

## Zebrafish (*Danio rerio*) Sebagai Model Hewan Coba pada Pengujian Aktivitas Obat

Niken Indriyanti

Departemen Farmakologi, Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia  
Email: [niken@farmasi.unmul.ac.id](mailto:niken@farmasi.unmul.ac.id)

### Abstrak

Perkembangan metode penelitian menggunakan hewan coba sering terkendala pada aspek 3R (*reduce, replace, refinement*). Untuk melakukan skrining aktivitas peneliti sering dihadapkan pada pilihan menggunakan hewan coba golongan *rodent* dalam jumlah banyak. Sedangkan pilihan menggunakan larva udang menawarkan pilihan jenis pengujian yang terbatas. Penelitian ini bertujuan mengkaji keunggulan dan kelemahan metode uji aktivitas menggunakan model zebrafish (*Danio rerio*). Penelitian dilakukan secara metaanalisis menggunakan berbagai literatur yang diakses dari Pubmed, Scencedirect, dan Google Scholar. Metode pengujian menggunakan zebrafish menunjukkan keunggulan pada pengamatan perilaku setelah pemberian bahan uji, terutama yang berkaitan dengan sistem saraf. Sedangkan untuk pengujian aktivitas terhadap jantung, pengamatan perilaku fisik kurang menunjukkan perbedaan yang berarti, namun penelusuran aktivitas terhadap otot jantung dapat dilakukan dengan metode pewarnaan histopatologi. Pengamatan molekular tersebut mampu menunjukkan kemampuan kontraksi dan relaksasi otot jantung. Pengamatan pada fungsi pengaturan tekanan darah dan fungsi sistem pencernaan juga dapat terpantau jelas jika menggunakan model zebrafish transgenik. Model zebrafish hasil rekayasa ini dapat terlihat bening sehingga ritme kerja organ dalamnya terrekam menghasilkan data pengamatan yang valid. Sehingga, untuk penelitian skrining uji aktivitas suatu bahan, penggunaan zebrafish menjadi salah satu pilihan yang tepat.

**Kata Kunci:** Zebrafish, model hewan coba, aktivitas farmakologi, data

**DOI:** <https://doi.org/10.25026/mpc.v1i1.398>

### ■ Pendahuluan

Pengujian aktivitas dan efektivitas obat mutlak memerlukan model hewan coba sebelum diujikan ke manusia. Hal itu berkaitan dengan keamanan penggunaan bahan untuk manusia. Pengujian *in silico* sampai saat ini cukup membantu prediksi aktivitas dan keamanan suatu

senyawa [1,2], namun kelemahan metode ini adalah pengkondisian ikatan kimia senyawa dengan reseptor yang belum mampu melibatkan sistem biologi makhluk hidup secara menyeluruh. Selanjutnya hasil prediksi tersebut perlu dibuktikan pada makhluk hidup, baik secara *in vitro* maupun *in vivo*.

