dan DMT2. Pemberian pakan yang berlebihan juga berpengaruh signifikan terhadap konsentrasi trigliserida dan kolesterol dalam hati ikan zebra.
Lin, B., Ma, J., Fang, Y., Lei, P., Wang, L., Qu, L., Wu, W., Jin, L., & Sun	2023	Literature Review: Membahas berbagai penelitian yang menggunakan ikan Zebra sebagai model organisme untuk menyelidiki penyembuhan luka diabetes	Advances in Zebrafish for Diabetes Mellitus with Wound Model	Bioengineering	Ikan zebra adalah alat yang berharga dalam pengobatan diabetes dan penyembuhan luka. Organisme ini memiliki keunggulan seperti hasil yang tinggi, homologi

Penulis	Tahun Terbit	Sampel	Judul	Sumber	Temuan
Elo, B., Villano, C. M., Govorko, D., & White	2007	Ikan zebra muda dalam tahap larva pada 96 jam setelah pembuahan (hpf). Embrio dikumpulkan dan dibekukan untuk isolasi RNA.	Larval Zebrafish as a Model for Glucose Metabolism: Expression of Phosphoenolpyruvate Carboxykinase as a Marker for Exposure to Anti-diabetic Compounds	Journal of Molecular Endocrinology	genetik dengan manusia, dan kemampuan untuk meregenerasi sirip ekornya. Studi ini menemukan bahwa sel mamalia dan larva ikan zebra memiliki mekanisme pengaturan yang sama untuk metabolisme glukosa. Selain itu, obat-obatan yang digunakan untuk mengobati diabetes, seperti glipizide dan metformin menurunkan ekspresi PEPCCK pada ikan zebra larva. Mekanisme kerja ini mirip dengan sistem mamalia.
Lee, Y., & Yang	2021		Development of a Zebrafish Screening Model for Diabetic Retinopathy Induced by Hyperglycemia: Reproducibility Verification in Animal Model	Biomedicine and Pharmacotherapy	Dalam penelitian ini, ikan zebra berpotensi menjadi model yang dapat diandalkan dan sesuai untuk menyelidiki retinopati diabetik (DR), dan mengevaluasi pengobatan yang potensial. Ikan zebra yang terpapar glukosa dan pengobatan aflibercept menunjukkan ada perubahan pada kematian sel retina dan ekspresi GFAP, VEGF, dan ZO-1.

Penulis	Tahun Terbit	Sampel	Judul	Sumber	Temuan
Jörgens, K., Hillebrand, J. L., Hammes, H. P., & Kroll	2012	Literature Review: Membahas berbagai penelitian yang menggunakan ikan zebra sebagai model organisme untuk meneliti komplikasi diabetes	Zebrafish: A Model for Understanding Diabetic Complications	Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes	Ikan zebra adalah model organisme yang berharga untuk penelitian komplikasi diabetes karena kemiripannya dalam regulasi glukosa dengan manusia dan tikus. Ikan zebra juga menunjukkan perubahan metabolisme dan molekuler sebagai respons terhadap kadar glukosa yang tinggi, sehingga cocok untuk pengujian obat antidiabetes.

Anatomi dan Fisiologi Ikan Zebra

Ikan zebra (*Danio rerio*) memiliki struktur anatomi yang mirip dengan mamalia. Secara anatomis, strukturnya ada otak, hati, pankreas, jantung, ginjal, ovarium dan testis. Adapun fungsi fisiologis organ-organ ini juga tidak jauh berbeda dengan manusia. Contohnya ginjal pada ikan zebra yang menjadi tempat hematopoiesis (White et al., 2013). Ikan zebra juga memiliki struktur sel ginjal dan nefron yang mirip manusia. Fisiologi jantung ikan zebra sama dengan manusia karena mengalami proses morfogenetik. Selain itu ikan zebra mempunyai fisiologi mata yang hampir sama dengan manusia karena mempunyai mata bentuknya yang didominasi sel kerucut, berbeda dengan penglihatan mencit yang didominasi sel batang (William, 2017). Kemudian, ikan zebra memiliki jaringan adiposa yang fungsinya hampir sama dengan mamalia yaitu dapat mengatur kadar lipid untuk merespons pembatasan makanan dan menghitung peningkatan jumlah lipid merespons kelebihan kalori (Elemans, dkk., 2019). Pankreas ikan zebra berfungsi melakukan homeostasis glukosa yaitu untuk mengeluarkan hormon seperti insulin, amilase, dan somatostatin, mirip dengan mamalia (Benchoula et al., 2019). Pankreas ikan zebra dapat meregenerasi sel β selama hidup. Hal ini bisa terjadi karena adanya sinyal adenosin yang memicu regenerasi sel β pada ikan zebra (Matsuda, 2018).



