

Kerusakan Struktur Glomerulus dan Tubulus Ginjal Ikan Zebra Betina (*Danio rerio*) Akibat Induksi Variasi Diet Tinggi Lemak

Niken Aramita Pramesti¹, Noer Aini², Dini Sri Damayanti^{3*}

^{1,2,3} Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang
e-mail: nikenaramita@gmail.com

Abstrak

Introduksi : Diet tinggi lemak dapat memicu terjadinya obesitas pada ikan zebra. Salah satu komplikasi dari obesitas adalah penyakit ginjal kronis akibat gangguan fungsi nefron. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi diet tinggi lemak terhadap perubahan struktur glomerulus dan kerusakan tubulus secara histopatologis pada ikan zebra betina.

Metode : Penelitian eksperimental ini menggunakan ikan zebra betina yang dibagi menjadi empat kelompok perlakuan ($n = 6$) : Kelompok pelet (P) sebagai kontrol, kuning telur + pelet (KTP), kolesterol + pelet (KP), dan artemia (A). Intervensi diet dilakukan selama 28 hari dengan dosis 3,5% berat badan untuk P, 5% berat badan untuk KTP dan KP, serta 6-7% untuk A yang diberikan sebanyak tiga kali sehari. Parameter histopatologi yang dievaluasi meliputi diameter glomerulus, lebar kapsula Bowman, dan vakuolisasi tubulus. Data diameter glomerulus dan lebar kapsula Bowman dianalisis menggunakan uji *One-Way ANOVA*, sedangkan data vakuolisasi tubulus dianalisis menggunakan uji *Kruskal-Wallis*.

Hasil dan diskusi : Hasil penelitian menunjukkan terdapat pengaruh signifikan pada diameter glomerulus, lebar kapsula Bowman, dan vakuolisasi tubulus antar kelompok perlakuan ($p < 0.05$). Kelompok KTP menunjukkan kerusakan paling besar yang ditandai dengan peningkatan diameter glomerulus sebesar 27,83%, lebar kapsula Bowman sebesar 233,05%, dan vakuolisasi tubulus sebesar 51-75% dibandingkan dengan kelompok P.

Kesimpulan : Disimpulkan bahwa variasi diet kuning telur + pelet selama 28 hari memengaruhi perubahan struktur glomerulus serta kerusakan tubulus pada ikan zebra betina sehingga berpotensi digunakan sebagai model induksi obesitas dan komplikasi pada ginjal pada ikan zebra betina.

Kata Kunci: Danio Rerio Betina, Variasi Diet Tinggi Lemak, Histopatologi Ginjal.

Abstract

Introduction : A high-fat diet can trigger obesity in zebrafish. One of the complications of obesity is chronic kidney disease due to impaired nephron function. This study aimed to determine the effect of various high-fat diets on histopathological changes in glomerular structure and tubular damage in female zebrafish.

Method : This experimental study used female zebrafish divided into four treatment groups ($n = 6$): pellet group (P) as control, egg yolk + pellet (KTP), cholesterol + pellet (KP), and Artemia (A). The dietary intervention was carried out for 28 days with doses of 3.5% body weight for P, 5% body weight for KTP and KP, and 6–7% for A, administered three times daily. Histopathological parameters evaluated included glomerular diameter, Bowman's capsule width, and tubular vacuolisation. Data on glomerular diameter and Bowman's capsule width were analysed using *One-Way ANOVA*, while tubular vacuolisation data were analysed using the *Kruskal-Wallis* test.

Results : The results showed significant effects on glomerular diameter, Bowman's capsule width, and tubular vacuolisation among treatment groups ($p < 0.05$). The KTP group exhibited the greatest damage, characterised by an increase in glomerular diameter by 27.83%,

Bowman's capsule width by 233.05%, and tubular vacuolisation by 51–75% compared to the P group.

Conclusion : It is concluded that the egg yolk + pellet diet over 28 days influenced changes in glomerular structure and tubular damage in female zebrafish, thus potentially serving as a model for inducing obesity and renal complications in female zebrafish.

Keywords : Female *Danio Rerio*, High-Fat Diet Variation, Kidney Histopathology

LATAR BELAKANG

Penyakit ginjal merupakan salah satu masalah global dengan angka kejadian yang terus meningkat seiring perubahan pola hidup masyarakat modern (Chen et al., 2021). Konsumsi makanan tinggi lemak adalah penyebab terjadinya obesitas yang merupakan salah satu faktor risiko penyakit ginjal kronik (PGK) (Zeitler et al., 2022). Berdasarkan data dari Survei Kesehatan Indonesia (SKI) 2023, prevalensi penyakit ginjal kronik di Indonesia adalah 0,17%-0,18% dari total populasi usia ≥ 15 tahun yang dianggap masih mungkin terjadi underestimasi karena banyak kasus tidak terdiagnosis sampe fase lanjut (Maharani et al., 2022).

Salah satu mekanisme yang mendasari terjadinya kerusakan ginjal akibat obesitas adalah melalui mekanisme lipotoksitas, diawali dengan terjadinya timbunan lemak visceral terutama pada *fat pad* perirenal yang meningkatkan kadar asam lemak bebas (FFA) yang mengaktivasi jalur inflamasi seperti NF- κ B sehingga memicu inflamasi dan kerusakan sel ginjal berupa perubahan ukuran glomerulus, pelebaran kapsula Bowman, vakuolisasi tubulus, dan nekrosis tubulus (Liu et al., 2025). Perubahan ukuran glomerulus berupa glomerulomegali (hipertrofi glomerulus) dapat terjadi karena adanya hiperfiltrasi glomerulus akibat adanya akumulasi lipid (peningkatan jaringan adiposa) yang menghasilkan angiotensinogen dan aktivasi RAAS (*Renin-Angiotensin-Aldosterone System*), stress oksidatif, dan inflamasi (Martínez-Montoro et al., 2022). Pembesaran diameter glomerulus berlangsung terus-menerus dapat menyebabkan terjadinya penebalan membran basal glomerulus sehingga proses filtrasi menjadi terganggu. Gangguan filtrasi dapat menyebabkan ketidakseimbangan cairan dan elektrolit, perubahan jumlah urin yang diproduksi, penurunan kemampuan ekskresi zat toksik, serta peningkatan risiko kerusakan ginjal lebih lanjut (Kriz et al., 2023). Selain itu, peningkatan filtrasi menyebabkan jumlah cairan filtrat yang masuk ke ruang kapsula Bowman (Bowman space) menjadi lebih banyak. Apabila berlangsung secara terus-menerus, kondisi tersebut akan menyebabkan pelebaran kapsula Bowman sebagai bentuk adaptasi terhadap peningkatan tekanan filtrasi ginjal (Martínez-Montoro et al., 2022).

Sedangkan vakuolisasi tubulus merupakan salah satu tanda awal degenerasi sel akibat akumulasi lipid, disfungsi mitokondria dan peningkatan stres seluler yang menyebabkan terbentuknya ruang-ruang kosong (vakuola) di dalam sitoplasma (Wen & Ma, 2025). Mekanisme ini berkaitan akumulasi lipid menyebabkan peningkatan lemak visceral yang selanjutnya meningkatkan kadar asam lemak bebas dalam sirkulasi dan terdeposit ke dalam sel tubulus. Lipid berlebih menyebabkan terjadinya β -oksidasi tidak seimbang dan *overload electron transport chain* yang mengganggu fungsi mitokondria sehingga menurunkan produksi energi sel, serta memicu stress oksidatif (peroksidasi membran lipid, aktivasi NF- κ B, dan pelepasan sitokin inflamasi). Gangguan tersebut menyebabkan disfungsi organel sel dan gangguan homeostasis ion sehingga terjadi akumulasi cairan dan lipid intraseluler yang membentuk vakuolisasi pada sitoplasma sebagai tanda awal degenerasi sel tubulus. Apabila kondisi terus berlanjut, vakuolisasi dapat berkembang menjadi degenerasi sel yang lebih berat hingga nekrosis sel tubulus, yang pada akhirnya dapat menurunkan kemampuan ginjal dalam mempertahankan homeostasis cairan dan elektrolit serta mengganggu fungsi ekskresi secara keseluruhan (Martínez-Montoro et al., 2022).

