

## Aplikasi Metode Biologi Molekuler pada Model Embrio Ikan Zebra (*Danio rerio*) dalam Pengembangan Obat Kardiovaskular

Fibe Yulinda Cesa<sup>1\*</sup>, Martanty Aditya<sup>2</sup>, Devilke Yandriyani<sup>3</sup>, Reflinda Sindy Puspita<sup>4</sup>, Rizal Bing Garumal Indianta<sup>5</sup>

<sup>1,2,3,4,5</sup>Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Ma Chung, Malang, Indonesia  
E-mail: [fibe.yulinda@machung.ac.id](mailto:fibe.yulinda@machung.ac.id)<sup>1\*</sup>

Article Info	Abstract
<b>Article History</b> Received: 2026-03-04 Revised: 2026-06-08 Published: 2026-06-30	<i>Cardiovascular diseases, such as stroke and ischemic heart disease, remain the leading cause of global mortality and carry high therapeutic cost burdens. This condition drives the development of more efficient and affordable novel drugs utilizing animal models. Zebrafish (<i>Danio rerio</i>) embryos are currently widely used as experimental models due to their 84% genetic similarity to human disease genes, optical transparency, and cost-efficiency. This review aims to evaluate the application of molecular biology methods in this model within cardiovascular research. A systematic search was conducted across MDPI, PubMed, Science Direct, and Springer Link databases (2015–2025) using the PRISMA diagram. Out of 5,680 identified articles, 14 relevant journals were selected as the final sample and subsequently analysed using the JBI Critical Appraisal Tools. The review results indicate that molecular techniques, ranging from conventional methods like immunostaining, PCR, and western blotting to advanced technologies such as CRISPR/Cas9 and transgenic systems, are capable of accurately and rapidly evaluating cardiovascular parameters, including tissue remodelling, angiogenesis, and cardiomyocyte apoptosis pathways. Despite requiring specialized skills due to their micro-scale sample handling, zebrafish embryos represent a promising alternative for accelerating future cardiovascular drug discovery.</i>
<b>Keywords:</b> cardiovascular; drug discovery; embryo; molecular biology; zebrafish	
<b>Artikel Info</b>	<b>Abstrak</b>
<b>Sejarah Artikel</b> Diterima: 2026-03-04 Direvisi: 2026-06-08 Dipublikasi: 2026-06-30	Penyakit kardiovaskular, seperti stroke dan jantung iskemik, tetap menjadi penyebab utama mortalitas global dengan beban biaya terapi yang tinggi. Kondisi ini mendorong pengembangan obat baru yang lebih efisien dan terjangkau menggunakan hewan uji. Embrio ikan zebra ( <i>Danio rerio</i> ) saat ini banyak dimanfaatkan sebagai model uji karena memiliki kemiripan genetik hingga 84% dengan gen penyakit manusia, tubuh yang transparan, serta efisiensi biaya. <i>Review</i> ini bertujuan mengulas aplikasi metode biologi molekuler pada model tersebut dalam riset kardiovaskular. Penelusuran sistematis dilakukan pada database MDPI, PubMed, Science Direct, dan Springer Link (2015–2025) menggunakan diagram PRISMA. Dari 5.680 artikel yang teridentifikasi, diperoleh 14 jurnal relevan sebagai sampel akhir yang kemudian dianalisis menggunakan JBI Critical Appraisal Tools. Hasil tinjauan menunjukkan bahwa teknik molekuler konvensional seperti immunostaining, PCR, dan western blotting, hingga teknologi mutakhir seperti CRISPR/Cas9 dan sistem transgenik, mampu mengevaluasi parameter kardiovaskular seperti remodeling jaringan, angiogenesis, dan jalur apoptosis kardiomyosit secara akurat dan cepat. Meskipun membutuhkan keterampilan khusus dalam penanganan sampel skala mikro, embrio ikan zebra merupakan alternatif menjanjikan untuk percepatan penemuan obat kardiovaskular baru di masa depan.
<b>Kata kunci:</b> biologi molekuler; embrio; ikan zebra; kardiovaskuler; pengembangan obat	

### PENDAHULUAN

Penyakit kardiovaskular merupakan masalah kesehatan masyarakat yang menyebabkan tingginya angka morbiditas dan mortalitas hingga saat ini. Menurut data, kasus kematian akibat penyakit

kardiovaskular hingga tahun 2021 mencapai 6,9 juta jiwa (Martin et al., 2025; Perhimpunan Dokter Spesialis Kardiovaskular Indonesia (PERKI), 2021). Kematian tersebut diakibatkan diantaranya karena stroke, jantung iskemik, hipertensi,

atrial fibrilasi, kardiomiopati dan miokarditis. Jika dibandingkan dengan tahun-tahun sebelumnya, kejadian penyakit ini semakin meningkat dari tahun ke tahun. Di Indonesia, kasus ini juga masih menjadi perhatian karena tingginya prevalensi kejadian dan kematian akibat penyakit kardiovaskuler. Faktor penyebab dari tingginya kasus ini antara lain karena adanya gaya hidup sedentary yaitu kurangnya aktifitas fisik yang merupakan faktor risiko utama (B, 2025). Dalam beberapa penelitian menyebutkan bahwa pola makan (terlalu banyak makan makanan yang tinggi lemak tersaturasi, lemak trans dan kolesterol), merokok, hingga adanya faktor genetik juga merupakan faktor-faktor risiko penyebab terjadinya penyakit kardiovaskuler.

Hingga saat ini, terapi untuk penyakit kardiovaskuler terus dikembangkan karena tingginya biaya pengobatan (Hong, 2022). Tingginya biaya manajemen klinis jangka panjang dan keharusan mengonsumsi obat seumur hidup menjadi faktor utama menurunnya kepatuhan pasien yang pada akhirnya memicu kegagalan terapi. Kepatuhan minum obat menjadi kunci dari keberhasilan terapi dalam penanganan penyakit kardiovaskular. Oleh karena itu, arah penelitian farmasi saat ini bergeser secara pada penemuan kandidat obat baru yang tidak hanya efektif dan efisien, tetapi juga memiliki nilai ekonomis yang tinggi jika dilihat dari sisi farmakoeкономи. Namun, tahapan awal *screening* senyawa aktif tidak dapat langsung diujikan pada manusia karena risiko etis dan keselamatan yang tinggi. Di sisi lain, penggunaan model

hewan uji konvensional seperti mamalia (tikus atau mencit) memerlukan biaya yang besar, waktu yang lama, serta regulasi kesejahteraan hewan yang ketat, sehingga membatasi kapasitas *screening* skala besar.

