

UJI AKTIVITAS ANTIHIPERGLIKEMIA EKSTRAK ETANOL DAUN GAHARU (*Aquilaria malaccensis* Lam.) TERHADAP *Zebrafish* (*Danio rerio*)

Asril Burhan*, Maulita Indrisari, Nurul Hikma, Irfiana
Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar
Jl. Perintis kemerdekaan Km. 13,7 Daya Makassar 90242
Email : asrilburhan@gmail.com

ABSTRAK

Tanaman gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lam.) merupakan salah satu tanaman yang digunakan untuk pengobatan diabetes mellitus. Secara alami, tanaman ini dapat menurunkan kadar glukosa darah dengan adanya kandungan flavanoid yang diduga dapat menurunkan kadar glukosa darah dengan kemampuan flavonoid meregenerasi sel β pankreas dan membantu merangsang sekresi insulin serta mengurangi penyerapan glukosa di usus. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antihiperglikemia ekstrak etanol daun gaharu dan pada dosis berapa ekstrak etanol daun gaharu memberikan efek menurunkan kadar glukosa darah paling baik terhadap *zebrafish*. Penelitian ini menggunakan hewan uji *zebrafish* (*Danio rerio*) yang diinduksi dengan aloksan 0,1% dan glukosa 1% untuk menaikkan kadar glukosa darahnya. Hewan uji yang digunakan sebanyak 60 ekor dibagi menjadi 10 kelompok yaitu kelompok tanpa perlakuan, kontrol positif (metformin), kontrol negatif (aloksan dan glukosa), kelompok ekstrak etanol daun gaharu dosis 200 mg/L, dosis 300 mg/L, dosis 400 mg/L. Analisis data menggunakan *Kruskal-Wallis* yang dilanjutkan uji *Mann-Whitney*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun gaharu memiliki aktivitas dalam menurunkan kadar glukosa darah dan dosis paling tinggi dalam menurunkan kadar gula darah yaitu 400 mg/L.

Kata kunci : daun gaharu, diabetes melitus, kadar glukosa darah

PENDAHULUAN

Perubahan gaya hidup dan sosial ekonomi akibat urbanisasi dan modernisasi yang menjadi salah satu penyebab meningkatnya prevalensi penyakit degeneratif yang harus diwaspadai seperti penyakit diabetes melitus. Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit gangguan metabolik menahun akibat penurunan fungsi pankreas dalam memproduksi

hormon insulin atau tubuh tidak dapat menggunakan hormon insulin yang diproduksi secara efektif sehingga menyebabkan kondisi hiperglikemia, yaitu kadar glukosa darah yang melebihi batas normal (Depkes, 2014). WHO memprediksi kenaikan jumlah penyandang diabetes melitus di Indonesia dari 8,4 juta pada tahun 2000 menjadi sekitar 21,3 juta pada tahun 2030 (Perkumpulan Endokrinologi Indonesia, 2015).

Meningkatnya prevalensi penyakit diabetes melitus dari tahun ke tahun menunjukkan perlunya perhatian serius dalam terapi penyakit tersebut.

Penanganan diabetes melitus dapat dilakukan dengan terapi farmakologi seperti penggunaan obat antidiabetik oral dan terapi non farmakologi seperti olahraga dan mengatur pola makan. Namun, terapi obat yang dilakukan pada saat ini mengalami banyak hambatan terutama dalam hal kepatuhan pasien dan sisi biaya. Selain itu, penggunaan antidiabetik oral memiliki banyak efek samping. Oleh karena itu, penderita diabetes melitus banyak mencari tanaman yang digunakan untuk pengobatan tradisional sebagai terapi alternatif.

Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat yang berkhasiat menurunkan kadar glukosa darah adalah tanaman gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lam.). Menurut Nugraha *et al.* (2015) ekstrak etanol daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lam.) dari hasil skrining fitokimia mengandung senyawa flavonoid, saponin, tannin dan steroid/triterpenoid. Senyawa flavonoid inilah yang diduga dapat digunakan untuk menurunkan kadar

gula darah dengan kemampuan flavonoid meregenerasi sel β pankreas dan membantu merangsang sekresi insulin serta mengurangi penyerapan glukosa, mengatur aktivitas enzim yang terlibat dalam metabolisme karbohidrat dan menghambat penguraian polisakarida menjadi monosakarida (Dheer and Bhatnagar, 2010).