Gambar 2. Struktur Anatomis Ikan Zebra

Suatu model dapat dikatakan sukses ketika dapat meniru reaksi gen manusia sebagai respon terhadap suatu penyakit. Ikan zebra dapat menjadi model studi karena memiliki kesamaan gen penyakit hingga 84% dengan manusia. Hal ini membuka peluang penggunaan untuk penelitian lebih lanjut dalam pengembangan penyakit dan efektivitas pengobatan.

Habitat Ikan Zebra

Ikan zebra pertama kali ditemukan pada tahun 1822 oleh seorang fisikawan Skotlandia di Sungai Gangga, India (Utami, 2018). Mereka juga dapat ditemukan di negara-negara dengan lingkungan perairan tropis/subtropis terutama di Asia Selatan termasuk Pakistan, Bangladesh, Nepal, dan Myanmar. Mereka mendiami berbagai habitat air tawar, biasanya perairan tenang dengan aliran lambat atau tanpa aliran dan substrat berlumpur seperti sungai, danau, dan sawah. Padahal hal tersebut juga dipengaruhi oleh keberadaan predator serta ketersediaan zooplankton dan sumber makanan lain bagi spesies tersebut (Ardiansyah, 2018).

Kondisi lingkungan tempat hidup ikan zebra antara lain air jernih atau keruh dengan suhu berkisar antara 10-40⁰C, pH 6-10, konduktivitas 10-271 μ S/cm, kedalaman maksimum 60 cm, dan permukaan laut hingga ketinggian lebih dari 1500m (Aleström *et al* , 2020). Di laboratorium, kondisi kehidupan ikan zebra harus disesuaikan dengan kondisi di alam liar. Beberapa aspek yang perlu diperhatikan adalah suhu air, keasaman, ketersediaan oksigen, dan kejernihan. Prosedur standar pemeliharaan ikan zebra menganjurkan air jernih dengan sirkulasi oksigen cukup, suhu berkisar 26-31⁰C, dan agak basa dengan pH 7-8 (Indriyanti, 2020).

Genetik Ikan Zebra sebagai Model Organisme

Ikan zebra adalah sistem model yang sudah mapan untuk biologi perkembangan, genetika manusia, dan penyakit manusia (Dooley dan Zon, 2000; Gibert *et al.*, 2013; Freifeld *et al.*, 2017). Ada 84% kesamaan antara gen terkait penyakit ikan zebra dan

mamalia. Hal ini mengarah pada penggunaan ikan zebra sebagai model untuk mempelajari fungsi dan kelainan gen mamalia. Ikan zebra juga dapat diakses untuk manipulasi embrio dan genetik karena perkembangan eksternalnya (Zang *et al.*, 2018). Selain kesamaan struktur anatomi dan fungsi fisiologis, ikan zebra juga memiliki sifat genetik yang sangat mirip dengan manusia. Tingkat kemiripan genetik ikan zebra dengan manusia mencapai 70% (Benchoula *et al.*, 2019). Sekitar 71% gen manusia memiliki setidaknya satu gen ortolog dengan ikan zebra (Vornanen, M., & Hassinen, 2016). Berdasarkan basis data *Online Mendelian Inheritance in Man* (OMIM) ada 3,176 gen potensial penyakit manusia dan 2,601 (82%) diantaranya terdapat pada gen ikan zebra. Tingginya tingkat ortologi antara ikan zebra dan genom manusia, menegaskan potensi ikan zebra sebagai model organisme dalam mempelajari perkembangan vertebrata, jalur biologis, dan penyakit manusia (Howe *et al.*, 2013).

Oka *et al.*, (2010) melaporkan bahwa dalam perkembangan penyakit, gen ikan zebra yang terkena dampak sama dengan manusia, sehingga memiliki karakteristik patologis yang serupa. Gen-gen ini termasuk IL-6, IL-1 β dan APOH pada jalur koagulasi dan SREBF1, PPAR α/γ , NR1H3 dan LEP dalam metabolisme lipid. Ikan zebra dan mamalia memiliki kode gen yang sama untuk metabolisme karbohidrat. Selain itu, larva ikan zebra memiliki adiposit yang menyimpan lipid dan sel spesifik lainnya yang terlibat dalam metabolisme lipid.