Ikan zebra (*Danio rerio*) merupakan salah satu model hewan uji yang menjadi perhatian saat ini karena kemampuannya dalam memberikan gambaran yang 70% mirip dengan gen yang ada di manusia (Lachowicz et al., 2021). Banyak model penyakit yang dapat diterapkan melalui ikan zebra diantaranya diabetes melitus, penyakit neurodegeneratif, hingga penyakit kardiovaskuler (Horzmann & Freeman, 2018; Lachowicz et al., 2021; Maximino & Herculano, 2010; Oliveira, 2013). Hewan uji ini banyak memberikan keuntungan baik itu dari segi biaya dan waktu. Penelitian lain menyebutkan bahwa metode yang menggunakan model ikan zebra merupakan metode yang cepat dan akurat serta mampu menggambarkan beberapa protein yang menjadi biomarker dalam penyakit kardiovaskuler. Ikan zebra dapat dimanfaatkan mulai dari berbagai tahapan kehidupannya yakni mulai dari embrio hingga dewasa.

Dalam pendekatan biologi molekuler di bidang farmasi, penting untuk mengetahui metode-metode yang dapat digunakan untuk menentukan biomarker dan metode yang tepat dalam penelitian. Tinjauan literatur ini bertujuan untuk mengevaluasi secara komprehensif berbagai metode analisis fungsional dan penanda molekuler (biomarker) yang diaplikasikan pada embrio ikan zebra untuk penemuan dan pengembangan obat

kardiovaskular. Melalui ulasan ini, diharapkan diperoleh panduan metodologis yang aplikatif bagi para peneliti dalam memilih metode penapisan senyawa aktif yang cepat, akurat, dan *cost-effective*.

## METODE

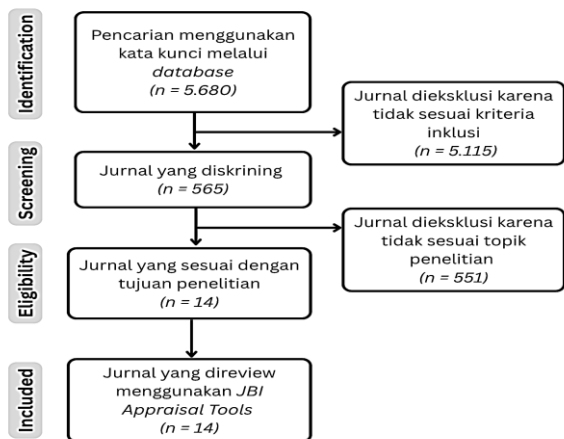
Database yang digunakan sebagai pencarian artikel dalam penelitian ini adalah menggunakan MDPI, PubMed, Science Direct, dan Springer Link. Kata kunci yang digunakan antara lain: (1) "*cardiovascular disease, embryo, zebrafish*"; (2) "*zebrafish embryonic kardiovaskular disease*", dan (3) "*embryo, zebrafish, cardiovascular model*". Kriteria inklusi dari penelitian ini antara lain artikel yang dipilih merupakan jenis *research article* yang tersedia dalam Bahasa Inggris dan Bahasa Indonesia; merupakan penelitian kuantitatif; jurnal tidak berbayar dan mudah diakses; serta dalam rentang 10 tahun terakhir (2015-2025). Tahapan pemilihan artikel dibagi menjadi empat tahap utama dengan metode PRISMA yaitu *identification, screening, eligibility, included*. Dari tahap *identification* didapatkan ada total 5.680 artikel. Tahap selanjutnya adalah tahap *screening* dimana peneliti mulai melakukan filter pada beberapa artikel yang tidak relevan dalam bidang biologi molekuler, toksikologi, dan kesehatan dan didapatkan sebanyak 565 artikel. *Eligibility* merupakan tahapan dimana peneliti mulai melakukan pengamatan pada setiap abstrak dan topik penelitian yang relevan dengan tujuan penelitian. Dari seluruh artikel tersebut terdapat total 14 jurnal yang dilanjutkan ke tahap pembahasan dengan melakukan

*critical appraisal* menggunakan *tools* dari *Joanna Briggs Institute (JBI)* (Barker et al., 2024) sehingga 14 jurnal tersebut masuk seluruhnya ke dalam inklusi penelitian dan pembahasan lebih lanjut. Instrumen ini bertindak sebagai alat uji reliabilitas untuk menilai kualitas metodologi, risiko bias, serta validitas internal dari setiap artikel sebelum layak dimasukkan ke dalam bab pembahasan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Pencarian artikel dilakukan dengan menggunakan *database* diantaranya MDPI, PubMed, Science Direct, dan Springer Link. Alur penelusuran dimulai dari tahap *identification, screening, eligibility*, hingga *included* (Gambar 1). Dari beberapa penelusuran, artikel ilmiah yang muncul dengan kata kunci memiliki jumlah sebanyak 5.680 artikel. Dari berbagai artikel ini, peneliti melakukan pemilahan berdasarkan kata kunci yang sesuai dan juga menggunakan *filter* yang ada pada setiap *database* untuk memaksimalkan penyaringan agar sesuai dengan kata kunci. Dari seluruh artikel tersebut, ada 565 artikel yang diskroning dan hanya didapatkan 14 artikel saja dikarenakan beberapa artikel merupakan artikel yang tidak ditulis dalam Bahasa Inggris maupun Bahasa Indonesia. Adapun beberapa artikel tidak membahas terkait bidang farmakologi, toksikologi, serta biologi molekuler. Hanya 14 artikel yang sesuai dengan tujuan penelitian dan setelah dilakukan telaah kritis menggunakan *JBI Critical Appraisal Tools* (Tabel 1), seluruhnya memiliki skor tinggi dan dilanjutkan dalam pembahasan pada penelitian ini. Penggolongan dilihat

dari skor akhir dimana jika masuk dalam kategori “No”, “Not Applicable”, dan “NuN” maka akan mendapatkan nilai 0 sedangkan “Yes” akan mendapatkan nilai 1.