Pengujian efek antidiabetes menjadi penting untuk pengembangan obat baru antidiabetes. Metode-Metode yang sedang dikembangkan saat ini yaitu menggunakan *zebrafish* (*Danio rerio*) sebagai model. Sementara itu, dalam beberapa dekade terakhir, *zebrafish* telah digunakan sebagai model organisme dalam studi biomedis. Beberapa proyek penelitian telah menggunakan *zebrafish* sebagai model untuk mengukur efek antidiabetik dan penelitian terkait dengan skrining homeostasis glukosa telah dilakukan melalui pengamatan glukosa darah *zebrafish* (MacRae dan Peterson, 2015). *Zebrafish* memiliki kesamaan genetik dan fisiologis dengan manusia (Tabassum *et al.*, 2015)(Shin, 2012). memiliki beberapa keunggulan sebagai hewan model, yaitu mudah ditangani dan dipelihara dalam kondisi laboratorium,

kemampuan reproduksi yang tinggi membuat *zebrafish* mudah berkembang biak, dan perawatannya relatif lebih murah dari pada tikus (Utami, 2018).

METODE PENELITIAN

Uji Fitokimia

1. Flavonoid

Sebanyak 0,1 ekstrak dimasukan kedalam gelas piala kemudian ditambahkan 10 ml aquades dipanaskan sampai mendidih selama 5 menit. Setelah itu, disaring dan filtratnya digunakan sebagai larutan uji. Filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan pita Mg, 1 ml HCl pekat dan 1 ml amilalkohol kemudian dikocok dengan kuat. Uji positif flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amilalkohol.

2. Alkaloid

Sebanyak 0,1 gr sampel dilarutkan dalam 10 ml etanol dan 4 tetes NH₄OH kemudian disaring dan filtratnya dimasukkan kedalam tabung reaksi tertutup. Ekstrak dalam tabung reaksi kemudian dikocok dengan ditambah 10 tetes H₂SO₄ 2 M, sampai terbentuk 2 lapisan. Lapisan asam yang berada di atas dipisahkan ke dalam tabung reaksi yang lain dan

ditambahkan preaksi mayer yang menghasilkan endapan warna putih, penambahan pereaksi dragendorff yang akan menimbulkan endapan warna merah jingga sedangkan penambahan pereaksi wagner yang menghasilkan endapan coklat.

3. Saponin

Sebanyak 0,1 gr sampel di masukkan kedalam gelas piala kemudian ditambahkan 10 ml air panas dan dididihkan selama 5 menit. Setelah itu, disaring dan filtratnya digunakan sebagai larutan uji. Filtrat dimasukkan kedalam tabung reaksi tertutup kemudian dikicok selama ± 10 detik dan dibiarkan selama 10 menit, ditambahkan 1 ml HCL 2M. Adanya saponin ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil.

4. Tanin

Sebanyak 0,1 gr serbuk ekstrak ditambahkan dengan 10 ml air panas, dididihkan selama 5 menit dan disaring. Sebagian filtrat yang diperoleh ditambahkan dengan larutan FeCl₃ 1%. Hasil positif ditunjukkan oleh terbentuknya warna hijau kehitaman.

5. Triterpenoid dan Steroid

Sebanyak 0,1 gr sampel dilarutkan dengan etanol kemudian di uapkan diatas waterbath. Lalu

ditambah dengan asam asetat anhidrat sebanyak 10 tetes, selanjutnya larutan ditetesi dengan H₂SO₄ pekat $\pm$ 3 tetes melalui dinding tabung reaksi. Jika hasil yang diperoleh berupa cicin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut menunjukkan adanya triterpen, sedangkan munculnya warna hijau menunjukkan adanya steroid.