Ikan zebra (*Danio rerio*) sebagai model hewan coba karena memiliki kesamaan genetik dengan manusia sekitar 70% yang diketahui memiliki struktur ginjal, khususnya pada unit nefron yang terdiri dari glomerulus dan tubulus, serta metabolisme lemak yang mirip dengan

manusia. Ikan zebra (*Danio rerio*) dipilih karena memiliki beberapa kelebihan sebagai hewan coba yaitu mempunyai siklus hidup yang singkat, biaya pemeliharaan relatif rendah, serta respons yang sensitif terhadap perubahan metabolik akibat diet. Namun, meskipun memiliki kelebihan, ikan zebra juga memiliki kekurangan yaitu ukuran organ yang kecil sehingga membuat proses preparasi jaringan membutuhkan ketelitian yang tinggi (Choi et al., 2021). Pemilihan betina berdasarkan pada alasan bahwa pada penelitian sebelumnya terbukti menunjukkan respons obesitas yang lebih konsisten terhadap diet tinggi lemak dan memiliki ukuran tubuh yang lebih besar dibandingkan ikan zebra jantan sehingga pengamatan struktur histologi jadi lebih mudah (Fowler et al., 2021).

Meskipun berbagai penelitian telah menunjukkan hubungan antara diet tinggi lemak dan kerusakan ginjal, masih terdapat keterbatasan data yang secara spesifik membandingkan efek berbagai jenis sumber diet terhadap perubahan histopatologi ginjal, khususnya pada model hewan ikan zebra (*Danio rerio*). Oleh karena itu, diperlukan penelitian yang mampu mengevaluasi perbedaan pengaruh berbagai jenis diet terhadap struktur ginjal, seperti diameter glomerulus lebar kapsula Bowman, serta tingkat vakuolisasi tubulus. Penelitian ini diharapkan dapat mengisi kesenjangan pengetahuan terkait mekanisme terkait mekanisme kerusakan ginjal akibat variasi diet, serta memberikan dasar ilmiah dalam pengembangan strategi pencegahan melalui pengaturan pola makan. Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini bertujuan untuk membuktikan adanya pengaruh variasi diet tinggi lemak selama 28 hari terhadap perubahan struktur glomerulus dan kerusakan tubulus secara histopatologis pada ikan zebra (*Danio rerio*).

METODE

Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental laboratorium *in vivo posttest-only control group design*.

Subyek/Sample Penelitian

Sampel penelitian ini menggunakan hewan coba ikan zebra betina (*Danio rerio*) dewasa usia 3-5 bulan dengan berat 0,3-0,4 gram.

Kegiatan Pra Penelitian

Tahap pra penelitian dilakukan sebagai langkah awal untuk memastikan kesiapan alat, bahan, serta kondisi sampel sebelum penelitian utama dilaksanakan. Pada tahap ini dilakukan persiapan hewan uji berupa ikan zebra (*Danio rerio*) yang diperoleh dari budidaya ikan zebra (Zebrafish Indonesia, Kediri) kemudian melakukan determinasi ikan zebra untuk memastikan spesies sampel sesuai dengan kebutuhan yang dilakukan di FPIK Universitas Airlangga dengan nomor determinasi 13/UP-FISH/UA.FPK/02/2026. Selanjutnya dilakukan tahap aklimatisasi atau masa adaptasi selama satu minggu dengan memberikan pakan standar yaitu pelet PF500 yang diberikan 3 kali sehari, suhu air dipertahankan 25°C, pH dipertahankan 6,5-7,5, serta siklus pencahayaan yang disesuaikan dengan standar pemeliharaan ikan zebra (dengan pencahayaan 10 jam, tanpa pencahayaan 10 jam), dan pergantian air secara rutin setiap dua hari sekali. Hal ini dilakukan untuk memastikan kondisi fisiologi yang homogen sebelum perlakuan diberikan.

Selanjutnya dilakukan pembuatan pakan perlakuan berupa campuran kuning telur ayam dengan pelet dengan perbandingan 5:1 yang diberikan sebanyak 5% dari berat badan ikan, pakan campuran kolesterol dan pelet 4% yang diberikan sebanyak 5% dari berat badan ikan, menyiapkan pakan standar pelet PF500 sebanyak 3,5% dari berat badan ikan, dan artemia berupa *decapsulated artemia cyst* (DAC) sebanyak 20 mg atau 6-7% dari berat badan ikan yang ditimbang setiap minggunya.

Selain itu, dilakukan persiapan alat yang digunakan dalam proses penelitian dan analisis histopatologi, meliputi akuarium pemeliharaan, aerator, oxygen meter (Lutron DO-5510 Oxygen Meter, Taiwan), mikroskop trinokuler (Olympus IX 53), serta perangkat lunak ImageJ (National Institutes of Health, USA) untuk pengukuran parameter histologi. Seluruh alat dikalibrasi terlebih dahulu untuk memastikan keakuratan hasil pengukuran.

Kegiatan Saat Penelitian

Penelitian ini diawali dengan proses aklimatisasi ikan zebra (*Danio rerio*) selama satu minggu pada akuarium pemeliharaan dengan kondisi lingkungan yang dikontrol meliputi suhu, pH, air, aerasi, dan siklus pencahayaan. Setelah masa adaptasi selesai, ikan ditimbang untuk memenuhi kriteria inklusi dan menyingkirkan kriteria eksklusi terhadap berat badan yaitu antara 0,3 gram sampai 0,5 gram. Hasil penimbangan berat badan ikan juga digunakan untuk mempersiapkan jumlah diet setiap perlakuan. Kemudian, ikan yang memenuhi kriteria inklusi akan dibagi secara acak ke dalam 4 kelompok perlakuan sesuai desain penelitian. Masing-masing kelompok kemudian diberikan perlakuan diet yang berbeda yaitu pelet, kuning telur dan pelet, kolesterol dan pelet, dan artemia. Pakan diberikan secara teratur sesuai dosis yang telah ditentukan berdasarkan berat badan dan jumlah ikan dalam setiap akuarium. Pemberian pakan diberikan setiap hari selama 28 hari, sebanyak tiga kali sehari dengan setiap jam setelah pemberian pakan dilakukan penggantian sebagian air untuk membersihkan pakan yang tersisa agar tidak memperburuk kondisi air bagi ikan. Selama penelitian berlangsung, kondisi ikan diamati secara berkala meliputi aktivitas, respons terhadap pakan, serta kemungkinan adanya stress atau kematian. Selain itu, kualitas air akuarium seperti suhu, pH, dan kadar oksigen dipantau rutin untuk menjaga kondisi pemeliharaan tetap optimal.

Setelah masa perlakuan selesai, pada hari ke-29 ikan dipuasakan selama 10 jam kemudian *sacrifice* ikan zebra ke dalam air es dengan suhu $\pm 17^{\circ}\text{C}$ selama 10-15 menit. Kemudian ikan difiksasi dengan larutan formalin 10% dan dikirimkan untuk dilakukan proses preparasi. Proses pembuatan preparat histologi melalui beberapa tahap yaitu tahapan dehidrasi, celaring, embedding parafin, pemotongan jaringan menggunakan mikrotom, dan pewarnaan hematoksilin-eosin (HE). Setelah proses preparasi selesai, selanjutnya dilakukan pengamatan histopatologi menggunakan mikroskop trinokuler (Olympus IX 53) untuk mengevaluasi perubahan struktur ginjal.