**Gambar 1.** Penelusuran Artikel Ilmiah

**Tabel 1.** Hasil Penilaian Artikel menggunakan *JBI Critical Appraisal Tools*

No	Referensi	Total (%)	Peringkat Kualitas
1	(Nöth et al., 2025)	100	Tinggi
2	(Heuer et al., 2024)	100	Tinggi
3	(Huttunen et al., 2022)	100	Tinggi
4	(Du et al., 2024)	100	Tinggi
5	(Maciag, Wnorowski, Mierzejewska, & Plazinska, 2022)	100	Tinggi
6	(Qin et al., 2021)	90	Tinggi
7	(Lu, Lu, Gao, Wang, & Wang, 2021)	90	Tinggi
8	(Serbanovic-Canic et al., 2017a)	80	Tinggi
9	(Catherine W McCollum et al., 2017)	90	Tinggi
10	(Gierten et al., 2020)	100	Tinggi
11	(Liang et al., 2016)	100	Tinggi
12	(Tang et al., 2022)	100	Tinggi

13	(Huttunen et al., 2022)	100	Tinggi
	(Machikhin, Volkov,	100	Tinggi
14	Burlakov, Khokhlov, & Potemkin, 2020)		

Dari seluruh studi yang dilakukan penilaian menggunakan *JBI Critical Appraisal Tools*, seluruhnya menunjukkan peringkat kualitas yang tinggi dengan rentang skor 80% hingga 100%. Artikel seluruhnya merupakan golongan *original research* dan seluruh naskahnya dapat diakses (*free access*).

### Aplikasi Embrio Ikan Zebra pada Penyakit Kardiovaskuler

Dari beberapa artikel tersebut, didapatkan beberapa aplikasi embrio ikan zebra yang berkaitan dengan pengaplikasian dan juga metode yang digunakan seperti pada model penyakit jantung, angiogenesis, arteriosklerosis, gangguan vaskuler, kardiotoxikitas, dan penyakit kardiovaskular lainnya.

#### Model Penyakit Jantung

Pada pengaplikasian embrio dalam ikan zebra untuk model penyakit jantung dalam studi sebelumnya penggunaan analisis transkriptom dapat menjadi metode yang efektif untuk mengidentifikasi efek toksik dan mekanisme molekuler yang memengaruhi perkembangan sistem vaskular dan jantung secara spesifik (Nöth et al., 2025)(Heuer et al., 2024). Ikan zebra dipilih karena kemampuannya yang transparan, sehingga proses pembentukan dan fungsi jantung dapat diamati langsung dan secara *real time* (Du et al., 2024).

Pengaplikasian embrio ikan zebra pada penyakit jantung ini cepat, efisien, dan

relevan untuk menilai efek toksisitas dan mekanisme patologis terkait penyakit jantung (Maciag et al., 2022). Embrio ikan zebra digunakan untuk menguji efek obat-obatan seperti doxorubicin, adrenaline, dan terfenadine yang dapat menyebabkan kerusakan jantung, serta untuk mengevaluasi efektivitas agen-agen cardioprotektif seperti dexrazoxane, metoprolol, carvedilol, dan valsartan.

Melalui pendekatan ini, peneliti bisa dapat memantau perubahan morfologi dan fungsi jantung secara *real-time* seperti, denyut jantung, kerusakan struktural, serta menilai mekanisme molekuler seperti stres oksidatif dan apoptosis. Pada penelitian lainnya, dilakukan identifikasi kerusakan dan gangguan jantung secara langsung, sehingga berfungsi sebagai alat penting dalam penelitian penyakit jantung dan pengujian potensi terapi (Qin et al., 2021)(Lu et al., 2021). Model ini efektif untuk meneliti mekanisme patofisiologi, menilai efek langsung dari toksin seperti doxorubicin, serta menguji calon terapi seperti Caliacosin (CA) untuk melindungi jantung dari kerusakan akut.

Meskipun model embrio ikan zebra sangat unggul untuk penapisan awal (*high-throughput screening*) karena transparan, cepat, dan ekonomis, terdapat beberapa poin kritis yang perlu diperhatikan dalam interpretasi hasilnya. Secara anatomis, jantung ikan zebra hanya memiliki dua ruang (satu atrium dan satu ventrikel), berbeda dengan jantung manusia yang memiliki empat ruang, sehingga dinamika hemodinamika dan manifestasi penyakit

kompleks seperti gagal jantung kongestif tidak dapat ditiru secara sempurna

### **Model Angiogenesis**

Model embrio ikan zebra telah terbukti sebagai sistem yang efektif untuk mempelajari gangguan angiogenesis dan mengevaluasi efek obat yang menargetkan sistem vaskular. Dalam studi sebelumnya membuktikan bahwa waktu paparan dan konsentrasi sangat memengaruhi respons transkriptomik, dan bahwa paparan dimulai pada 24 hpf memberikan gambaran paling spesifik terhadap gangguan angiogenesis (Nöth et al., 2025). Pada penelitian lainnya, embrio ikan zebra digunakan untuk mengamati efek dari berbagai inhibitor SGLT2 pada pembentukan pembuluh darah, terutama arteri kecil yang disebut intersegmental vessels (ISVs). Teknik *in vivo* yang digunakan memungkinkan pengamatan langsung terhadap perkembangan vaskular (Huttunen et al., 2022)(Catherine W McCollum et al., 2017). Penggunaan embrio pada ikan zebra ini memungkinkan penelitian mekanisme penyakit secara *in vivo* serta pengujian kandidat obat untuk terapi angiogenesis abnormal, termasuk tumor dan malformasi vaskular. Ukuran tubuhnya yang tergolong sangat kecil (skala milimeter) menyulitkan proses pembedahan (*dissection*) organ dan manipulasi fisik konvensional jika dibandingkan dengan hewan uji mamalia seperti tikus atau mencit. Keterbatasan ruang anatomis ini meningkatkan risiko kerusakan mekanis pada jaringan vaskular yang halus selama prosedur mikromanipulasi, sehingga menuntut keahlian motorik peneliti

## Model Aterosklerosis

Dalam model aterosklerosis, model embrio ikan zebra digunakan sebagai model dengan meniru dari penyakit tersebut, seperti akumulasi lipid di pembuluh darah, peradangan, dan hiperkolesterolemia. Peneliti memberi makan zebrafish dengan diet tinggi kolesterol, yang menyebabkan peningkatan kadar kolesterol dalam darah, oksidasi lipoprotein, serta penumpukan lipid di dalam pembuluh darah, mirip dengan tahap awal aterosklerosis pada manusia (Bowley et al., 2022). Selain itu, model genetik seperti mutan APOC2 dan LDLR juga dibuat menggunakan teknologi editing gen seperti TALEN dan CRISPR/Cas9 untuk meneliti tentang peran metabolisme lipid dalam perkembangan penyakit. Hasil dari model ini termasuk peningkatan penanda peradangan (misalnya TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ), akumulasi lipid di pembuluh, dan infiltrasi makrofag, yang menyerupai pembentukan lesi awal pada atherosclerosis.