Tabel 2. Gen ikan zebra yang dipilih sebagai model studi nefropati diabetik

Gen	Usia Ikan	Efek
pdx1 pdx1sa280	Dewasa	Penurunan ukuran tubuh dan tingkat bertahan hidup setelah mutasi. Penurunan jumlah sel beta dan insulin, eksokrin pankreas tertentu, diferensiasi sel asinar terhambat. Secara keseluruhan, penurunan signifikan ukuran pulau langerhans.
CNDP1	Embrio	Meningkatkan kadar karnosin in vivo dan mencegah penambahan berat badan sampai batas tertentu, namun tidak cukup untuk mencegah komplikasi yang disebabkan oleh diabetes.

Dalam penelitian terbaru yang dilakukan oleh (Wiggenhauser *et al.*, 2022). bahwa pdx1 Knockout dapat menyebabkan fenotip yang mirip dengan nefropati diabetik pada ikan zebra, dan mereka juga mengidentifikasi fosfatidiletanolamin sebagai metabolit yang berpotensi menyebabkan kerusakan ginjal akibat diabetes dini. Juga pada pasien DMT2, gen carnosinase1 (CNDP1) telah diidentifikasi sebagai faktor yang meningkatkan kerentanan terhadap nefropati diabetik. Ikan zebra memiliki banyak potensi keunggulan, seperti kapasitas regeneratif dan aplikasi medis yang disesuaikan, menjadikannya model hewan yang menjanjikan di bidang ini (Kamel, M., & Ninov, 2017).

Aplikasi Ikan Zebra Sebagai Model Studi Diabetes Melitus

1. Metode Diet Induksi Obesitas

Obesitas terinduksi mengacu pada kondisi di mana obesitas secara sengaja disebabkan atau diinduksi pada suatu organisme melalui berbagai cara, seperti makan berlebihan atau mengonsumsi makanan berkalori tinggi. Hal ini dapat dilakukan pada model hewan seperti ikan zebra, untuk mempelajari dampak obesitas pada berbagai proses fisiologis dan untuk menyelidiki potensi pengobatan atau intervensi (Hardiati *et al.*, 2021).

Metode obesitas yang diinduksi memungkinkan para peneliti untuk menyelidiki mekanisme molekuler yang mendasari perkembangan obesitas pada ikan zebra. Dengan membandingkan data transkriptome dari hati kelompok diet tinggi lemak, diet berlebihan, dan diet normal, para peneliti menemukan gen yang diekspresikan secara berbeda (DEG) dan jalur sinyal yang terkait dengan obesitas ikan zebra yang disebabkan oleh diet tinggi lemak dan/atau makan berlebihan. Informasi ini memberikan wawasan tentang perkembangan obesitas serta target potensial pencegahan obesitas (Li *et al.*, 2023).

2. Metode Induksi Larutan Glukosa

Induksi diabetes melalui paparan glukosa merupakan metode yang banyak digunakan karena lebih murah, sederhana, mudah, dan karakteristiknya lebih banyak tersedia. Metode yang banyak digunakan untuk menginduksi diabetes dengan glukosa adalah melalui perendaman, cukup dengan menambahkan glukosa ke dalam air ikan. Paparan glukosa dapat menyebabkan resistensi insulin dan peningkatan gula darah, sehingga metode ini terutama digunakan untuk menginduksi DMT2 dan komplikasinya pada model ikan zebra. Prosedur perendaman dapat dilakukan dengan protokol yang berbeda-beda tergantung waktu dan persentase larutan glukosa (Salehpour *et al.*, 2021).

Metode yang populer digunakan adalah perendaman menggunakan larutan glukosa dengan konsentrasi 0% dan 2%, bergantian setiap 24 jam selama jangka waktu 1 bulan. Hal ini terbukti menyebabkan lonjakan hiperglikemia serta gejala retinopati diabetik. Metode ini sederhana namun murah (Tobassum, 2015). Sebagai alternatif, menginduksi DMT2 pada model ikan zebra muda dapat dilakukan dengan meningkatkan konsentrasi larutan glukosa secara bertahap. Prosesnya pasti memakan waktu lebih lama dengan waktu penyelesaian kurang lebih 2 bulan, namun akan memicu resistensi insulin dan respon terhadap obat anti diabetes (Salehpour *et al.*, 2021).