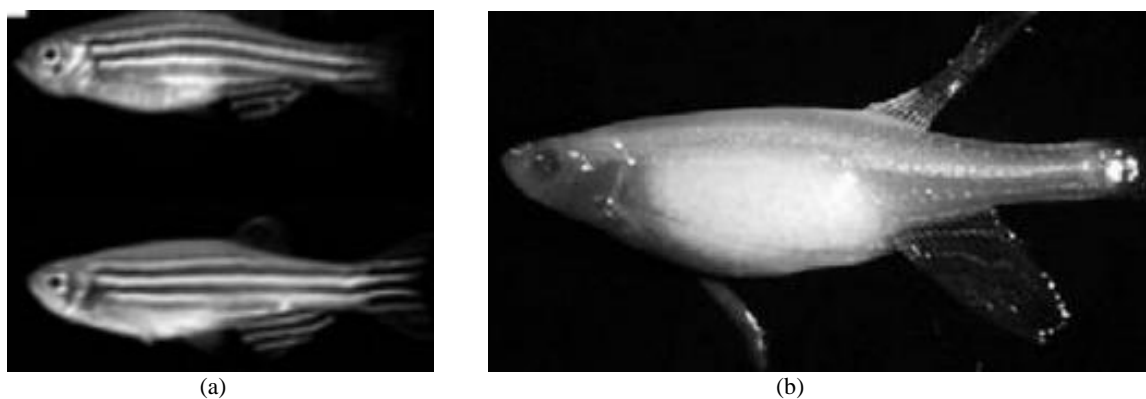
Pengujian aktivitas *in vivo* dari banyak senyawa atau banyak bahan kurang efisien secara etis ditinjau dari prinsip 3R (*Reduce, Replace, Refinement*). Maka, diperlukan model pengujian *in vitro* menggunakan hewan coba non-rodent yang mencerminkan kondisi yang akan muncul pada saat pengujian *in vivo*. Penggunaan larva udang sebagai model cukup membantu dalam skrining, namun terkendala terbatasnya jenis uji yang bisa menghasilkan data yang valid [3]. Penggunaan model ikan zebrafish (*Danio rerio*) untuk pengujian aktivitas terlihat lebih banyak menghasilkan data yang valid pada berbagai jenis uji, dan akan dibahas lebih mendalam dalam artikel ini.

## ■ Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan kajian pustaka dengan sumber data dari publikasi penelitian yang relevan [4]. Publikasi diakses menggunakan *search engine* Scencedirect, Pubmed, dan Google Scholar pada bulan November 2020. Data sekunder dikaji secara meta-analisis dan disajikan secara deskriptif.

## ■ Hasil dan Pembahasan

Penelitian terdahulu menggunakan zebrafish menghasilkan data yang sangat mendukung lanjutan penelitian pada uji *in vivo*. Jenis zebrafish yang paling banyak digunakan adalah jenis zebrafish biasa dan jenis zebrafish transgenik. Perbedaan kedua jenis zebrafish disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Perbedaan (a) zebrafish biasa dan (b) zebrafish transgenik [5]

Zebrafish biasa digunakan pada pengujian yang tidak memerlukan pengamatan organ pada kondisi hewan hidup, misalnya pengujian efek kemoterapi pada gastrointestinal, pengamatan biomolekular, dan pengamatan sel-sel imun [6,7]. Zebrafish transgenik digunakan untuk tujuan penelitian yang lebih luas dengan melibatkan pengamatan efek obat pada kerja organ pada kondisi hidup. Zebrafish transgenik transparan lebih banyak digunakan para peneliti. Pengamatan biomolekular dapat dilakukan secara visual maupun menggunakan zat kontras yang sesuai dengan jenis jaringan yang akan diamati. Zebrafish transgenik telah digunakan pada pengamatan populasi neuron pada otak [8], pengujian parameter darah dan plexus choroid otak [9], pengamatan fotodinamik terapi

nanopartikel [10], dan banyak pengamatan lainnya.

Penggunaan zebrafish ini sangat praktis meskipun memerlukan suasana pemeliharaan yang cukup banyak. Penyediaan air bersih dan kandungan oksigen yang mencukupi akan membantu keberlanjutan pengamatan. Merujuk pada prosedur pemeliharaan zebrafish, suhu air 26-31°C; pH 7,0-8,0, atau 6,5-8,0; suhu untuk reproduksi paling sesuai di pH 7,4-7,5; konduktivitas 300-1500µS; nitrat <200 ppm; nitrit <0,5 ppm; kandungan alkali 60-150 ppm; ammonium <0,5ppm [11,12].

Pengujian aktivitas bahan (senyawa ataupun gabungan senyawa dalam ekstrak/fraksi) menggunakan model zebrafish ini sangat beragam (Tabel 1).