Apoptosis endotel juga dapat dilakukan dengan model embrio ikan zebra dan digunakan sebagai model *in vivo* untuk mempelajari pengaruh gaya *shear* darah terhadap apoptosis endotel yang merupakan proses utama dalam aterosklerosis (Serbanovic-Canic et al., 2017b). Hal ini memperkuat penggunaan ikan zebra sebagai model untuk studi mekanisme molekuler dalam regulasi apoptosis terkait vaskular dan potensi pengembangan terapi anti-aterosklerosis.

Kecilnya volume tubuh embrio juga membatasi jumlah sampel darah (plasma) yang dapat dipanen untuk analisis profil

lipid (seperti kadar kolesterol total, HDL, LDL) secara konvensional, sehingga peneliti terpaksa mengandalkan teknik pewarnaan ekstensif seperti Oil Red O atau pencitraan fluoresensi *in vivo* yang rentan terhadap bias intensitas cahaya dan variabilitas interpretasi.

## Model Gangguan Vaskular

Dalam penelitian (Wei et al., 2024), embrio ikan zebra digunakan untuk mengevaluasi gangguan vaskuler akibat paparan akut fluoride. Pada penelitian memanfaatkan strain transgenik zebrafish Tg(fli1a:EGFP) yang mengekspresikan protein fluoresen hijau pada sel endotel pembuluh darah, serta Tg(gata1a:dsRed) yang mengekspresikan fluoresen merah pada sel darah merah, sehingga memungkinkan visualisasi pembuluh darah dan aliran darah secara langsung. Setelah dipaparkan pada berbagai konsentrasi sodium fluoride sejak tahap awal perkembangan, embrio menunjukkan gangguan vaskuler yang signifikan. Hasil menunjukkan bahwa paparan fluoride menyebabkan malformasi pembuluh darah, khususnya pada intersegmental vessels (ISV) dan subintestinal vessels (SIV), yang ditandai dengan struktur yang tidak lengkap dan diameter yang membesar.

Selanjutnya, penelitian (Tang et al., 2022) menjelaskan bahwa model embrio ikan zebra digunakan untuk mengamati secara langsung dampak toksin pada perkembangan sistem vaskuler, termasuk pengaruh indoxyl sulfate (IS) terhadap fungsi dan morfogenesis jantung dan ginjal. Selain itu, karena dimensi fisik sistem vaskularnya yang teramat kecil, evaluasi

fungsi yang mendalam seperti pengukuran tekanan darah (blood pressure) secara langsung (intravascular) atau dinamika resistensi vaskular perifer tidak mungkin dilakukan secara mekanis layaknya pada hewan uji mamalia.

### **Model Kardiotoksisitas**

Embrio ikan zebra berfungsi sebagai model yang efisien untuk menilai kardiotoksisitas yang disebabkan oleh stres termal. Penelitian telah menunjukkan bahwa pada suhu  $>38^{\circ}\text{C}$ , embrio (4 hari pasca-fertilisasi) menunjukkan penurunan denyut jantung yang signifikan yang mengindikasikan gagal jantung akut yang disebabkan oleh panas. Model ini memanfaatkan transparansi embrio dan kemudahan pencitraan *in vivo* untuk mengukur parameter fisiologis utama seperti denyut jantung dan pemendekan ventrikel fraksional (FRS). Senyawa yang tidak menyebabkan kardiotoksisitas pada suhu normal ( $28,5^{\circ}\text{C}$ ) seperti lapatinib, paclitaxel, dan fenantrena yang menyebabkan penurunan denyut jantung yang nyata di bawah tekanan panas ( $38^{\circ}\text{C}$ ). Mekanisme utamanya melibatkan gangguan adaptasi jantung terhadap peningkatan beban metabolik yang disebabkan oleh panas, sedangkan senyawa kardiotoksik menghambat gangguan fisiologis seperti takikardia (Haapanen-Saaristo et al., 2024). Pada penelitian (Gierten et al., 2020) juga menyebutkan bahwa embrio ikan zebrafish sebagai model kardiotoksisitas. Melalui pengembangan metode otomatis dan high-throughput untuk mengukur denyut jantung secara akurat dalam kondisi fisiologis, penelitian ini memudahkan studi

efek obat dan zat kimia yang berpotensi menimbulkan gangguan fungsi kardiovaskular. Sedangkan penelitian (Liang et al., 2016) dalam studinya membahas potensi kardiotoksisitas (toksisitas jantung) sodium aescinate (SA) menggunakan model larva zebrafish. Kecilnya ukuran ini juga membatasi peluang dilakukannya pencatatan elektrofisiologi jantung secara langsung sehingga evaluasi gangguan hantaran listrik jantung sebagian besar masih bersifat tidak langsung melalui analisis video digital.

### **Model Penyakit Kardiovaskular Lainnya**

Pada penelitian (Dhoble & Patravale, 2019), digunakan model regenerasi ekor ikan zebra untuk menilai aktivitas antiangiogenik dari formulasi erlotinib liposomal. Metode ini melibatkan pemberian hypoxia (kekurangan oksigen) pada ikan zebra yang meniru kondisi patologis PAH, lalu mengamati efek obat terhadap regenerasi ekor ikan zebra tersebut, proses yang bergantung pada angiogenesis (pembentukan pembuluh darah). Penelitian ini menunjukkan bahwa formulasi liposomal erlotinib mampu menghambat proses angiogenesis yang dipicu oleh kondisi hipoksia pada model zebrafish, yang terbukti dari terhambatnya regenerasi ekor ikan zebra.

Sedangkan pada penelitian (Chelladurai et al., 2020), embrio ikan zebra diperlakukan dengan berbagai konsentrasi inhibitor HDAC (seperti TSA, SAHA, VPA, PCI34051, Romidepsin, CAY10398) pada umur 19 jam post fertilization (hpf). Pengamatan visual terhadap perkembangan vaskular dilakukan pada berbagai waktu (6,

12, 24, 48, dan 72 jam setelah perlakuan). Selain itu, karena ukuran sirip ekor larva dan diameter pembuluh darah embrio masuk dalam skala mikron, penilaian visual terhadap pola percabangan vaskular setelah intervensi akan berdampak pada proses kuantifikasi luas area vaskula.

### **Teknik Pengamatan Embrio Ikan Zebra pada Penelitian yang Melakukan Kajian Penyakit Kardiovaskuler**

Dalam upaya untuk menentukan biomarker yang terlibat dalam penyakit kardiovaskular, embrio ikan zebra dapat dilakukan dengan beberapa metode diantaranya dengan teknik immunostaining, *polymerase chain reaction* (PCR), western blotting, pengamatan secara mikroskopis, TUNEL staining, serta pengamatan melalui jalur *reactive oxygen species* (ROS) dan apoptosis.