Jenis metode induksi glukosa lainnya adalah perendaman kronis dalam air 110mM yang digunakan untuk menginduksi DMT2 dalam waktu 14 hari yang ditandai dengan peningkatan kadar gula darah sebanyak 4-5 kali lipat. Perendaman kronis juga dapat dilakukan dalam larutan glukosa 130mM untuk menginduksi DMT2 pada larva ikan zebra dalam waktu 3 hari. Metode perendaman kronis

lainnya adalah dalam larutan glukosa 4%, yang berhasil mengembangkan model DMT2 ikan zebra dewasa setelah 28 hari intervensi. Caranya juga dapat dilakukan dengan cara bergantian larutan glukosa 4% dengan larutan glukosa 5% pada larva ikan zebra. Dilakukan mulai 3 jam setelah pembuahan hingga 5 hari untuk diinduksi (Salehpour *et al.*, 2021).

3. Metode Induksi Kimia

Induksi diabetes pada ikan zebra juga dapat dilakukan dengan penyuntikan bahan kimia diabetogenik. Metode ini lebih disukai karena karakteristiknya yang sederhana, murah, relatif cepat, dan mudah diakses. Contohnya adalah induksi DMT2 menggunakan bisphenol. Ada dua jenis bisphenol yang populer digunakan antara lain bisphenol S dan bisphenol F. Meski memiliki efek yang sama, kedua bahan kimia tersebut digunakan untuk model ikan zebra dalam tahap kehidupan yang berbeda. Bisphenol F digunakan untuk menginduksi diabetes pada larva ikan zebra sedangkan bisphenol S digunakan pada ikan zebra dewasa (Salehpour *et al.*, 2021).

Aloksan adalah bahan kimia diabetogenik lain yang sering diberikan melalui perendaman atau injeksi intraperitoneal untuk menginduksi diabetes pada larva ikan zebra atau ikan dewasa. Ini secara selektif membunuh sel β dan memicu nekrosis serta menurunkan jumlah neuromast yang menunjukkan tanda dan komplikasi diabetes tipe 1 (Zang, L., Maddison, L. A., & Chen, 2018). Salah satu bahan kimia yang paling populer digunakan adalah streptozotocin (STZ). Diberikan melalui suntikan intravena/intraperitoneal menggunakan spuit 1 ml selama 28 hari dengan selang waktu 7 hari. Cara ini terbukti menimbulkan gejala hiperglikemia pada diabetes tipe 1. Suntikan bahan kimia ini secara langsung akan mengikis sel β pankreas sehingga menyebabkan produksi insulin terganggu dan tidak konsisten (Hardianti dkk., 2021).

4. Metode Gabungan

Cara lain untuk mengembangkan diabetes pada manusia secara konsisten adalah dengan menggunakan kombinasi metode yang tersedia. Pendekatan ini juga terinspirasi oleh penelitian terhadap hewan pengerat. Kombinasi teknik bisa menjanjikan untuk mengembangkan model yang solid (Kurup dan Bhonde, 2000; Pinhas-Hamiel dan Zeitler, 2005; Zhang et al., 2008).

HCD (10% kolesterol) digunakan dan dipaparkan dengan larutan HG (2% glukosa) dan itu merupakan metode hybrid yang digunakan Wang dkk (2013) dalam eksperimennya. Metode yang sama juga digunakan pada tikus. Manifestasi diabetes yang menyebabkan gangguan pembuluh darah diciptakan dan ikan zebra tipe liar telah digunakan dalam penelitian ini dan terjadi peningkatan insulin, glukagon, glukosa, trigliserida dan kolesterol secara signifikan. Model ini responsif terhadap obat diabetes seperti metformin dan pioglitazone. Terungkap bahwa

pendekatan hibrida (HCD-HG) dalam menghasilkan keadaan hiperglikemik pada gejala ikan zebra lebih akurat (Salehpour *et al.*, 2021).