Tabel 1. Beberapa jenis pengujian aktivitas senyawa/bahan uji menggunakan model zebrafish

Pengujian efek pada	Jenis zebrafish	Parameter pengamatan	Pustaka
Neuron otak	Larva	Ekspresi gen	[13]
Transformasi sensorik saraf	Dewasa	Rekaman aktivitas stimulus otak	[14]
Kardiak	Dewasa	Kerja aktin-miosin pada otot jantung	[15]
Gastro-intestinal	Dewasa	Histopatologi jaringan-jaringan pada saluran cerna	[16]
Metastasis kanker	Larva dan dewasa	Makrofag Hasil metastasis dengan pewarnaan histopatologi	[17]
Melanoma	Larva dan dewasa	Supresi melanosit hiperplasia	[18]
Hipertensi	Dewasa	genomik	[19]

Masih banyak jenis pengujian lain menggunakan zebrafish selain yang tertera dalam Tabel 1. Keunggulan penggunaan zebrafish dapat mengurangi jumlah pengujian *in vivo* menggunakan hewan uji golongan *rodent*. Masa hidup zebrafish yang lebih singkat daripada mencit dan kemudahan penginduksiannya menjadi alternatif metode uji yang dapat mengatasi kendala pemenuhan prinsip 3R pada etik penggunaan hewan coba. Metode pemeliharaan memang memerlukan pengkondisian yang cukup ketat, namun lebih mudah daripada kondisi pemeliharaan standar yang biasa digunakan untuk hewan coba golongan *rodent*.

## ■ Kesimpulan

Penggunaan model hewan coba zebrafish untuk tujuan skrining aktivitas suatu senyawa atau bahan uji merupakan pilihan tepat dan memenuhi prinsip 3R etik penggunaan hewan coba. Kemudahan induksi berbagai penyakit pada zebrafish, dan kemudahan pemeliharaannya menjadi kelebihan yang dapat dipertimbangkan peneliti dalam mengembangkan penelitian pengembangan obat.

## ■ Daftar Pustaka

- [1] Wang TY, Hsieh CH, Hung CC, Jao CL, Lin PY, Hsieh LH, Hsu KC. 2017. A study to evaluate the potential of an *in silico* approach for predicting dipeptidyl peptidase-IV inhibitory activity *in vitro* of protein hydrolysates, *Food Chemistry*, **234**, (0),431-438. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.035>
- [2] Hsieh JH, Sedykh A, Mutlu E, Germolec DR, Auerbach SS, Rider CV. 2020. Harnessing *in silico*, *in vitro*, and *in vivo* data to understand the toxicity landscape of polycyclic aromatic