### **Teknik Immunostaining**

Teknik immunostaining merupakan metode penting dalam penelitian biologi sel, terutama untuk mengamati struktur dan ekspresi protein dalam jaringan. Pada embrio ikan zebra, teknik ini memungkinkan pengamatan yang baik terhadap struktur seluler dengan menggunakan antibodi spesifik. Dalam penelitian (Oralová et al., 2019) menunjukkan bahwa penggunaan antibodi seperti anti-laminin dan anti-BrdU yang dikombinasikan dengan embedding dalam resin GMA, mampu menjaga sinyal fluoresen tetap stabil dan menghasilkan gambar resolusi tinggi dari jaringan internal seperti membran dasar dan sel yang sedang membelah. Sementara itu, (Ferguson & Shive, 2019) telah mengembangkan metode imunofluoresensi (IF) dan imunohistokimia

(IHC) secara berurutan pada irisan tipis (*cryosection*) embrio ikan zebra untuk mendeteksi dan memetakan ekspresi protein secara akurat pada tingkat sel tunggal.

Dalam penelitian (Du et al., 2024), teknik immunostaining diterapkan untuk melihat efek toksik kombinasi obat lapatinib (LAP) dan doxorubicin (DOX) pada jantung embrio ikan zebra. Hasil pengamatan menunjukkan adanya kerusakan struktur otot jantung (sarkomer) dan penurunan jumlah kardiomyosit secara signifikan, meskipun ukuran sel tetap sama. Teknik ini terbukti efektif dalam mengidentifikasi perubahan morfologi seluler akibat kardiotoxikitas, dan mendukung penggunaan embrio ikan zebra sebagai model *in vivo* yang relevan dalam studi toksikologi jantung, meskipun prosesnya cukup rumit, membutuhkan biaya tinggi dan memerlukan waktu yang lama.

### **Polymerase Chain Reaction (PCR)**

Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR), termasuk qPCR atau qRT-PCR biasanya dipilih karena kemampuannya yang baik untuk mendeteksi dan mengukur jumlah materi genetik (DNA/RNA) secara sangat spesifik dan sensitif, bahkan dari sampel yang sangat kecil. Dalam penelitian (Lu et al., 2021), *Real-Time Quantitative Reverse Transcription PCR* (qRT-PCR) digunakan untuk mengukur ekspresi gen terkait fungsi jantung (*nppa*, *nppb*) dan *autophagy* (*atg7*) pada ikan zebra dewasa. Metode ini dipilih karena sensitivitasnya yang tinggi dalam mendeteksi perubahan ekspresi gen meskipun dari sampel RNA

berjumlah terbatas (100–500 ng). Sementara itu, Canic et al. (2017) menggunakan qRT-PCR untuk memvalidasi gen mekanosensitif (CDH13, PERP, ANGPTL4, PDCD2L) yang terlibat dalam proses apoptosis endotel, sehingga metode ini dapat memperkuat relevansi model ikan zebra untuk studi penyakit vaskular manusia. Pada penelitian (Qin et al., 2021),

### **Western Blotting**

Western blotting adalah metode populer dan sering digunakan dalam biologi molekuler dan proteomik untuk mendeteksi perubahan protein pasca-translasi serta struktur protein. Teknik ini dapat memberikan data kuantitatif atau semi-kuantitatif mengenai struktur protein dalam satu atau banyak sampel biologis (Kurien & Scofield, 2015). Western blotting memiliki prosedur bertahap yang dimulai dari pengumpulan dan pengukuran konsentrasi protein dari jaringan atau sel yang telah dilisiskan (Bass et al., 2017). Protein kemudian dipisahkan berdasarkan ukuran menggunakan gel poliakrilamida dengan teknik elektroforesis SDS (Sodium Dodecyl Sulphate), lalu dipindahkan ke membran nitroselulosa atau PVDF (Polyvinylidene Fluoride) untuk proses deteksi. Selanjutnya, protein target dikenali menggunakan antibodi spesifik, kemudian ditandai dengan antibodi sekunder berlabel fluoresen atau kemiluminesen, dan intensitas pita protein dianalisis secara digital menggunakan perangkat lunak densitometri.

Menurut (Singh, Gupta, Bharti, & Sharma, 2021), perkembangan terbaru dalam teknik Western blotting telah

meningkatkan efisiensi dan ketepatan analisis protein secara signifikan. Dalam penelitian (Li et al., 2021), western blotting digunakan untuk mengkonfirmasi bahwa penekanan FARS2 (mitochondrial phenylalanyl-tRNA synthetase) oleh siRNA secara efektif mengurangi kadar protein FARS2 baik pada embrio ikan zebra maupun sel HUVECs.

Keuntungan utama dari Western blotting dalam beberapa penelitian adalah kemampuannya untuk memvalidasi keberhasilan knockout gen pada tingkat protein (Li et al., 2021; Wang et al., 2022). Dalam penelitian (Wang et al., 2022), Western blotting digunakan untuk memastikan bahwa knockout gen FBN1 berhasil dilakukan pada organoid dan sel kanker ovarium yang resisten terhadap cisplatin (FBN1-KO1 dan FBN1-KO2). Teknik ini menjadi penting karena memberikan bukti langsung dari ekspresi protein, yang mendukung data molekuler lain seperti qRT-PCR atau RNA-sekuensing.

### **Pengamatan Mikroskopis**

Sebagian besar penelitian pada ikan zebra dilakukan dengan menggunakan teknik pencitraan fluoresen, seperti mikroskop fluoresen *confocal*, mikroskop multiphoton, atau mikroskop *light-sheet* (Jahr, Schmid, Schmied, Fahrbach, & Huisken, 2015). Metode ini biasanya mengandalkan deteksi label fluoresen buatan, seperti protein transgenik atau antibodi, bukan dari sifat alami embrio itu sendiri. Dalam penelitian (Torraca & Mostowy, 2018), metode yang digunakan adalah *high-resolution fluorescent microscopy*. Namun, keterbatasan utama

dari pencitraan fluoresen adalah ketidakmampuannya untuk menampilkan berbagai fitur biomolekul yang kompleks secara bersamaan (Torraca & Mostowy, 2018).