Kegiatan Akhir Penelitian

Pada tahap akhir penelitian dilakukan pengamatan histopatologi organ ginjal dari preparat yang telah dibuat menggunakan mikroskop trinokuler. Pengamatan dilakukan terhadap parameter diameter glomerulus, lebar kapsula Bowman, dan tingkat vakuolisasi tubulus. Preparat yang memenuhi kualitas pengamatan kemudian didokumentasikan melalui aplikasi pada komputer untuk memperoleh gambar histologi yang akan dianalisis lebih lanjut.

Selanjutnya pengukuran diameter glomerulus dan lebar kapsula Bowman dengan hasil dokumentasi pembesaran 400x dilakukan menggunakan perangkat lunak Image J. Sedangkan vakuolisasi tubulus dinilai berdasarkan sistem skoring sesuai derajat perubahan histopatologi yang ditemukan. Perhitungan skoring dengan rumus proporsi sebagai berikut :

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

Rumus 1. Proporsi Perhitungan Vakuolisasi Tubulus

Keterangan :

a : Jumlah total vakuola pada tubulus pada 5 lapang pandang

b : Jumlah total sel tubulus pada 5 lapang pandang

Setelah proporsi diketahui, maka hasil presentasi dikoneversikan menjadi bentuk skor seperti pada tabel berikut :

Tabel 1. Skoring Histopatologi pada Organ Ginjal

Skor	Kriteria
0	Tidak ada vakuola
1	Vakuola ringan (<25% sel tubulus)
2	Vakuola sedang (25–50%)
3	Vakuola berat (51–75%)
4	Sangat berat (>75%)

Keterangan : Derajat atau kriteria skoring vakuolisasi tubulus ginjal (Hakroush et al., 2021).

Data hasil pengamatan masing-masing sampel (diambil sebanyak 6 sampel dengan setiap sampel 5 lapang pandang) dicatat dan dikelompokkan sesuai kelompok perlakuan diet. Setiap masing-masing bagian yang diukur dilakukan oleh 3 pengamat sehingga data yang dihasilkan adalah data dari 3 pengamat, masing-masing terdapat 6 sampel dengan 5 lapang pandang. Hasil akhir adalah hasil rata-rata setiap sampel untuk diameter glomerulus dan lebar kapsula Bowman. Sedangkan untuk tubulus adalah skoring vakuolisasi tubulus pada setiap sampel.

Analisa Data

Data yang telah diperoleh dan sudah dikelompokkan sesuai kelompok dilakukan pengolahan menggunakan perangkat lunak statistik SPSS 30.0 *for windows*. Tahap awal analisis untuk diameter glomerulus dan lebar kapsula Bowman dilakukan dengan uji normalitas (*Saphiro-Wilk*) dan uji homogenitas (*Lavene*). Apabila data terdistribusi normal dan homogen maka data dianalisis menggunakan uji *One-Way ANOVA* dengan signifikansi $p < 0.05$. Apabila hasil yang didapatkan signifikan, maka dilakukan uji *post hoc Bonferroni* untuk perbandingan antar kelompok, signifikan bila pasangan kelompok diet $p < 0.05$. tahap statistik untuk skoring vakuola adalah menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dengan signifikansi $p < 0.05$. Apabila hasil signifikan, maka dilakukan uji *Mann-Whitney* untuk perbandingan antar kelompok dengan signifikansi $p < 0.05$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Sampel Penelitian

Karakteristik sampel penelitian meliputi populasi sampel, jenis kelamin, umur, jumlah ikan, jenis diet, serta durasi diet pada masing-masing kelompok disajikan pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Karakteristik Sampel Penelitian

Keterangan	P	KP	KTP	A
Sampel	Ikan zebra betina	Ikan zebra betina	Ikan zebra betina	Ikan zebra betina
Umur	3-5 bulan	3-5 bulan	3-5 bulan	3-5 bulan
Jumlah	6	6	6	6
Diet	Pelet dosis 3.5% BB	Kolesterol + Pelet 4% dosis 5% BB	Kuning telur + pelet 5:1 dosis 5% BB	Artemia dosis 6 – 7% BB
Durasi Diet	28 hari	28 hari	28 hari	28 hari

Keterangan : (P) Kelompok perlakuan pelet; (KP) kelompok perlakuan kolesterol + pelet; (KTP) kelompok perlakuan kuning telur + pelet; (A) kelompok perlakuan artemia.

Pada penelitian ini dipilih ikan zebra (*Danio rerio*) sebagai model hewan coba karena memiliki kemiripan genetik dengan manusia sekitar 70% serta memiliki kesamaan fisiologi metabolik dan struktur organ ginjal yang tersusun atas glomerulus dan tubulus (Choi et al., 2021). Selain itu, pemilihan ikan zebra (*Danio rerio*) didasarkan pada beberapa kelebihan yaitu siklus hidup yang singkat, biaya pemeliharaan yang relatif rendah, reproduksi cepat, serta sensitif terhadap perubahan metabolik akibat diet sehingga banyak digunakan sebagai model penelitian obesitas (Qiao et al., 2021).

Pada penelitian ini digunakan ikan zebra betina usia 3-5 bulan karena terbukti menunjukkan respons obesitas yang lebih konsisten terhadap diet tinggi lemak dan memiliki ukuran tubuh yang lebih besar dibandingkan ikan zebra jantan sehingga pengamatan struktur histologi jadi lebih mudah (Fowler et al., 2021). Sedangkan usia 3 sampai 5 bulan dipilih karena pada usia ini ikan zebra betina telah mencapai kematangan fisik dengan perkembangan struktur anatomi yang lengkap (Smolińska et al., 2024).