Pengelompokan Hewan Uji

Zebrafish (*Danio rerio*) diadaptasikan terlebih dahulu dengan lingkungan penelitian selama 1 minggu dan dipuasakan selama 24 jam sebelum penelitian dimulai. *Zebrafish* diberi makan dua kali sehari dengan makanan ikan Tetramin Flakes. *Zebrafish* dibagi menjadi 6 kelompok, tiap kelompok terdiri dari 10 ekor. Adapun pembagiannya sebagai berikut:

- a. Kelompok 1 tanpa perlakuan
- b. Kelompok 2 diberi Metformin sebanyak 100 μ m dalam 2 liter air sebagai kontrol positif
- c. Kelompok 3 diberi Aloksan 0,1 gram dan glukosa 1% dalam 2 liter air sebagai kontrol negatif
- d. Kelompok 4 diberi ekstrak daun gaharu 200 mg dalam 2 liter air
- e. Kelompok 5 diberikan ekstrak daun gaharu 300 mg dalam 2 liter air

- f. Kelompok 6 diberikan ekstrak daun gaharu 400 mg dalam 2 liter air

Perlakuan Terhadap Hewan Uji

Zebrafish (*Danio rerio*) diadaptasikan terlebih dahulu dengan lingkungan sekitar selama 1 minggu. Hewan uji *zebrafish* yang digunakan adalah ikan dewasa jantan dan betina yang dipilih secara acak dengan umur 4-6 bulan, masing-masing kelompok terdiri dari 10 ikan dalam 2 liter air. Selanjutnya ikan dipuasakan selama 24 jam kemudian di induksi dengan aloksan 0,1% dan larutan glukosa 1% dalam 2 liter air pada semua kelompok kecuali kelompok tanpa perlakuan. Pada hari ke-5, masing-masing kelompok dimasukkan kedalam wadah yang berisi 2 liter air, kelompok kontrol positif diberi metformin dan kelompok perlakuan diberikan ekstrak dengan dosis 200 mg/L, 300 mg/L dan 400mg/L. Kemudian diberikan dengan cara ikan dimasukkan kedalam topleks direndam selama 12 jam.

Pengukuran kadar gula darah

Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan dengan cara dianestesi dengan air es hingga ikannya tidak bergerak, *zebrafish* dikeluarkan dari air es dan ditempatkan di permukaan kaca. Diambil darah *zebrafish* dengan

cara dekapitasi di bagian belakang kepala ikan menggunakan cutter. Setelah pemotongan kepala, kemudian dilakukan pemeriksaan kadar glukosa darah menggunakan alat glukometer (Autocheck®).

Analisis Data

Data yang di peroleh dianalisis menggunakan metode *One-Way ANOVA* kemudian dilanjutkan dengan melakukan analisis *post hoc* dengan uji *LSD* untuk melihat perbedaan bermakna dari setiap kelompok bila data terdistribusi normal dan memiliki varian homogen. Apabila data tidak terdistribusi normal dan varian tidak homogen, dilakukan uji *Kruskal-Wallis* yang dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* (Dahlan, 2010).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan sampel daun tanaman gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lam.) yang masih segar. Sampel diperoleh dari Desa mattirowalie, Kecamatan Kindang, Kabupaten Bulukumba, Sulawesi Selatan. Kemudian dikeringkan setelah dilakukan sortasi basah dan juga pencucian dengan air mengalir untuk menghilangkan bagian lain yang tidak diinginkan serta kotoran yang terikut pada sampel. Pengeringan dilakukan selama

seminggu, pada suhu kamar dan terhindar dari paparan sinar matahari langsung. Pengeringan tersebut bertujuan untuk mengurangi kadar air serta menghentikan reaksi enzimatis sehingga penurunan mutu dan kerusakan simplisia dapat dicegah. Air yang masih tersisa dalam simplisia dengan kadar tertentu dapat menjadi media pertumbuhan kapang dan jasad renik lainnya. Simplisia yang diperoleh kemudian diserbukkan untuk memperbesar luas permukaan sehingga dapat mempermudah proses ekstraksi sampel (Dirjen POM, 1985).

Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi, dengan perendaman selama 3 hari menggunakan penyari etanol 70%. Pemilihan metode maserasi dikarenakan sensitivitas senyawa target yaitu flavonoid tidak tahan terhadap suhu tinggi. Senyawa flavonoid dalam tanaman umumnya berikatan dengan gula membentuk glikosida sehingga lebih mudah larut dalam pelarut polar, sedangkan dalam bentuk aglikon bersifat kurang polar (Hanani, 2015). Etanol merupakan pelarut dengan kemampuan yang baik dalam menembus dinding sel dan melarutkan hampir semua senyawa organik pada sampel,

baik polar ataupun nonpolar. Oleh karena itu, dalam penelitian ini digunakan etanol 70% sebagai penyari (Tiwari, *et al.*, 2011).