Metode mikroskopi *Second Harmonic Generation* (SHG) yang dilakukan pada penelitian (LeBert, Squirrell, Huttenlocher, & Eliceiri, 2016) menunjukkan bahwa SHG mampu memvisualisasikan perubahan organisasi serat kolagen pada sirip ekor larva ikan zebra selama perkembangan normal dan setelah cedera (amputasi sirip). Kelebihan utama dari metode SHG adalah karena bersifat alami, jadi tidak perlu menambahkan pewarna buatan, sehingga hasil pengamatan lebih mencerminkan kondisi asli tubuh dan bukan hasil rekayasa. Sementara itu, (Maradonna et al., 2022) menggunakan mikroskop confocal untuk mengamati secara langsung perubahan makroskopis pada tumor dan vaskularisasi karena transparansi embrio ikan zebra.

### **TUNEL Staining**

Tunel staining (*Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP Nick-End Labeling*) adalah metode yang digunakan untuk mendeteksi apoptosis atau kematian sel terprogram, dengan cara menandai fragmen DNA yang terputus dalam inti sel. Teknik ini juga dapat diterapkan pada pengamatan yang menggunakan embrio ikan zebra (Du et al., 2024). Metode TUNEL staining dalam penelitian (Kaveh et al., 2020) digunakan untuk memvalidasi kerusakan miokard yang diinduksi laser, hal ini menunjukkan bahwa area jantung yang terluka dan kehilangan sinyal GFP pada jalur reporter kardiomyosit Tg(myl7:GFP)

memang mengalami nekrosis dan apoptosis. Selain itu, peningkatan ekspresi NFκB di sel jantung yang dekat dengan area luka pada 24 jam setelah cedera juga menyerupai pola Tunel staining, sehingga menguatkan bukti bahwa sel-sel tersebut mengalami kematian secara terprogram.

Penelitian oleh (Smirnova et al., 2021) menggunakan metode Tunel staining untuk mengidentifikasi lokasi sel yang mati secara spesifik di bagian ekor embrio ikan zebra, disertai dengan pewarnaan acridine orange dan pengukuran aktivitas caspase-3. Dalam prosedur Tunel staining, pada usia 54 jam pasca-fertilisasi, embrio dieutanasia menggunakan tricaine dan difiksasi semalaman dengan formaldehida. Sementara itu, metode Tunel staining dalam penelitian (Yu Chen et al., 2020) digunakan untuk mendeteksi dampak toksik nanopartikel  $\text{Nd}_2\text{O}_3$  terhadap perkembangan embrio ikan zebra, khususnya terkait kematian sel (apoptosis) dan kelainan organ.

### **Melalui Jalur Reactive Oxygen Species (ROS) dan Apoptosis**

Pengamatan embrio ikan zebra melalui jalur *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan apoptosis memberikan wawasan penting mengenai mekanisme kerusakan sel akibat stres oksidatif. Peningkatan kadar ROS, yang dapat diukur menggunakan probe fluoresens seperti DHE (dihydroethidium), sering dikaitkan dengan gangguan perkembangan dan kematian sel terprogram (apoptosis) pada embrio. Misalnya, penelitian oleh (Tang et al., 2022) menunjukkan bahwa paparan senyawa indoxyl sulfate (IS) meningkatkan produksi ROS alami di dalam tubuh embrio ikan

zebra, yang berkaitan dengan gangguan dalam perkembangan embrio. Akibatnya, embrio mengalami pembengkakan jantung, kelainan bentuk tubuh, gangguan pada fungsi ginjal, dan perubahan detak jantung.

Dalam penelitian oleh (Zhu et al., 2021) menemukan bahwa difenoconazole (DIF), yaitu fungisida yang umum digunakan, dapat menyebabkan kerusakan pada sistem jantung dan pembuluh darah pada tahap awal perkembangan ikan zebra. Paparan DIF memicu stres oksidatif dengan meningkatkan penumpukan ROS dan mengganggu kerja enzim antioksidan yang seharusnya melindungi sel. Akibatnya, jantung embrio mengalami kerusakan karena kematian sel dan lemahnya kontraksi otot jantung. Temuan ini menegaskan bahwa stres oksidatif merupakan faktor utama dalam toksisitas jantung akibat DIF. Sementara itu penelitian terbaru dari (Wu, Zhao, Feng, Yang, & Jiang, 2025) yang meneliti terkait efek fluconazole dan menemukan bahwa zat ini juga meningkatkan kadar ROS dan memicu apoptosis pada sel jantung ikan zebra.

## KESIMPULAN

Embrio ikan zebra merupakan model hewan uji yang sangat efektif, transparan, replikabel, dan ekonomis untuk skrining cepat penyakit kardiovaskular. Hasil menunjukkan bahwa embrio ikan zebra berhasil diaplikasikan sebagai model berbagai penyakit kardiovaskular seperti gagal jantung, angiogenesis, aterosklerosis, gangguan vaskular, dan kardiotoxikitas. Efek pengobatan maupun mekanisme kerusakan sel tersebut berhasil divalidasi di tingkat gen dan protein melalui kombinasi

teknik biologi molekuler, seperti qRT-PCR untuk mendeteksi perubahan ekspresi gen penanda jantung, western blotting untuk konfirmasi kadar protein, serta immunostaining dan TUNEL staining untuk melihat detail kerusakan sarkomer dan kematian sel (apoptosis) akibat stres oksidatif jalur ROS. Meskipun sangat efektif, cepat, dan hemat biaya dibandingkan mamalia, ukuran embrio yang masuk skala mikro tetap perlu dipertimbangkan. Sebagai saran, penting untuk adanya pengembangan metode otomatis berbasis komputer dan mikroskopi di penelitian selanjutnya untuk meminimalkan *human error*.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi (Kemendikbudristek) atas pemberian hibah pendanaan dalam program Penelitian Dosen Pemula (PDP) Tahun 2025 dengan No. Kontrak 002/MACHUNG/LPPMI/SP2H-LIT/V/2025. Peneliti juga mengucapkan banyak terimakasih kepada Program Studi S1 Farmasi Universitas Ma Chung yang telah memberikan fasilitas yang memadai sehingga artikel ini dapat terselesaikan dengan baik

## DAFTAR PUSTAKA

- B, E. C. (2025). Sedentary Behavior and Risk of Cardiovascular Disease. *JACC*, *85*(5), 487–488.  
<https://doi.org/10.1016/j.jacc.2024.1.002>
- Barker, T. H., Habibi, N., Aromataris, E., Stone, J. C., Leonardi-Bee, J., Sears, K., ... Munn, Z. (2024). The revised JBI critical appraisal tool for the