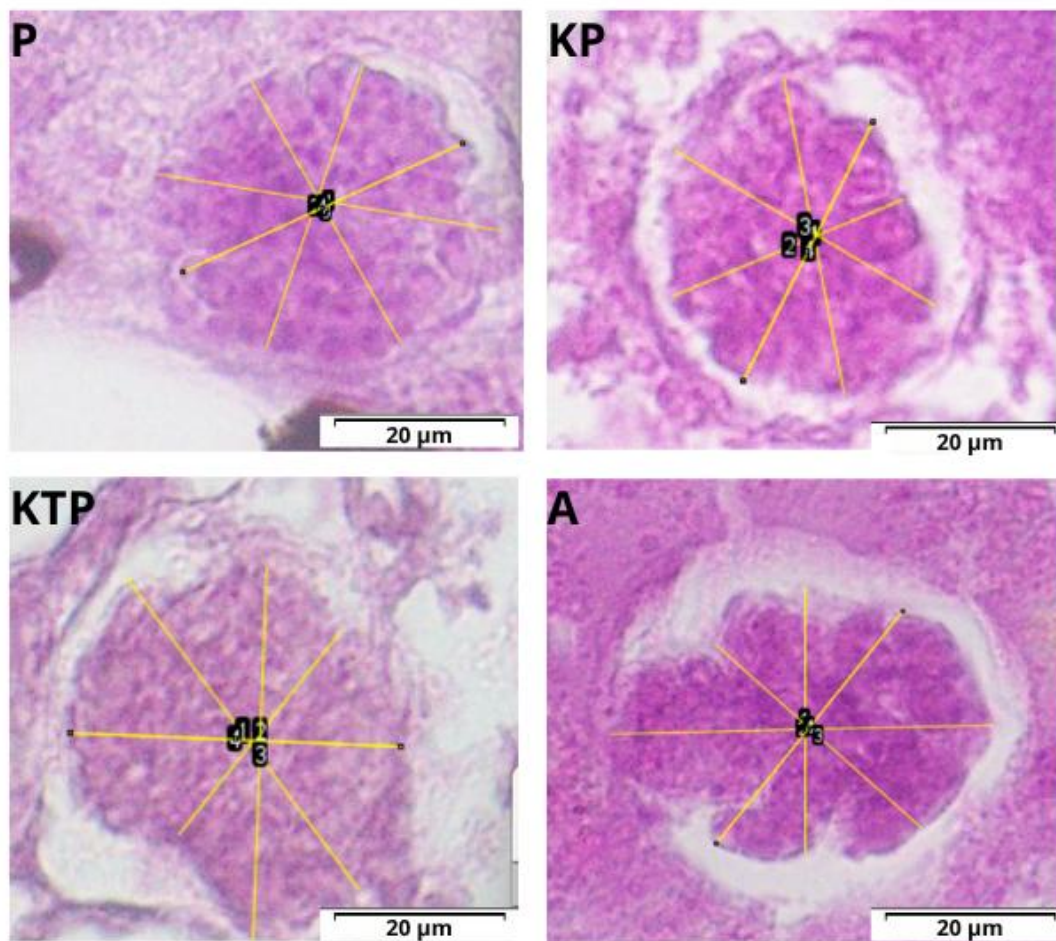
Proses induksi diet pada penelitian ini ditetapkan selama 28 hari berdasarkan pada penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa paparan diet tinggi lemak selama dua minggu telah mampu menyebabkan perubahan metabolik awal dan akumulasi lipid pada ikan zebra tanpa menyebabkan terjadinya peningkatan mortalitas yang tinggi (Picolo et al., 2021).

Durasi 28 hari juga dipilih untuk memungkinkan terjadinya perubahan histopatologi ginjal pada fase awal hingga menengah sehingga kerusakan jaringan masih dapat diamati dengan baik sebelum berkembang menjadi kerusakan yang lebih berat. Selain itu, penggunaan durasi yang lebih singkat juga mempertimbangkan kondisi fisiologis ikan agar tidak mengalami stress kronis selama penelitian berlangsung (Zeitler et al., 2022).

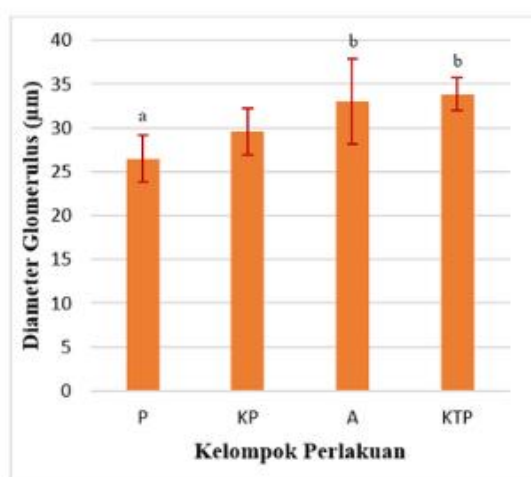
Keseragaman karakteristik sampel yang digunakan pada penelitian ini bertujuan untuk mengurangi pengaruh variabel perancu yang mempengaruhi hasil penelitian. Dengan demikian, hasil pengamatan terhadap perubahan histopatologi ginjal, seperti diameter glomerulus, lebar kapsula Bowman, dan vakuolisasi tubulus dapat merefleksikan pengaruh perlakuan secara lebih akurat dan meningkatkan validitas serta reliabilitas penelitian.

Efek Diet Tinggi Lemak terhadap Peningkatan Diameter Glomerulus Ikan Zebra Betina

Untuk mengevaluasi perkembangan terjadinya glomerulopati pada ikan zebra betina, dilakukan analisis histopatologi ginjal dari ikan zebra betina, dengan perlakuan diet normal (pelet) dan perlakuan diet (kolesterol + pelet, kuning telur + pelet, dan artemia). Pengamatan difokuskan pada perubahan diameter glomerulus sebagai salah satu indikator terjadinya gangguan ginjal akibat paparan diet. Hasil dari pengukuran diameter glomerulus ginjal ikan zebra betina dapat dilihat pada **Gambar 1** di bawah ini.

A**B**

Kelompok	Diameter Glomerulus (µm) (Rata-rata ± SD)
P	26.48 ± 2.66 ^a
KP	29.56 ± 2.67
A	32.98 ± 4.84 ^b
KTP	33.85 ± 1.85 ^b

C

Gambar 1. Induksi variasi diet tinggi lemak menunjukkan peningkatan diameter glomerulus ginjal ikan zebra betina (*Danio rerio*) (H&E, skala batang : 20 µm 400x)
Keterangan : A : Gambaran histologis glomerulus ginjal ikan zebra betina (*Danio rerio*) pada kelompok P (pelet), KP (Kolesterol + pelet), KTP (Kuning telur + pelet), dan A (Artemia) dengan perbesaran 400 kali menunjukkan adanya perbedaan ukuran glomerulus antar kelompok

perlakuan, dengan kelompok kuning telur + pelet menunjukkan diameter glomerulus yang lebih besar dibandingkan kelompok lainnya. *B* : Hasil Analisa diameter glomerulus ginjal ikan zebra betina (*Danio rerio*). *C* : Histogram diameter glomerulus ginjal ikan zebra betina (*Danio rerio*). Analisis data menggunakan uji *One Way ANOVA* dan *post hoc test Bonferroni* dengan signifikansi $p < 0.05$. Notasi huruf yang berbeda menyatakan adanya perbedaan yang signifikan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan pada diameter glomerulus antar kelompok. Apabila dibandingkan dengan kelompok pelet, terjadi peningkatan diameter glomerulus sebesar 11,63% pada kelompok KP, 27,83% pada kelompok KTP, dan 24,55% pada kelompok artemia. Hasil analisis menunjukkan adanya perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan, terutama pada kelompok induksi diet pelet (P) dengan kuning telur + pelet (KTP) dan artemia (A) yang mengindikasikan bahwa pemberian diet tinggi lemak berpengaruh terhadap peningkatan diameter glomerulus yang mengarah pada terjadinya glomerulomegali (Zeitler et al., 2022).