5. Metode Genetik

Metode ini adalah teknik dan pendekatan yang digunakan untuk menyelidiki peran dan fungsi gen dalam organisme (Sharchil *et al.*, 2022). Metode genetik pada ikan zebra melibatkan penargetan gen yang spesifik dan akurat serta menghasilkan anomali dan akurat dibandingkan dengan cara lain (Lee, Y., & Yang, 2021). Metode ini memungkinkan peneliti memanipulasi genom ikan zebra untuk mempelajari dampak mutasi gen pada jalur sinyal homeostasis glukosa dan insulin. Teknik seperti Tol2, CRISPR, ZFN, injeksi morfolino, dan TALEN digunakan untuk memperkenalkan modifikasi genetik, yang menginduksi keadaan hiperglikemik. Secara keseluruhan, metode genetik menyediakan alat yang berharga untuk mempelajari dasar genetik dari suatu sifat dan penyakit, memungkinkan para peneliti memperoleh wawasan tentang fungsi gen, mengidentifikasi target terapi potensial, dan mengembangkan model hewan untuk penyakit manusia (Salehpour *et al.*, 2021; Tabassum *et al.*, 2015).

Perlakuan Antidiabetes pada Ikan Zebra

1. Metmorfin

Penilaian obat digunakan untuk memverifikasi model obat anti-diabetes yang dihasilkan. Potensi dampak metabolisme glukosa melalui berbagai mekanisme dicari dalam pendekatan ini dengan adanya jalur metabolisme yang identik. Obat-obatan seperti glibepride, metmorfin (Capiotti *et al.*, 2014), tolbutamide (Mathews, B. and Gustafsson, 2019), dan pioglitazne diperbolehkan. Obat-obatan ini sering kali merupakan pengobatan DMT2 (Wang *et al.*, 1998).

2. Sibilin dan Metmorfin

Silibinin adalah bahan dalam ekstrak buah kering yang disebut silybum marianum. Buah ini memiliki efek farmakologis sebagai antidiabetes dengan merangsang penurunan resistensi insulin. Hasil yang diperoleh dari pengobatan penggunaan metformin dan silibin pada ikan zebra yaitu silibin mampu menurunkan kadar glukosa darah ($p < 0,05$) dan metformin menurunkan jumlah glukosa yang diproduksi hati sehingga menurunkan penyerapan glukosa dan meningkatkan insulin. Kombinasi ini dapat dilakukan dengan metode konsentrasi larutan glukosa 50 mM ditambah glukosa monohidrat, kemudian diolah menggunakan metformin dan silybin. Pengobatan metformin dan silibinin diindikasikan pada penelitian ini. Ini dapat meningkatkan perawatan metabolisme dengan meningkatkan ekspresi gen inflamasi dan glukosa darah, mengatur enzim dan memperbaiki peradangan usus pada model ikan zebra DMT2 (Hardiati *et al.*, 2021)..

3. Metmorfin dan Glipizide

Dua obat yang dikenal untuk pengobatan DMT2 (metformin dan glimepiride) telah menunjukkan fungsi yang signifikan pada ikan zebra. Kadar glukosa darah meningkat setelah makan berlebihan dan hal tersebut meningkatkan produksi toleransi glukosa jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Metmorfin dan glimepiride mengurangi efek hiperglikemia pada kelompok overfeeding dan mengkonfirmasi kesamaan patologi pada manusia (Zang, L., Maddison, L. A., & Chen, 2018).

4. Aflibercept

Aflibercept adalah obat yang digunakan untuk mengobati retinopati diabetik, suatu kondisi yang disebabkan oleh paparan kadar glukosa tinggi dalam waktu lama dan komplikasi DM. Ini adalah obat anti-VEGF (faktor pertumbuhan endotel vaskular) yang mencegah pembentukan pembuluh darah abnormal di retina. Dalam model retinopati diabetik ikan zebra, aflibercept mengurangi diameter pembuluh retina sekaligus meningkatkan kemanjuran biologis molekuler dan histopatologis. Mata ikan zebra terbukti menekan sitokin proinflamasi dan mengurangi peradangan. Aflibercept ditemukan sebagai dosis yang tidak beracun dan efektif dalam model retinopati diabetik ikan zebra. Ini dianggap sebagai pengobatan potensial untuk retinopati diabetik dan dapat digunakan untuk menyaring kandidat obat baru untuk kondisi ini (Lee, Y., & Yang, 2021).