- assessment of risk of bias for quasi-experimental studies. *JBI Evidence Synthesis*, 22(3). Retrieved from [https://journals.lww.com/jbisrir/fulltext/2024/03000/the\\_revised\\_jbi\\_critical\\_appraisal\\_tool\\_for\\_the.4.aspx](https://journals.lww.com/jbisrir/fulltext/2024/03000/the_revised_jbi_critical_appraisal_tool_for_the.4.aspx)
- Bass, J. J., Wilkinson, D. J., Rankin, D., Phillips, B. E., Szewczyk, N. J., Smith, K., & Atherton, P. J. (2017). An overview of technical considerations for Western blotting applications to physiological research. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 27(1), 4–25.
- Bowley, G., Kugler, E., Wilkinson, R., Lawrie, A., van Eeden, F., Chico, T. J. A., ... Serbanovic-Canic, J. (2022). Zebrafish as a tractable model of human cardiovascular disease. *British Journal of Pharmacology*, 179(5), 900–917. <https://doi.org/10.1111/bph.15473>
- Catherine W McCollum, Javier Conde-Vancells, Charu Hans, Mercedes Vazquez-Chantada, Nicole Kleinstreuer, Tamara Tal, ... Maria Bondesson. (2017). Identification of vascular disruptor compounds by analysis in zebrafish embryos and mouse embryonic endothelial cells. *Reproductive Toxicology*, 70, 60–69.
- Chelladurai, P., Dabral, S., Basineni, S. R., Chen, C.-N., Schmoranzner, M., Bender, N., ... Wilhelm, J. (2020). Isoform-specific characterization of class I histone deacetylases and their therapeutic modulation in pulmonary hypertension. *Scientific Reports*, 10(1), 12864.
- Dhoble, S., & Patravale, V. (2019). Development of anti-angiogenic erlotinib liposomal formulation for pulmonary hypertension: a QbD approach. *Drug Delivery and Translational Research*, 9(5), 980–996. <https://doi.org/10.1007/s13346-019-00641-2>
- Du, K., Liu, Y., Zhang, L., Peng, L., Dong, W., Jiang, Y., ... Ding, Y. (2024). Lapatinib combined with doxorubicin causes dose-dependent cardiotoxicity partially through activating the p38MAPK signaling pathway in zebrafish embryos. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 175, 116637. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biopha.2024.116637>
- Ferguson, J. L., & Shive, H. R. (2019). Sequential immunofluorescence and immunohistochemistry on cryosectioned zebrafish embryos. *Journal of Visualized Experiments: JoVE*, (147), 10–3791.
- Gierten, J., Pylatiuk, C., Hammouda, O. T., Schock, C., Stegmaier, J., Wittbrodt, J., ... Loosli, F. (2020). Automated high-throughput heartbeat quantification in medaka and zebrafish embryos under physiological conditions. *Scientific Reports*, 10(1), 2046.
- Haapanen-Saaristo, A.-M., Virtanen, N., Tcarenkova, E., Vaparanta, K., Ampuja, M., Vehniäinen, E.-R., & Paatero, I. (2024). Heat stress sensitizes zebrafish embryos to neurological and cardiac toxicity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 733, 150682. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2024.150682>
- Han, X., Wang, B., Jin, D., Liu, K., Wang, H., Chen, L., & Zu, Y. (2021). Precise dose of folic acid supplementation is essential for embryonic heart development in zebrafish. *Biology*, 11(1), 28.
- Heuer, R. M., Falagan-Lotsch, P., Okutsu, J., Deperalto, M., Koop, R. R., Umeh, O. G., ... Shelton, D. S. (2024). Therapeutic Efficacy of Selenium Pre-treatment in Mitigating Cadmium-Induced Cardiotoxicity in Zebrafish (*Danio rerio*). *Cardiovascular Toxicology*, 24(11), 1287–1300.

- <https://doi.org/10.1007/s12012-024-09910-0>
- Hong, C. C. (2022). The grand challenge of discovering new cardiovascular drugs. *Frontiers in Drug Discovery*, 2. <https://doi.org/10.3389/fddsv.2022.1027401>
- Horzmann, K. A., & Freeman, J. L. (2018). Making waves: New developments in toxicology with the zebrafish. *Toxicological Sciences*, 163(1), 5–12.
- Huttunen, R., Sainio, A., Hjelt, A., Haapanen-Saaristo, A.-M., Määttä, J., Rummukainen, P., ... Järveläinen, H. (2022). Distinctive effects of SGLT2 inhibitors on angiogenesis in zebrafish embryos. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 156, 113882. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113882>
- Jahr, W., Schmid, B., Schmied, C., Fahrbach, F. O., & Huisken, J. (2015). Hyperspectral light sheet microscopy. *Nature Communications*, 6(1), 1–7.
- Kaveh, A., Bruton, F. A., Buckley, C., Oremek, M. E. M., Tucker, C. S., Mullins, J. J., ... Denvir, M. A. (2020). Live Imaging of Heart Injury in Larval Zebrafish Reveals a Multi-Stage Model of Neutrophil and Macrophage Migration. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, Volume 8-2020. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.579943>
- Kurien, B. T., & Scofield, R. H. (2015). Other notable protein blotting methods: a brief review. *Western Blotting: Methods and Protocols*, 487–503.
- Lachowicz, J., Niedziątek, K., Rostkowska, E., Szopa, A., Świąder, K., Szponar, J., & Serefko, A. (2021). Zebrafish as an animal model for testing agents with antidepressant potential. *Life*, 11(8), 792.
- LeBert, D. C., Squirrell, J. M., Huttenlocher, A., & Eliceiri, K. W. (2016). Second harmonic generation microscopy in zebrafish. In *Methods in Cell Biology* (Vol. 133, pp. 55–68). Elsevier.
- Lee, C. Y., Wu, S. W., Yang, J. J., Chen, W. Y., Chen, C. J., Chen, H. H., ... Kuan, Y. H. (2024). Vascular endothelial dysfunction induced by 3-bromofluoranthene via MAPK-mediated-NFκB pro-inflammatory pathway and intracellular ROS generation. *Archives of Toxicology*, 98(7), 2247–2259. <https://doi.org/10.1007/s00204-024-03751-0>
- Li, B., Chen, K., Liu, F., Zhang, J., Chen, X., Chen, T., ... Wang, L. (2021). Developmental angiogenesis requires the mitochondrial phenylalanyl-tRNA synthetase. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 8, 724846.
- Liang, J., Jin, W., Li, H., Liu, H., Huang, Y., Shan, X., ... Efferth, T. (2016). In vivo cardiotoxicity induced by sodium aescinate in zebrafish larvae. *Molecules*, 21(3), 190.
- Lu, X., Lu, L., Gao, L., Wang, Y., & Wang, W. (2021). Calycosin attenuates doxorubicin-induced cardiotoxicity via autophagy regulation in zebrafish models. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 137, 111375. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111375>
- Machikhin, A. S., Volkov, M. V., Burlakov, A. B., Khokhlov, D. D., & Potemkin, A. V. (2020). Blood vessel imaging at pre-larval stages of Zebrafish embryonic development. *Diagnostics*, 10(11). <https://doi.org/10.3390/diagnostics10110886>
- Maciag, M., Wnorowski, A., Mierzejewska, M., & Plazinska, A. (2022). Pharmacological assessment of zebrafish-based cardiotoxicity models. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 148, 112695.