Pada proses maserasi, cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat akan larut dan adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan bagian luar sel, maka zat aktif (zat terlarut) ditarik keluar. Peristiwa tersebut terjadi berulang kali hingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel (Najib, 2018). Dari proses maserasi 150 gram simplisia daun gaharu dalam etanol 70% selama 3 hari, diperoleh ekstrak kental 25,65 gram dengan % rendemen 17,1%.

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia.

Uji	Pereaksi	Hasil Pengamatan		Hasil
		Pustaka	Pengamatan	
Alkaloid	Mayer	Endapan Putih	Tidak Ada Endapan	Negatif
	Dragendorff	Endapan merah Jingga	Endapan Abu-abu	Negatif
	Wagner	Endapan Coklat	Tidak Ada Endapan	Negatif
Flavonoid	Serbuk Mg + HCl P	Jingga	Jingga	Positif
Saponin	HCl	Berbusa	Berbusa	Positif
Tanin	Aquadest + FeCl ₃	Hijau Kehitaman	Hijau Kehitaman	Positif
Steroid/Triterpenoid	H ₂ SO ₄ P + Asam Asetat Anhidrat	Steroid (hijau) /Triterpen (Cincin Kecoklatan)	Terdapat cincin kecoklatan	Positif

Berdasarkan hasil uji tabel 1.

dalam penelitian ini, dapat dilihat bahwa ekstrak etanol daun gaharu positif mengandung flavanoid, saponin, tanin dan triterpenoid. Dan didapatkan hasil negatif pada senyawa alkaloid. Hasil ini tidak berbeda dengan hasil penelitian Harahap, dkk (2018) hasil skrining ekstrak etanol daun gaharu mengandung senyawa flavonoid, tanin, steroid.

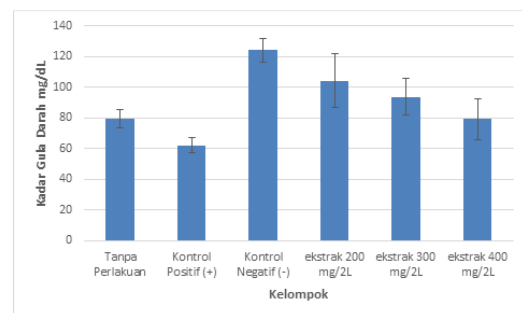
Selanjutnya dilakukan uji kadar glukosa darah, adapun hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah *zebrafish* (*Danio rerio*) karena memiliki kemiripan dengan manusia. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Seth, dkk (2013) mengungkapkan bahwa *zebrafish* dan mamalia termasuk manusia memiliki kemiripan dalam perangkat biologis yang berkaitan dengan gangguan metabolik diabetes melitus. Organ pankreas pada *zebrafish* yang terdiri dari kompartemen eksokrin dan endokrinnya dihubungkan oleh sistem saluran yang bermuara ke saluran pencernaan sama seperti mamalia.

Tabel 2. Hasil Pengukuran Gula darah pada Zebra Fish

	Tanpa Perlakuan (mg/dL)	Kontrol Positif (+) (mg/dL)	Kontrol Negatif (-) (mg/dL)	Perlakuan		
				200 mg/2 L (mg/dL)	300 mg/2 L (mg/dL)	400 mg/2 L (mg/dL)
Rata-rata SD	79,7 ± 7,52	62,1 ± 6,02	124,1 ± 4,81	104,3 ± 17,42	93,7 ± 11,68	79,2 ± 13,38