5. Akkermansia muciniphila

Suplementasi bakteri Akkermansia muciniphila merupakan pengobatan diabetes karena memiliki efek terapeutik dan preventif. Sebuah studi tentang *A. muciniphila* yang dipasteurisasi untuk mengobati diabetes dan penyakit Alzheimer dilakukan pada model ikan zebra. Model tersebut dikembangkan melalui metode diet duksi dengan pemberian pakan udang peri berkadar glukosa tinggi selama 30 hari yang memicu peningkatan kadar glukosa darah, BMI, dan gejala peradangan. *A. muciniphila* yang telah dipasteurisasi diberikan kepada model ikan penderita diabetes melalui pemberian intragastrik setiap hari menggunakan pipet selama 60 hari. Hasil penelitian menunjukkan adanya penurunan kadar glukosa darah puasa yang signifikan, penekanan peningkatan BMI, serta penurunan kadar trigliserida, LDL, dan HDL. Melalui penelitian ini terbukti bahwa *A. muciniphila* yang dipasteurisasi memiliki efek positif pada pengobatan diabetes dan peningkatan metabolisme karbohidrat (Qu *et al.*, 2023).

Kelebihan dari penelitian

Model Organisme ikan zebra untuk diabetes melitus menawarkan beberapa keunggulan. Keunggulan utama ikan zebra adalah transparansi embrionya, sehingga memungkinkan peneliti mengamati perkembangan organ secara langsung dan jelas, khususnya sistem pembuluh darah. Transparansi ini terbukti sangat bermanfaat dalam

meningkatkan pemahaman kita tentang bagaimana diabetes melitus berdampak pada perkembangan organ dan jaringan terkait. Ikan zebra juga dapat menjadi model yang sangat baik untuk studi genetika. Penelitian pada ikan zebra dapat membantu mengidentifikasi gen yang terlibat dalam perkembangan diabetes dan berpotensi membuka jalan bagi pengembangan terapi berbasis gen.

Ikan zebra merupakan organisme yang relatif mudah dipelihara di laboratorium dan memerlukan biaya pemeliharaan yang lebih rendah dibandingkan hewan coba lainnya seperti mencit atau primata. Hal ini memungkinkan penelitian diabetes dilakukan dengan anggaran yang lebih terjangkau. Selain itu, ikan zebra memiliki siklus hidup yang cepat, memungkinkan penelitian diabetes dilakukan dalam waktu yang relatif singkat dan memungkinkan peneliti mempelajari perkembangan diabetes dan respons terhadap pengobatan dengan lebih efisien.

Keterbatasan dari penelitian

Pemanfaatan organisme model ikan zebra untuk diabetes melitus menawarkan banyak keuntungan dalam hal kecepatan, transparansi, dan genetik. Namun, penting untuk mengetahui keterbatasan tertentu ketika menggunakan organisme model ikan zebra untuk penelitian diabetes mellitus. Ikan zebra memiliki perbedaan yang mencolok pada anatomi, fisiologi, dan komposisi genetiknya jika dibandingkan dengan manusia. Misalnya, ikan zebra tidak memiliki pankreas yang sama dengan manusia. Akibatnya, aspek-aspek tertentu dari diabetes yang berkaitan dengan pankreas mungkin tidak diteliti secara komprehensif, sehingga berpotensi membatasi penerapan langsung temuan penelitian pada pasien manusia. Untuk memperoleh pemahaman yang lebih komprehensif mengenai diabetes melitus, pemanfaatan ikan zebra perlu didukung dengan penelitian pada organisme lain, seperti tikus atau primata, yang menunjukkan kemiripan struktural dan fungsional yang lebih dekat dengan organ terkait diabetes.

Selain itu, sebagian besar penelitian ikan zebra tentang diabetes berfokus pada efek jangka pendek dan tidak menyelidiki konsekuensi jangka panjang atau komplikasi kronis yang terkait dengan penyakit tersebut. Mekanismenya diabetes yang mendasari pada ikan zebra masih belum sepenuhnya dipahami, sehingga memerlukan upaya penelitian berkelanjutan untuk membangun model diabetes ikan zebra yang andal dan kuat.