- <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.112695>
- Maradonna, F., Fontana, C. M., Sella, F., Giommi, C., Facchinello, N., Rampazzo, C., ... Van Doan, H. (2022). A zebrafish HCT116 xenograft model to predict anandamide outcomes on colorectal cancer. *Cell Death & Disease*, 13(12), 1069.
- Martin, S. S., Aday, A. W., Allen, N. B., Almarzooq, Z. I., Anderson, C. A. M., Arora, P., ... Committee, S. S. (2025). 2025 Heart Disease and Stroke Statistics: A Report of US and Global Data From the American Heart Association. *Circulation*, 151(8), e41–e660.  
<https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000001303>
- Maximino, C., & Herculano, A. M. (2010). A review of monoaminergic neuropsychopharmacology in zebrafish. *Zebrafish*, 7(4), 359–378.
- Morikawa, M., Mitani, Y., Holmborn, K., Kato, T., Koinuma, D., Maruyama, J., ... Miyazono, K. (2019). The ALK-1/SMAD/ATOH8 axis attenuates hypoxic responses and protects against the development of pulmonary arterial hypertension. *Science Signaling*, 12(607).  
<https://doi.org/10.1126/scisignal.aay4430>
- Nöth, J., Michaelis, P., Schüler, L., Scholz, S., Krüger, J., Haake, V., & Busch, W. (2025). Dynamics in zebrafish development define transcriptomic specificity after angiogenesis inhibitor exposure. *Archives of Toxicology*, 99(4), 1561–1578.  
<https://doi.org/10.1007/s00204-024-03944-7>
- Oliveira, R. F. (2013). Mind the fish: zebrafish as a model in cognitive social neuroscience. *Frontiers in Neural Circuits*, 7, 131.
- Oralová, V., Rosa, J. T., Soenens, M., Bek, J. W., Willaert, A., Witten, P. E., & Huysseune, A. (2019). Beyond the whole-mount phenotype: high-resolution imaging in fluorescence-based applications on zebrafish. *Biology Open*, 8(5), bio042374.  
<https://doi.org/10.1242/bio.042374>
- Perhimpunan Dokter Spesialis Kardiovaskular Indonesia (PERKI). (2021). *Pedoman Diagnosis dan Tatalaksana Hipertensi Pulmonal*. Perhimpunan Dokter Spesialis Kardiovaskular Indonesia (PERKI).
- Qin, W., Zhang, K., Geng, T., Cheng, F., Chen, P., Yao, W., ... Cao, Y. (2021). The toxicity mechanism of toxic compounds from *Euphorbiae pekinensis* Radix on zebrafish embryos. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 138, 111521.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111521>
- Serbanovic-Canic, J., de Luca, A., Warboys, C., Ferreira, P. F., Luong, L. A., Hsiao, S., ... Souilhol, C. (2017a). Zebrafish model for functional screening of flow-responsive genes. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 37(1), 130–143.
- Serbanovic-Canic, J., de Luca, A., Warboys, C., Ferreira, P. F., Luong, L. A., Hsiao, S., ... Souilhol, C. (2017b). Zebrafish model for functional screening of flow-responsive genes. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 37(1), 130–143.
- Singh, K. K., Gupta, A., Bharti, C., & Sharma, H. (2021). Emerging techniques of western blotting for purification and analysis of protein. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7(1), 239.  
<https://doi.org/10.1186/s43094-021-00386-1>
- Smirnova, A., Mentor, A., Ranefall, P., Bornehag, C.-G., Brunström, B., Mattsson, A., & Jönsson, M. (2021).

- Increased apoptosis, reduced Wnt/ $\beta$ -catenin signaling, and altered tail development in zebrafish embryos exposed to a human-relevant chemical mixture. *Chemosphere*, 264, 128467. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128467>
- Tang, P. W. H., Wu, P. H., Lin, Y. T., Chiu, C. H., Cheng, T. L., Guan, W. H., ... Liu, W. (2022). Zebrafish Model-Based Assessment of Indoxyl Sulfate-Induced Oxidative Stress and Its Impact on Renal and Cardiac Development. *Antioxidants*, 11(2). <https://doi.org/10.3390/antiox11020400>
- Torraca, V., & Mostowy, S. (2018). Zebrafish infection: from pathogenesis to cell biology. *Trends in Cell Biology*, 28(2), 143–156.
- Wang, Z., Chen, W., Zuo, L., Xu, M., Wu, Y., Huang, J., ... Chen, J. (2022). The Fibrillin-1/VEGFR2/STAT2 signaling axis promotes chemoresistance via modulating glycolysis and angiogenesis in ovarian cancer organoids and cells. *Cancer Communications*, 42(3), 245–265.
- Wei, Y.-L., Lin, X.-C., Liu, Y.-Y., Lei, Y.-Q., Zhuang, X.-D., Zhang, H.-T., & Wang, X.-R. (2024). Effects of water fluoridation on early embryonic development of zebrafish. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 270, 115907. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.115907>
- Wu, H., Zhao, G., Feng, W., Yang, C., & Jiang, Y. (2025). Fluconazole induces cardiovascular toxicity in zebrafish by promoting oxidative stress, apoptosis, and disruption of key developmental genes. *Chemico-Biological Interactions*, 408, 111391. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cbi.2025.111391>
- Yu Chen, Wei Zhu, Fan Shu, Yan Fan, Ning Yang, Tao Wu, ... Xiaoe Jia. (2020). Nd2O3 Nanoparticles Induce Toxicity and Cardiac/Cerebrovascular Abnormality in Zebrafish Embryos via the Apoptosis Pathway. *Int J Nanomedicine*, 15, 387–400.
- Zhu, J., Liu, C., Wang, J., Liang, Y., Gong, X., You, L., ... Chi, X. (2021). Difenoconazole induces cardiovascular toxicity through oxidative stress-mediated apoptosis in early life stages of zebrafish (*Danio rerio*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 216, 112227. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112227>.