Dari table 2. Hasil pengukuran kadar glukosa darah, kadar glukosa darah tanpa perlakuan (normal) yang menjadi acuan dalam penelitian ini dengan nilai rata-rata dari hasil pengukuran kadar glukosa darah diperoleh 79,7 mg/dL dengan rentang (72-91 mg/dL). Menurut Hayati farida, dkk., (2017) kadar glukosa darah normal *zebrafish* yaitu 50-75 mg/dL. Sedangkan nilai rata-rata kadar glukosa darah setelah diinduksi meningkat yang dapat dilihat pada kontrol negatif yaitu 124,1 mg/dL. Hasil tersebut dapat dikatakan hiperglikemia karena kadar glukosa darah melebihi batas normal (Apriani, dkk. 2011). Pemberian aloksan sebagai penginduksi bertujuan untuk merusak sel β pankreas melalui pembentukan spesies oksigen reaktif yang diawali oleh reduksi aloksan sehingga produksi insulin menurun

yang menyebabkan hiperglikemia dan glukosa untuk mempertahankan kadar glukosa darah lebih stabil (Lenzen, 2008). Sedangkan pada perlakuan dosis 200 mg/L mengalami penurunan kadar glukosa darah didapatkan nilai rata-rata 104,3 mg/L yang tidak jauh dari nilai rata-rata pada kontrol negatif. Pada dosis 300 mg/L mengalami penurunan kadar glukosa darah didapatkan nilai rata-rata 93,7 mg/L. dan pada konsentrasi 400 mg/2L mengalami penurunan kadar glukosa darah didapatkan nilai rata-rata 79,2 mg/2L yang tidak jauh dari nilai rata-rata kadar glukosa darah tanpa perlakuan (normal).

**Gambar 1 Grafik rata-rata hasil pengukuran kadar glukosa darah pada *zebrafish* yang diberikan perlakuan dengan ekstrak daun.**

Pada gambar 3. grafik diatas selain tiga variasi dosis ekstrak digunakan pembanding tanpa perlakuan (normal), kontrol positif dan kontrol negatif untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pemberian ekstrak terhadap penurunan kadar glukosa

darah. Kelompok kontrol positif yang menunjukkan terjadinya penurunan paling tinggi diantara kelompok perlakuan karena metformin merupakan obat sintetik yang merupakan obat golongan biguanid bekerja dengan penghambatan glukoneogenesis di ginjal, perlambatan penyerapan glukosa di saluran cerna, disertai peningkatan konversi glukosa menjadi laktat oleh enterosid dan peningkatan pengeluaran glukosa dari darah (Katzung, masters dan trevor. 2015).

Kelompok kontrol negatif (Aloksan dan glukosa) menunjukkan tidak terjadi penurunan kadar glukosa darah disebabkan kontrol negatif tidak memiliki zat aktif yang berperan sebagai zat antihiperglikemia. Melainkan terjadi kenaikan dibandingkan dengan kelompok tanpa perlakuan. Pada variasi dosis dapat dilihat bahwa ekstrak daun gaharu mampu menurunkan kadar glukosa darah pada *zebrafish* namun masih belum sebanding dengan kontrol positif (metformin) dan penurunan paling baik berturut turut yaitu pada dosis 400 mg/L, dosis 300 mg/L dan dosis 200 mg/L. Sehingga dari variasi dosis menunjukkan semakin tinggi

dosis maka semakin tinggi pula efek penurunan kadar glukosa darahnya.

Efek antihiperglikemia yang dimiliki ekstrak etanol daun gaharu diduga berkaitan dengan senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak, dengan kemampuan flavonoid meregenerasi sel β pankreas serta mengurangi penyerapan glukosa, mengatur aktivitas enzim yang terlibat dalam metabolisme karbohidrat dan menghambat penguraian polisakarida menjadi monosakarida (Dheer and Bhatnagar, 2010).

Selanjutnya dilakukan analisa statistik. Analisa statistik digunakan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan bermakna kadar glukosa darah *zebrafish*. Berdasarkan hasil analisis data, diketahui bahwa data yang diperoleh terdistribusi normal namun data tidak memiliki varian yang homogen maka pengolahan data tidak bisa dilakukan dengan metode *One-Way ANOVA*. Pengolahan data selanjutnya dilakukan dengan metode *Kruskal Wallis* untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan data kadar glukosa darah. Apabila terdapat perbedaan kadar glukosa darah secara bermakna ($p < 0,05$) maka dilanjutkan dengan melakukan analisa *Post Hoc* dengan uji *Mann Whitney* untuk menentukan

kelompok manakah yang memberikan nilai yang berbeda secara bermakna dengan kelompok lainnya.