KESIMPULAN

Ikan zebra sebagai model organisme untuk mempelajari diabetes mellitus menawarkan beberapa keuntungan signifikan, termasuk transparansi embrio untuk mengamati perkembangan organ, keterjangkauan, dan siklus hidup yang cepat untuk penelitian yang efisien. Ikan zebra juga dapat menjadi model yang berharga untuk studi genetika, yang berpotensi mengidentifikasi gen yang terkait dengan perkembangan diabetes dan terapi berbasis gen. Namun, penting untuk menyadari keterbatasan tertentu, seperti perbedaan anatomi, fisiologi, dan komposisi genetik dibandingkan

manusia, khususnya mengenai tidak adanya pankreas yang mirip dengan manusia. Keterbatasan ini mungkin membatasi penerapan langsung temuan pada pasien manusia, sehingga memerlukan penelitian tambahan pada organisme yang memiliki kemiripan struktural dan fungsional yang lebih dekat dengan manusia. Selain itu, sebagian besar penelitian ikan zebra tentang diabetes berfokus pada efek jangka pendek, dan konsekuensi jangka panjang serta komplikasi kronis dari penyakit ini belum sepenuhnya dieksplorasi. Oleh karena itu, upaya penelitian berkelanjutan diperlukan untuk membangun model diabetes ikan zebra yang lebih andal dan komprehensif.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih atas segala kontribusi dari teman-teman kami yang kontibusi ilmiahnya telah membantu kami walau belum memenuhi syarat untuk dimasukkan sebagai penulis dalam jurnal ini. Terima kasih juga kami sampaikan kepada Ibu Delita Septia, dosen pembimbing kami di Program Studi Gizi. Komitmen dan bimbingannya selalu meningkatkan semangat kami untuk menyelesaikan studi ini. Terakhir, kami mengucapkan terima kasih kepada Program Studi Gizi yang telah membekali kami dengan ilmu, keterampilan, dan kesempatan yang baik untuk kami.

DAFTAR PUSTAKA

- Aleström, P., D'Angelo, L., Midtlyng, P. J., Schorderet, D. F., Schulte-Merker, S., Sohm, F., & Warner, S. (2020). Zebrafish: Housing and husbandry recommendations. *Laboratory Animals*, 54(3), 213–224.
- Assosiation, A. D. (2010). Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, 33(Supplement 1).
- Benchoula, K., Khatib, A., Jaffar, A., Ahmed, Q. U., Sulaiman, W. M. A. W., Abd Wahab, R., & El-Seedi, H. R. (2019). The promise of zebrafish as a model of metabolic syndrome. *Experimental Animals*, 68(4), 407–416.
- Benchoula, K., Khatib, A., Quzwain, F. M. C., Che Mohamad, C. A., Wan Sulaiman, W. M. A., Wahab, R. A., Ahmed, Q. U., Ghaffar, M. A., Saiman, M. Z., Alajmi, M. F., & El-Seedi, H. (2019). Optimization of hyperglycemic induction in zebrafish and evaluation of its blood glucose level and metabolite fingerprint treated with psychotria malayana Jack Leaf extract. *Benchoula, K., Khatib, A., Quzwain, F. M. C., Che Mohamad, C. A., Wan Sulaiman, W. M. A., Wahab, R. A., Ahmed, Q. U., Ghaffar, M. A., Saiman, M. Z., Alajmi, M. F., & El-Seedi, H.*, 24(8).
- Carril Pardo, C. A., Massoz, L., Dupont, M. A., Bergemann, D., Bourdouxhe, J., Lavergne, A., Tarifeño-Saldivia, E., Helker, C. S. M., Stainier, D. Y. R., Peers, B., Voz, M. L., & Manfroid, I. (2022). A δ -cell subpopulation with a pro- β -cell identity contributes to efficient age-independent recovery in a zebrafish model of diabetes. *ELife*, 11.
- Elo, B., Villano, C. M., Govorko, D., & White, L. A. (2007). Larval zebrafish as a model for glucose metabolism: Expression of phosphoenolpyruvate carboxykinase as a marker for exposure to anti-diabetic compounds. *Journal of Molecular Endocrinology*, 38(34), 433–440.
- Handajani, F. (2021). *Metode Pemilihan dan Pembuatan Hewan Model Beberapa Penyakit Pada Penelitian Eksperimental*. Zifatama Jawa.
- Hardianti, M., Yuniarto, A., & Hasimun, P. (2021). Review: Zebrafish (*Danio rerio*) Sebagai