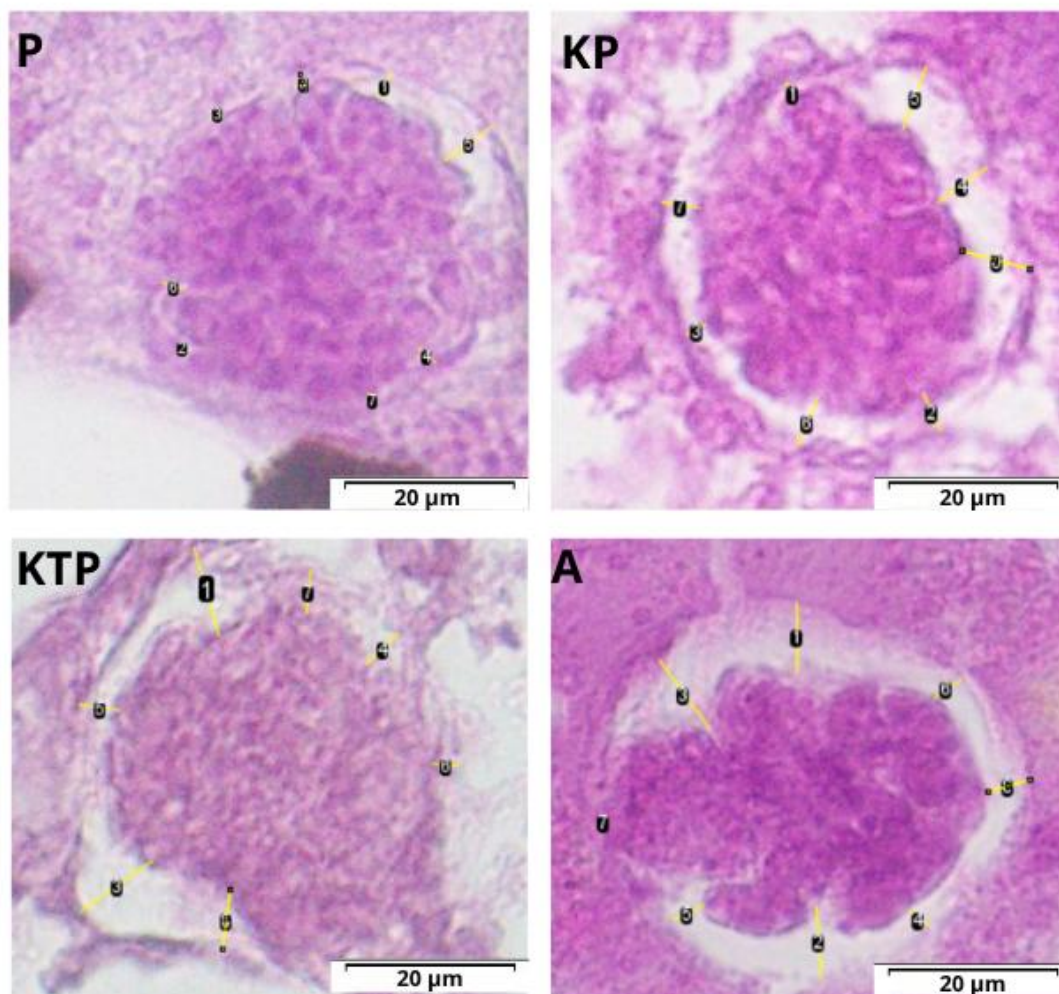
Kelompok kuning telur + pelet (KTP) menunjukkan diameter glomerulus tertinggi dibandingkan dengan kelompok lainnya dan berbeda signifikan dengan pelet. Temuan ini diduga disebabkan oleh tingginya kandungan lemak kasar pada diet KTP yaitu sekitar 50% sehingga meningkatkan akumulasi lipid dan meningkatkan beban kerja ginjal. Asupan lemak yang berlebihan dapat menyebabkan lipotoksitas, stres oksidatif, dan respon inflamasi yang berkontribusi terhadap peningkatan tekanan filtrasi glomerulus sehingga terjadi pembesaran diameter glomerulus (Sánchez-Navarro et al., 2021). Hal ini sejalan dengan penelitian Zeitler et al. yang melaporkan bahwa pemberian diet tinggi lemak menggunakan campuran pelet dan kuning telur selama 8 minggu mampu menyebabkan glomerulomegali pada ikan zebra dewasa. Temuan serupa pada hewan coba lain, pemberian diet tinggi lemak berupa pakan biasa + 20 mL kuning telur ayam perhari dibandingkan kontrol pakan biasa pada kelinci New Zealand menyebabkan ukuran glomerulus meningkat signifikan (Chagas et al., 2026).

Kelompok artemia (A) juga menunjukkan peningkatan diameter glomerulus yang cukup tinggi dan berbeda signifikan dengan pelet. Kondisi ini diduga berkaitan dengan kandungan lemak kasar pada artemia yang lebih tinggi (7%) dibandingkan dengan pelet (3%). Selain kandungan lemak, kandungan protein yang tinggi (sekitar 42-58%) pada artemia diduga berkaitan dengan mekanisme peningkatan produk sisa nitrogen yang harus diekskresikan melalui ginjal sehingga memicu peningkatan laju filtrasi glomerulus (hiperfiltrasi) dan tekanan intraglomerular yang menyebabkan adaptasi berupa hipertrofi glomerulus sesuai dengan penelitian sebelumnya pada tikus dengan diet tinggi protein jangka panjang ditemukan ukuran glomerulus yang lebih besar (Cho et al., 2021).

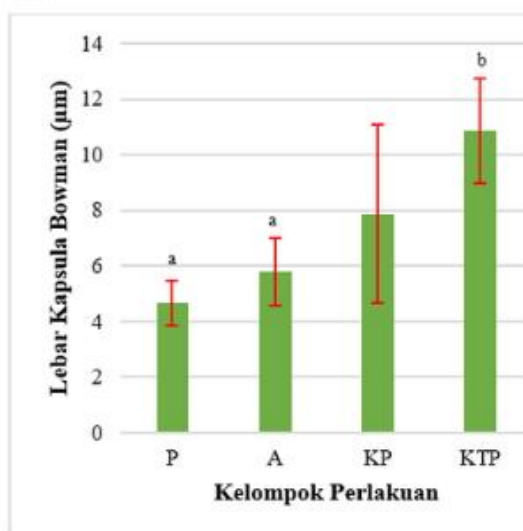
Tidak adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok kolesterol + pelet (KP) dengan kelompok diet lainnya diduga karena kandungan lemak kasar pada diet KP (7%) dan dengan kadar kolesterol 4% hanya cukup untuk memicu fase transisi awal lipotoksitas sehingga belum cukup untuk menimbulkan perbedaan struktural histopatologi yang jelas dalam waktu 28 hari (Jin et al., 2023). Pada periode induksi 28 hari, kelompok P masih mempresentasikan kondisi normal, kelompok A menunjukkan perubahan yang masih di bawah KTP, sedangkan KP mulai menunjukkan perubahan awal akibat paparan diet namun belum berkembang menjadi kerusakan struktural yang nyata. Selain itu, meskipun kelompok KTP menunjukkan perubahan histopatologi paling berat, durasi penelitian selama 28 hari kemungkinan masih merepresentasikan tahap awal perkembangan lesi ginjal sehingga terjadi overlap respons antar kelompok yang sehingga terdeteksi tidak memiliki perbedaan bermakna secara statistik (Zeitler et al., 2022).

Efek Diet Tinggi Lemak terhadap Lebar Kapsula Bowman Ikan Zebra Betina

Untuk mengevaluasi pengaruh diet terhadap perubahan struktur kapsula Bowman, dilakukan analisis histopatologi dengan mengukur lebar kapsula Bowman pada setiap kelompok. Gambaran histologi dan hasil pengukuran lebar kapsula Bowman yang diinduksi variasi diet selama 28 hari dapat dilihat pada **Gambar 2** di bawah ini.

A**B**

Kelompok	Lebar <u>Kapsula</u> Bowman (µm) (Rata-rata ± SD)
P	4.66 ± 0.79 ^a
A	5.79 ± 1.20 ^a
KP	7.87 ± 3.22
KTP	10.86 ± 1.87 ^b

C

Gambar 2. Induksi variasi diet tinggi lemak menunjukkan pelebaran kapsula Bowman ginjal ikan zebra betina (*Danio rerio*) (H&E, skala batang : 20 µm 400x)

Keterangan : A : Gambaran histologis kapsula Bowman ginjal ikan zebra betina (*Danio rerio*) pada kelompok P (pelet), KP (Kolesterol + pelet), KTP (Kuning telur + pelet), dan A (Artemia) dengan perbesaran 400 kali menunjukkan adanya pelebaran kapsula Bowman antar kelompok perlakuan, dengan kelompok kuning telur + pelet menunjukkan pelebaran kapsula Bowman yang lebih besar dibandingkan kelompok lainnya. B : Hasil analisa lebar kapsula Bowman ginjal ikan zebra betina (*Danio rerio*). C : Histogram lebar kapsula Bowman ginjal ikan zebra betina (*Danio rerio*). Analisis data menggunakan uji *One Way ANOVA* dan *post hoc test Bonferroni* dengan signifikansi $p < 0.05$. Notasi huruf yang berbeda menyatakan adanya perbedaan yang signifikan.

Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada lebar kapsula Bowman antar kelompok perlakuan. Dibandingkan dengan kelompok pelet, terjadi peningkatan lebar kapsula Bowman sebesar 68,88% pada kelompok KP, 233,05% pada kelompok KTP, dan 24,25% pada kelompok artemia. Analisis statistik menunjukkan adanya perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan, terutama pada induksi diet kuning telur + pelet (KTP) dengan diet pelet (P) dan diet artemia (A) yang mengindikasikan bahwa pemberian diet tinggi lemak berpengaruh terhadap terjadinya peningkatan lebar kapsula Bowman yang disebabkan oleh adanya peningkatan tekanan filtrasi dan perubahan struktur ginjal (Zeitler et al., 2022).

Kelompok kuning telur + pelet (KTP) menunjukkan lebar kapsula Bowman tertinggi dibandingkan kelompok lainnya serta berbeda signifikan dengan kelompok pelet (P) dan artemia (A). Hal ini diduga disebabkan oleh kandungan lemak kasar diet KTP yang paling tinggi (sekitar 50%) sehingga meningkatkan akumulasi lipid, stres oksidatif, dan tekanan filtrasi glomerulus (Zeitler et al., 2022). Peningkatan tekanan intraglomerulus secara terus menerus dapat menyebabkan perubahan struktur glomerulus dan pelebaran kapsula Bowman. Selain itu, kandungan protein pada diet KTP yang relatif lebih rendah dibandingkan kebutuhan metabolik juga diduga memengaruhi tekanan osmotik plasma sehingga keseimbangan filtrasi terganggu dan cairan filtrat menjadi lebih mudah keluar menuju kapsula Bowman (Martínez-Montoro et al., 2022).

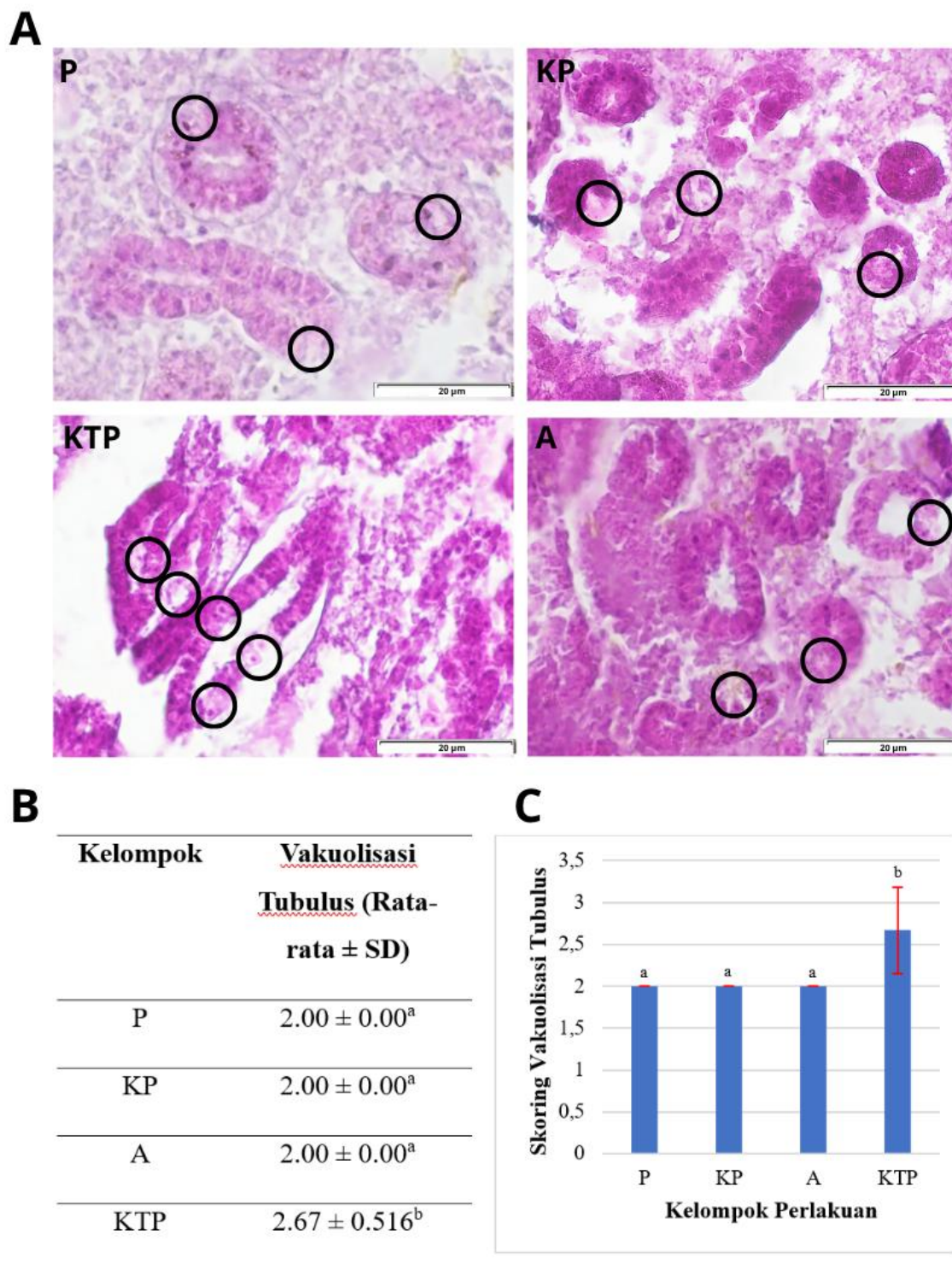
Berbeda dengan glomerulus, diet artemia (A) pada kapsula Bowman tidak memiliki perbedaan dengan diet pelet (P). Kondisi ini terjadi diduga berkaitan dengan kandungan protein pada pelet dan artemia yang relatif lebih tinggi sehingga mampu mempertahankan tekanan onkotik plasma dalam kisaran normal (Zhou et al., 2025). Selain kandungan lemak, keseimbangan protein dalam diet juga berperan penting dalam mempertahankan homeostasis filtrasi glomerulus. Kekurangan protein dapat menurunkan tekanan onkotik plasma sehingga cairan menjadi lebih mudah keluar dari kapiler glomerulus menuju kapsula Bowman (Dalal R, Bruss ZS, 2023). Kondisi tersebut dapat memperberat pelebaran ruang kapsula Bowman terutama pada kelompok diet tinggi lemak seperti KP dan KTP.

Tidak ditemukannya perbedaan yang signifikan antara kelompok diet kolesterol pelet (KP) dengan kuning telur + pelet (KTP), pelet (P), dan artemia (A) mengindikasikan bahwa kadar kolesterol 4% dengan kandungan lemak sekitar 7% hanya cukup untuk memicu fase transisi awal lipotoksitas pada ginjal sehingga perubahan yang terjadi diduga hanya bersifat fungsional dan belum cukup untuk menimbulkan perubahan struktural histopatologi yang signifikan pada ginjal dalam drasi 28 hari (Jin et al., 2023). Dengan demikian, pada kondisi penelitian ini, kelompok diet P merepresentasikan kondisi fisiologis, diet A menunjukkan homeostasis ginjal yang relatif terjaga, diet KP mulai mengalami perubahan ringan hingga sedang, dan KTP telah terjadi lipotoksitas yang lebih parah akibat paparan diet tinggi lemak.