Berdasarkan hasil analisis dengan metode *Kruskal-Wallis*, diperoleh nilai $p=0,00$ atau nilai sig lebih kecil dari $0,05$ ($p<0,05$) yang artinya ada perbedaan aktivitas antihiperglikemia yang bermakna antar kelompok. Analisa selanjutnya dilakukan uji *Mann Whitney* untuk melihat ada atau tidaknya perbedaan antar kelompok. Didapatkan hasil $p<0,05$ yang artinya terdapat perbedaan bermakna pada setiap kelompok, namun pada kelompok ekstrak 400 mg/L tidak memiliki perbedaan bermakna dengan tanpa perlakuan dengan nilai $0,820>0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun gaharu dosis 400 mg/L memiliki kemampuan menurunkan kadar glukosa darah yang menyerupai kadar glukosa darah tanpa perlakuan.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat ditarik kesimpulan bahwa Ekstrak etanol daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lam.) memiliki aktivitas dalam menurunkan kadar gula darah pada *zebrafish* (*Danio rerio*). Dosis ekstrak etanol daun gaharu (*Aquilaria*

malaccensis Lam.) yang paling baik dalam menurunkan kadar gula darah yaitu pada dosis 400 mg/L namun masih lebih tinggi kontrol positif (metformin).

DAFTAR PUSTAKA

- Apriani, N., Suhartono, E. dan Akbar, I. (2011) "Korelasi Kadar Glukosa Darah Dengan Kadar Advanced Oxidation Protein Products (AOPP) Tulang Pada Tikus Putih Model Hiperglikemia," *Maranatha Journal of Medicine and Health*, 11(1), hal. 48–55.
- Endokrinologi, P. (2015) *No Title*. Diedit oleh P. E. Indonesia. Jakarta: PB PERKENI.
- Departemen Kesehatan RI. 2014. Situasi dan Analisis Diabetes. Jakarta. Pusat Data dan Analisis Kementerian Kesehatan RI. Hal 1-2.
- Dheer R. & Bhatnagar, P. (2010) A study of the Antidiabetic Activity of *Barleria prionitis* Linn. *Indian Journal of Pharmacology*, Vol. 42 (2): 70-73.
- Dirjen POM, (1985) Cara Pembuatan Simplisia, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta. Indonesia.
- Harahap, R. K., dkk. (2015). Uji Antioksidan Daun Gaharu Muda dan Daun Gaharu Tua (*Aquilaria malaccensis* Lam.) berdasarkan Tempat Tumbuh Pohon. pehulis Korespondasi. Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.
- Lenzen, S. (2008) "The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes," *Diabetologia*, 51(2), hal. 216–226.
- Najib, A. 2018, Ekstraksi Senyawa Bahan Alam, Penerbit Deepublish, Yogyakarta. Indonesia.
- MacRae, C. A. dan Peterson, R. T. (2015) "Zebrafish as tools for drug discovery," *Nature Reviews Drug*

- Discovery. Nature Publishing Group, 14(10), hal. 721–731.
- Meyer, A., Biermann, C. H. dan Orti, G. (1993) “The phylogenetic position of the *zebrafish* (*Danio rerio*), a model system in developmental biology: An invitation to the comparative method,”
- Nugraha, R. et al. (2015) “Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk) Berdasarkan Umur Pohon,” *Peronema Forestry Science Journal*, 4(1), hal. 32–40.
- Shin, E. (2012) “An optimal establishment of an acute hyperglycemia *zebrafish* model,” *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 6(42), hal. 2922–2928.
- Tabassum, N. et al. (2015) “Fishing for Nature’s Hits: Establishment of the *Zebrafish* as a Model for Screening Antidiabetic Natural Products,” *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2015.
- Tiwari, P., Bimlesh, K., Mandeep, K., Gurpreet, K. and Harleen, K. 2011, *Phytochemical Screening and Extraction: a Review*, *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1:98-106.
- Utami, N. (2018) “*ZEBRAFISH* (*Danio rerio*) SEBAGAI HEWAN MODEL DIABETES MELLITUS,” *BioTrends* P-ISSN:1858 - 2478, 9(1), hal. 15–19.