- compounds (PACs), *Chem. Res. Toxicol.*, <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.0c00213>
- [3] Supraja N, Prasad TNVK, Gandhi AD, Anbumani D, Kavitha P, Babujanartharam R. 2018. Synthesis, characterization and evaluation of antimicrobial efficacy and brine shrimp lethality assay of *Alstonia scholaris* stem bark extract mediated ZnONPs, *Biochemistry and Biophysics Reports*, **14**, (July 2018), 69-77. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2018.04.004>
- [4] Gandini S, Palli D, Spadola G, Bendinelli B, Cocorocchio E, Stanganelli I, *et al.* 2018. Antihypertensive drugs and skin cancer risk: a review of the literature and meta-analysis, *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, **122**, (February 2018), 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2017.12.003>
- [5] Akhter A, Kumangai R, Roy SR, Li S, Tokumoto M, Hossain B, Wang J, *et al.* 2016. Generation of Transparent Zebrafish with Fluorescent Ovaries: A Living Visible Model for Reproductive Biology, *Zebrafish*, **13**, (3), 155-160. DOI: 10.1089/zeb.2015.1116
- [6] Dee CT, Raghavendar T, Nagaraju, Emmanouil I, Gray C, Ama LF, Jhnston SA, *et al.* 2016. Cd4-Transgenic Zebrafish reveal tissue-resident Th2 and Regulatory T cell-like populations and Diverse Mononuclear Phagocytes, *J. immunol*, **197**, (9), 3521-3530. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1600959>
- [7] Sebille YZA, Gibson RJ, Wardhill HR. 2019. Use of Zebrafish to model chemotherapy and targeted therapy gastrointestinal toxicity, *Experimental Biology and Medicine* <https://doi.org/10.1177/1535370219855334>
- [8] Foster D, Ammer IA, Laurel E, Barker AJ, Fernandes AM. 2017. Genetic targeting and anatomic registration of neuronal populations in the zebrafish brain with new set of BAC transgenic tools, *Scientific Reports*, **7**, (5230(2017)), 1-11. <https://www.nature.com/articles/s41598-017-04657-x>
- [9] Leeuwen LM, Evans RJ, Jim KK, Verboom T, Fang X, Bojarczuc A, Malicki J, Johnston SA. 2018. A Transgenic zebrafish model for the *in vivo* study of the blood and choroid plexus brain barriers usiang claudin 5, *Biology Open*, **7**, (bio030494), 1-12. doi: 10.1242/bio.030494
- [10] Manghnani PN, Wu W, Xu S, Hu F, The C, Liu B. 2018. Visualizing photodynamic therapy in transgenic zebrafish using organic nanoparticles with aggregation-induced emission, *Nano-Micro Letters*, **10**, (61), 1-9. <https://doi.org/10.1007/s40820-018-0214-4>
- [11] Clemson.edu. Daily care of zebrafish *Danio rerio* Facility: Aquatic animal research laboratory Room 3. Media. Clemson.edu
- [12] Alestrom P, Angelo LD. 2020. Zebrafish: Housing and husbandry recommendations, *Laboratory*

- Animals*, **54**, (3), 213-224. doi/full/10.1177/0023677219869037
- [13] Kunst M, Laurell E, Mokayes N, Kramer A, Kuno F, Fernandes AM, Foster D, Maschio M, Baier H. 2019. A cellular-resolution atlas of the larval zebrafish brain, *NeuroResource*, **103**, (1), 21-38.
- [14] Chen X, Mu Y, Kuan AT, Nikitchenko M, Chen AB, Gavornik JP, Sompolinsky H, Engert F, Ahrens MB. 2018. Brain-wide organization of neuronal activity and convergent sensorimotor transformations in larval zebrafish, *Neuron*, **100**, (4), 876-890.
- [15] Beffagna G. 2019. Zebrafish as a smart model to understand regeneration after heart injury: How fish could help humans, *Front. Cardiovasc. Med.* <https://doi.org/10.3389/fcvm.2019.00107>
- [16] Annie NY, Curtain AJ, Mawdsley DJ, White S, Shin B. 2005. Formation of the digestive system in zebrafish: III. Intestinal epithelium morphogenesis, *Developmental Biology*, **286**, (1), 114-135. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2005.07.013>
- [17] Heilmann S, Ratnakumar K, Langdon EM, Kansler ER, Kin IS, *et al.*, 2019. A quantitative system for studying metastasis using transparent zebrafish, *Integrated systems and Technologies*, 4272-4282. 10.1158/0008-5472.CAN-14-3319
- [18] Ama NS, Jones M, Walker P, Chapman A, Braun JA. 2016. Reprofile using zebrafish melanoma model reveals drugs cooperating with targeted therapeutics, *Oncotarget.*, **7**,(26), 40348-40361. doi: [10.18632/oncotarget.9613](https://doi.org/10.18632/oncotarget.9613)
- [19] Sorriento D, Laccarino G. 2020. Commentary: Studies in zebrafish demonstrate that CNNM2 and NT5C2 are most likely the causal genes at the blood pressure associated locus on human chromosome 10q24.32, *Front. Cardiovasc. Med.*, **7**, (582101). doi: [10.3389/fcvm.2020.582101](https://doi.org/10.3389/fcvm.2020.582101)