- Model Obesitas dan Diabetes Melitus Tipe 2. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 8(2), 69.
- Howe, K., Clark, M. D., Torroja, C. F., Torrance, J., Berthelot, C., Muffato, M., ... & Teucke, M. (2013). The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. *Nature*, 496(7446), 498–503.
- Indriyanti, N. (2020). Zebrafish (*Danio rerio*) Sebagai Model Hewan Coba pada Pengujian Aktivitas Obat. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 11, 80–83.
- Intine, R. V., Olsen, A. S., & Sarras, M. P. (2013). A zebrafish model of diabetes mellitus and metabolic memory. *Journal of Visualized Experiments*, 72.
- Jörgens, K., Hillebrands, J. L., Hammes, H. P., & Kroll, J. (2012). Zebrafish: A model for understanding diabetic complications. In *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes. National Library of Medicine*, 120(4), 186–187.
- Kamel, M., & Ninov, N. (2017). Catching new targets in metabolic disease with a zebrafish. In *Current Opinion in Pharmacology. Elsevier*, 37, 41–50.
- Lee, Y., & Yang, J. (2021). Development of a zebrafish screening model for diabetic retinopathy induced by hyperglycemia: Reproducibility verification in animal model. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 135.
- Li, X., Ge, G., Song, G., Li, Q., & Cui, Z. (2023). Effects of Nutritionally Induced Obesity on Metabolic Pathways of Zebrafish. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3).
- Lin, B., Ma, J., Fang, Y., Lei, P., Wang, L., Qu, L., Wu, W., Jin, L., & Sun, D. (2023). Advances in Zebrafish for Diabetes Mellitus with Wound Model. *Bioengineering*, 10(3).
- Mathews, B. and Gustafsson, E. (2019). *A Zebrafish model system for drug screening in diabetes*.
- Qu, L., Liu, F., Fang, Y., Wang, L., Chen, H., Yang, Q., Dong, H., Jin, L., Wu, W., & Sun, D. (2023). Improvement in Zebrafish with Diabetes and Alzheimer's Disease Treated with Pasteurized *Akkermansia muciniphila*. *Microbiology Spectrum*, 11(3).
- Salehpour, A., Rezaei, M., Khoradmehr, A., Tahamtani, Y., & Tamadon, A. (2021). Which Hyperglycemic Model of Zebrafish (*Danio rerio*) Suits My Type 2 Diabetes Mellitus Research? A Scoring System for Available Methods. In *Frontiers in Cell and Developmental Biology. Frontiers Media S.A.*, 9.
- Sarras Jr, M. P. (2018). Genetic and chemically-induced Zebrafish models for the study of diabetes mellitus. *MOJ Anatomy & Physiology*, 5(5).
- Sharchil, C., Vijay, A., Ramachandran, V., Bhagavatheeswaran, S., Devarajan, R., Koul, B., Yadav, D., & Balakrishnan, A. (2022). Zebrafish: A Model to Study and Understand the Diabetic Nephropathy and Other Microvascular Complications of Type 2 Diabetes Mellitus. *Veterinary Sciences. MDPI*, 9(7).
- Tabassum, N., Tai, H., Jung, D. W., & Williams, D. R. (2015). Fishing for Nature's Hits: Establishment of the Zebrafish as a Model for Screening Antidiabetic Natural Products. In *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine. Hindawi Publishing Corporation*.
- Tomic, D., Shaw, J. E., & Magliano, D. J. (2022). The burden and risks of emerging complications of diabetes mellitus. *Nature Reviews Endocrinology*, 18(9), 525–539.
- Utami, N. (9 C.E.). Zebrafish (*Danio rerio*) sebagai hewan model diabetes mellitus. *BioTrends*, 1(15–19).
- Vornanen, M., & Hassinen, M. (2016). Zebrafish heart as a model for human cardiac electrophysiology. *Channels*, 10(2), 101–110.

- Wiggenhauser, L. M., Metzger, L., Bennewitz, K., Soleymani, S., Boger, M., Tabler, C. T., Hausser, I., Sticht, C., Wohlfart, P., Volk, N., Heidenreich, E., Buettner, M., Hammes, H. P., & Kroll, J. (2022). *pdx1* Knockout Leads to a Diabetic Nephropathy– Like Phenotype in Zebrafish and Identifies Phosphatidylethanolamine as Metabolite Promoting Early Diabetic Kidney Damage. *Diabetes*, *71*(5), 1073–1080.
- Zang, L., Maddison, L. A., & Chen, W. (2018). Zebrafish as a model for obesity and diabetes. In *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. *Frontiers Media S.A.*, 6(AUG).