Efek Diet Tinggi Lemak terhadap Jumlah Vakuolisasi Tubulus Ginjal Ikan Zebra Betina

Vakuolisasi tubulus merupakan salah satu parameter histopatologi ginjal yang digunakan untuk mengevaluasi derajat kerusakan sel epitel tubulus. Perubahan ini ditandai dengan terbentuknya vakuola pada sitoplasma sel yang mengindikasikan adanya perubahan metabolisme sel, akumulasi lemak, atau cedera akibat stress oksidatif. Pada penelitian ini, derajat vakuolisasi tubulus dinilai menggunakan sistem skoring berdasarkan tingkat

keparahan perubahan histologis yang diamati pada preparat jaringan ginjal. Gambaran histopatologi vakuolisasi tubulus pada masing-masing kelompok dapat dilihat pada **Gambar 3**.



Gambar 3. Induksi variasi diet tinggi lemak menunjukkan peningkatan jumlah vakuolisasi tubulus ginjal ikan zebra betina (*Danio rerio*) (H&E, skala batang : 20 μ m 600x)

Keterangan : A : Gambaran histologis tubulus ginjal ikan zebra betina (*Danio rerio*) pada kelompok P (pelet), KP (Kolesterol + pelet), KTP (Kuning telur + pelet), dan A (Artemia) dengan perbesaran 600 kali menunjukkan adanya peningkatan jumlah vakuolisasi tubulus antar

kelompok perlakuan, dengan kelompok kuning telur + pelet menunjukkan peningkatan jumlah vakuolisasi tubulus yang lebih besar dibandingkan kelompok lainnya. *B* : Hasil analisa jumlah vakuolisasi tubulus ginjal ikan zebra betina (*Danio rerio*). *C* : Histogram jumlah vakuolisasi tubulus ginjal ikan zebra betina (*Danio rerio*). Analisis data menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dan *Mann-Whitney* dengan signifikansi $p < 0.05$. Notasi huruf yang berbeda menyatakan adanya perbedaan yang signifikan.

Hasil pengamatan menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada tingkat vakuolisasi tubulus antar kelompok perlakuan. Skor paling tinggi ditemukan pada kelompok diet kuning telur + pelet (KTP) dengan skor 3 (kriteria vakuola berat 51-75%). Sementara itu, kelompok diet yang lain yaitu diet kolesterol + pelet (KP), artemia (A), dan pelet (P) menunjukkan skor yang sama yaitu 2 (kriteria vakuola sedang 25-50%). Analisis statistik menunjukkan adanya perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan, terutama pada kelompok diet kuning telur + pelet (KTP) dengan kelompok perlakuan diet lainnya. Temuan ini mengindikasikan bahwa pemberian diet tinggi lemak berpengaruh terhadap peningkatan jumlah vakuolisasi tubulus ginjal (Locatelli et al., 2022).

Kelompok kuning telur + pelet (KTP) menunjukkan derajat vakuolisasi tubulus yang paling tinggi dan berbeda signifikan dibandingkan kelompok lainnya. Temuan ini diduga berkaitan dengan tingginya kandungan lemak kasar pada diet KTP (50%) sehingga menyebabkan akumulasi lipid yang berlebihan pada sel tubulus ginjal. Akumulasi lipid tersebut berpotensi mengganggu fungsi mitokondria, menurunkan produksi ATP, serta meningkatkan stres oksidatif yang berujung pada degenerasi sel tubulus dalam bentuk vakuolisasi. Selain itu, kandungan kolesterol dan lipid dari kuning telur diduga turut memperberat terjadinya lipotoksitas pada jaringan ginjal sehingga kerusakan tubulus menjadi lebih nyata (Wang et al., 2021). Kondisi ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa diet tinggi lemak pada tikus mengakibatkan terjadi vakuolisasi pada tubulus proksimal dengan mekanisme terkait akumulasi lipid dan gangguan autofagi (Kim et al., 2023).

Kelompok pelet (P), kolesterol + pelet (KP), serta artemia (A) tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dalam derajat vakuolisasi tubulus. Temuan ini diduga karena derajat gangguan metabolik pada ketiga kelompok tersebut relatif lebih ringan dibandingkan dengan kelompok KTP. Kondisi ini terkait dengan kandungan lemak yang lebih rendah memungkinkan sel tubulus tetap mampu mempertahankan fungsi metaboliknya. Sedangkan pada kelompok kolesterol + pelet (KP) meskipun terdapat kandungan kolesterol, kemungkinan jumlahnya belum cukup tinggi untuk menimbulkan perbedaan bermakna dibandingkan dengan kelompok lainnya. Dengan demikian, hanya kelompok KTP yang menunjukkan perbedaan signifikan karena beban lipid yang lebih tinggi mempercepat terjadinya lipotoksitas, stres oksidatif, dan gangguan fungsi mitokondria pada sel tubulus ginjal. Mekanisme ini sejalan dengan penelitian sebelumnya bahwa diet normal tidak memicu akumulasi lipid maupun kerusakan sel tubulus, berbeda dengan diet tinggi lemak yang menyebabkan perubahan histopatologi ginjal (Sánchez-Navarro et al., 2021). Temuan ini juga sesuai dengan penelitian sebelumnya dalam model mencit CD-1 yang diberi kontrol diet rendah lemak dengan minyak kedelai memiliki jumlah vakuola yang lebih rendah dibanding diet lard sebagai diet tinggi lemak jenuh (Yoshimura et al., 2021).

SIMPULAN

Diet kuning telur + pelet yang diberikan pada ikan zebra betina (*Danio rerio*) selama 28 hari berpotensi menginduksi obesitas dan menimbulkan kerusakan struktur pada ginjal. Penelitian selanjutnya disarankan untuk menggunakan jumlah sampel yang lebih besar, melakukan analisis makronutrien lengkap, menggunakan ikan zebra jantan atau hewan coba lain yang memiliki ukuran organ lebih besar.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang atas dukungan fasilitas yang diberikan selama pelaksanaan penelitian. Penulis juga

menyampaikan apresiasi kepada dosen pembimbing, laboran, dan seluruh pihak yang telah berkontribusi dalam penelitian serta penyusunan artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Chagas, C., Pires, L., Rodriguez, B., De Souza Ribeiro, B. F., Júnior, A. F., & Babinski, M. 2026. Protective Effects Of Chitosan And Rosuvastatin On Renal Structure And Lipid Metabolism In Rabbits Fed A High-Fat Diet. *Medicina*, 62. <https://doi.org/10.3390/Medicina62010219>
- Chen, S., Chen, J., Li, S., Guo, F., Li, A., Wu, H., Chen, J., Pan, Q., Liao, S., Liu, H. F., & Pan, Q. 2021. High-Fat Diet-Induced Renal Proximal Tubular Inflammatory Injury: Emerging Risk Factor Of Chronic Kidney Disease. *Frontiers In Physiology*, 12(December). <https://doi.org/10.3389/Fphys.2021.786599>
- Cho, E., Choi, S., Kang, D., Kalantar-Zadeh, K., & Ko, G. 2021. Revisiting Glomerular Hyperfiltration And Examining The Concept Of High Dietary Protein-Related Nephropathy In Athletes And Bodybuilders. *Current Opinion In Nephrology And Hypertension*, 31, 18–25. <https://doi.org/10.1097/Mnh.0000000000000755>
- Choi, T. Y., Choi, T. I., Lee, Y. R., Choe, S. K., & Kim, C. H. 2021. Zebrafish As An Animal Model For Biomedical Research. *Experimental And Molecular Medicine*, 53(3), 310–317. <https://doi.org/10.1038/S12276-021-00571-5>
- Dalal R, Bruss ZS, S. J. 2023. Physiology, Renal Blood Flow And Filtration. In *Treasure Island (FL): Statpearls Publishing; 2026 Jan-*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482248/?utm>
- Fowler, L. A., Powers, A. D., Id, M. B. W., Davis, J. L., Barry, J., Id, L. R. D. A., & Watts, S. A. 2021. The Effects Of Dietary Saturated Fat Source On Weight Gain And Adiposity Are Influenced By Both Sex And Total Dietary Lipid Intake In Zebrafish. 1–18. <https://doi.org/10.1371/Journal.Pone.0257914>
- Hakrout, S., Tampe, D., Korsten, P., Ströbel, P., & Tampe, B. 2021. Systematic Scoring Of Tubular Injury Patterns Reveals Interplay Between Distinct Tubular And Glomerular Lesions In ANCA-Associated Glomerulonephritis. *Journal Of Clinical Medicine*, 10(12). <https://doi.org/10.3390/Jcm10122682>
- Jin, Y., Kozan, D., Anderson, J. L., Hensley, M., Shen, M.-C., Wen, J., Moll, T., Kozan, H., Rawls, J. F., & Farber, S. A. 2023. A High-Cholesterol Zebrafish Diet Promotes Hypercholesterolemia And Fasting-Associated Liver Triglycerides Accumulation. *Biorxiv: The Preprint Server For Biology*. <https://doi.org/10.1101/2023.11.01.565134>
- Kim, Y.-J., Oh, S.-H., Lim, J.-H., Cho, J.-H., Jung, H.-Y., Kim, C.-D., Park, S., Kwon, T.-H., & Kim, Y.-L. 2023. Impact Of Ring Finger Protein 20 And Its Downstream Regulation On Renal Tubular Injury In A Unilateral Nephrectomy Mouse Model Fed A High-Fat Diet. *Nutrients*, 15. <https://doi.org/10.3390/Nu15234959>
- Kriz, W., Löwen, J., & Gröne, H.-J. 2023. The Complex Pathology Of Diabetic Nephropathy In Humans. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 38(10), 2109–2119. <https://doi.org/10.1093/Ndt/Gfad052>
- Liu, Q., Guo, S., Tong, Y., Qiu, L., Zhuang, B., Wang, J., Wang, Y., Gao, W., & Zou, X. 2025. Renal Lipotoxicity In Diabetic And Obesity - Associated Kidney Diseases: Molecular Mechanisms And Therapeutic Targeting. *Diabetes*, 28, 60–82. <https://doi.org/10.1111/Dom.70220>
- Locatelli, M., Macconi, D., Corna, D., Cerullo, D., Rottoli, D., Remuzzi, G., Benigni, A., & Zoja, C. 2022. Sirtuin 3 Deficiency Aggravates Kidney Disease In Response To High-Fat Diet Through Lipotoxicity-Induced Mitochondrial Damage. *International Journal Of Molecular Sciences*, 23(15). <https://doi.org/10.3390/Ijms23158345>
- Maharani, Pramana, I. B. P., & Oka, A. A. G. 2022. Studi Meta-Analisis Hipertensi Dan Diabetes Melitus Sebagai Faktor Risiko. *Jurnal Medika Udayana*, 11(9), 49–53.
- Martínez-Montoro, J. I., Morales, E., Cornejo-Pareja, I., Tinahones, F. J., & Fernández-García, J. C. 2022. Obesity-Related Glomerulopathy: Current Approaches And Future Perspectives. *Obesity Reviews: An Official Journal Of The International Association*

- For The Study Of Obesity*, 23(7), E13450. <https://doi.org/10.1111/Obr.13450>
- Piccolo, V. L., Quadros, V. A., Canzian, J., Grisolia, C. K., Goulart, J. T., Pantoja, C., De Bem, A. F., & Rosemberg, D. B. 2021. Short-Term High-Fat Diet Induces Cognitive Decline, Aggression, And Anxiety-Like Behavior In Adult Zebrafish. *Progress In Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 110, 110288. <https://doi.org/10.1016/J.Pnpbp.2021.110288>
- Qiao, F., Tan, F., Li, L.-Y., Lv, H.-B., Chen, L., Du, Z.-Y., & Zhang, M.-L. 2021. Alteration And The Function Of Intestinal Microbiota In High-Fat-Diet- Or Genetics-Induced Lipid Accumulation. *Frontiers In Microbiology*, Volume 12-2021. <https://doi.org/10.3389/Fmicb.2021.741616>
- Sánchez-Navarro, A., Martínez-Rojas, M. Á., Caldiño-Bohn, R. I., Pérez-Villalva, R., Zambrano, E., Castro-Rodríguez, D. C., & Bobadilla, N. A. 2021. Early Triggers Of Moderately High-Fat Diet-Induced Kidney Damage. *Physiological Reports*, 9(14), E14937. <https://doi.org/10.14814/Phy2.14937>
- Smolińska, K., Sobczyński, J., Szopa, A., Wnorowski, A., Tomaszewska, E., Muszyński, S., Winiarska-Mieczan, A., Czernecki, T., Bielak, A., Dobrowolska, K., Smoliński, K., Klebaniuk, R., & Dobrowolski, P. 2024. Innovative High Fat Diet Establishes A Novel Zebrafish Model For The Study Of Visceral Obesity. *Scientific Reports*, 14(1), 3012. <https://doi.org/10.1038/S41598-024-53695-9>
- Wang, H., Zhang, S., & Guo, J. 2021. Lipotoxic Proximal Tubular Injury: A Primary Event In Diabetic Kidney Disease. *Frontiers In Medicine*, Volume 8-2021. <https://doi.org/10.3389/Fmed.2021.751529>
- Wen, X., & Ma, H. 2025. Cytoplasmic Vacuolization: A Fascinating Morphological Alteration From Cellular Stress To Cell Death. *Cancer Science*, 116(5), 1181–1192. <https://doi.org/10.1111/Cas.70013>
- Yoshimura, A., Yamaguchi, T., Kugita, M., Kumamoto, K., Shiogama, K., Ogitsu, N., Yoneda, M., Miura, T., Nagamura, Y., & Nagao, S. 2021. High Levels Of Dietary Lard Or Sucrose May Aggravate Lysosomal Renal Injury In Non-Obese, Streptozotocin-Injected CD-1 Mice Provided Isocaloric Diets. *Journal Of Nutritional Science And Vitaminology*, 67 4, 243–248. <https://doi.org/10.3177/Jnsv.67.243>
- Zeitler, E. M., Jennette, J. C., Flythe, J. E., Falk, R. J., & Poulton, J. S. 2022. High-Calorie Diet Results In Reversible Obesity-Related Glomerulopathy In Adult Zebrafish Regardless Of Dietary Fat. *American Journal Of Physiology-Renal Physiology*, 322(5), F527–F539.
- Zhou, Z., Zhang, P., Tan, P., Chen, R., Hu, W., Wang, L., Zhang, Y., & Xu, D. 2025. Artemia Nauplii Enriched With Soybean Lecithin Enhances Growth Performance, Intestine Morphology, And Desiccation Stress Resistance In Yellow Drum (*Nibea Albiflora*) Larvae. *Metabolites*, 15(1). <https://doi.org/10.3390/Metabo15010063>