

UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES EKSTRAK DAUN KERSEN (*Muntingia calabura* L.) PADA MODEL HEWAN UJI *ZEBRAFISH* DIABETES

Raden Maya Febriyanti^{1*}, Shannon Patricia², Miski Aghnia Khairinnisa³

¹Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Indonesia

²Program Studi Profesi Apoteker, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Indonesia

³Departemen Farmakologi dan Farmasi Klinik, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Indonesia

*Email: raden.maya@unpad.ac.id

Received: 27/10/2025 Revised: 13/11/2025 Accepted: 14/11/2025 Published: 31/12/2025

ABSTRAK

Daun kersen (*Muntingia calabura* L.) diketahui mengandung flavonoid, seperti kuersetin, yang berpotensi antihiperglikemik. Penelitian ini bertujuan mengoptimasi pemodelan diabetes melitus (DM) pada zebrafish dan mengevaluasi aktivitas hipoglikemik ekstrak etanol daun kersen. Ekstrak distandardisasi melalui penetapan kadar air dan identifikasi KLT menggunakan pembanding kuersetin. Dua pendekatan model DM dievaluasi, yakni perendaman dalam glukosa 4% serta kombinasi glukosa 2% dengan pakan tinggi lemak. Uji hipoglikemik membandingkan kontrol normal, kontrol negatif (glukosa 4%), kontrol positif (metformin 1,65 mg/dL), dan tiga dosis ekstrak (50, 100, 150 mg/L) pada hari ke-0, 3, 5, 7, dan 14. Ekstrak memenuhi mutu awal (kadar air 3,69%; bercak KLT dengan Rf 0,346 ko-migrasi dengan kuersetin). Perendaman dalam glukosa 4% menghasilkan zebrafish hiperglikemia dengan kadar gula darah >1,5x dari nilai *baseline*, responsif terhadap metformin, dan bermortalitas rendah, sedangkan induksi dengan kombinasi pakan dan glukosa gagal karena mortalitas $\pm 30\%$ /hari. Pada pengujian hipoglikemik, kadar glukosa kontrol negatif meningkat hingga $227 \pm 5,37$ mg/dL (H14), sementara metformin menurunkannya menjadi $29,5 \pm 2,43$ mg/dL (H14; $-73,5\%$). Ekstrak menurunkan glukosa secara bermakna pada seluruh dosis; dosis 150 mg/L mencapai $24,5 \pm 1,05$ mg/dL ($-78,0\%$) dan lebih rendah daripada metformin, sedangkan dosis 50–100 mg/L berada pada 40,17–38,83 mg/dL ($-63,9\%$ s.d. $-65,1\%$). Analisis ANOVA satu arah/Welch menunjukkan perbedaan signifikan antar-kelompok dan antar-waktu ($p < 0,001$), dan uji lanjut Games–Howell mengonfirmasi bahwa seluruh dosis ekstrak berbeda bermakna dari kontrol negatif, dengan dosis 150 mg/L lebih efektif dibanding 50–100 mg/L pada H14. Temuan ini menegaskan bahwa model zebrafish glukosa 4% optimal untuk skrining antidiabetes dan bahwa ekstrak daun kersen memiliki aktivitas hipoglikemik signifikan yang mendukung pengembangannya sebagai kandidat obat antidiabetes alami.

Kata kunci : *Muntingia calabura*; *Zebrafish*; Hiperglikemia; Metformin; Flavonoid.

ABSTRACT

Muntingia calabura L. leaves contain flavonoids, notably quercetin, with putative antihyperglycaemic activity. This study aimed to optimise a zebrafish model of diabetes mellitus

(DM) and to evaluate the hypoglycaemic activity of the ethanolic leaf extract. The extract was standardised by determining moisture content and by thin-layer chromatography (TLC) using quercetin as the reference standard. Two DM-induction approaches were assessed: immersion in 4% glucose and a combination of 2% glucose with a high-fat diet. The hypoglycaemic test compared a normal control, a negative control (4% glucose), a positive control (metformin, 1.65 mg/dL), and three extract doses (50, 100, and 150 mg/L) on days 0, 3, 5, 7, and 14. The extract met initial quality requirements (moisture 3.69%; a TLC band with R_f 0.346 co-migrated with quercetin). Immersion in 4% glucose produced hyperglycaemic zebrafish with blood glucose $>1.5 \times$ baseline, responsive to metformin and associated with low mortality, whereas the diet–glucose combination failed due to $\sim 30\%$ daily mortality. In the efficacy assessment, blood glucose in the negative control rose to 227 ± 5.37 mg/dL (Day 14), while metformin reduced it to 29.5 ± 2.43 mg/dL (Day 14; -73.5%). The extract significantly reduced blood glucose at all tested doses; the 150 mg/L dose achieved 24.5 ± 1.05 mg/dL (-78.0%) and was lower than metformin, whereas the 50–100 mg/L doses yielded 40.17–38.83 mg/dL (-63.9% to -65.1%). One-way ANOVA/Welch analysis showed significant differences between groups and across time points ($p < 0.001$), and Games–Howell post hoc testing confirmed that all extract doses differed significantly from the negative control, with 150 mg/L being more effective than 50–100 mg/L at day 14. These findings indicate that the 4% glucose zebrafish model is optimal for antidiabetic screening and that *Muntingia calabura* leaf extract exhibits significant hypoglycemic activity, supporting its development as a natural antidiabetic drug candidate.

Keywords: *Muntingia calabura*; Zebrafish; Hyperglycemia; Metformin; Flavonoid.

PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) adalah gangguan metabolik yang ditandai hiperglikemia kronis akibat defisiensi sekresi insulin, gangguan kerja insulin, atau keduanya; kondisi ini mengganggu metabolisme karbohidrat, lipid, dan protein (Kharroubi & Darwish, 2015; American Diabetes Association, 2010). Secara global, 10,5% orang dewasa berusia 20–79 tahun hidup dengan DM dan lebih dari 90% di antaranya adalah DM tipe 2. Jumlah kasus DM diperkirakan meningkat dari 537 juta pada 2021 menjadi 643 juta pada 2030 dan 783 juta pada 2045. Indonesia menempati peringkat kelima dengan sekitar 19,5 juta penyintas pada 2021 (International Diabetes

Federation, 2021). Terapi konvensional seperti insulin dan obat hipoglikemik oral seperti metformin dan acarbose masih memiliki keterbatasan, diantaranya potensi ketergantungan dosis dan efek samping seperti hipoglikemia, gangguan gastrointestinal, dan risiko asidosis laktat (Liang *et al.*, 2024). Keterbatasan tersebut mendorong eksplorasi alternatif berbasis tanaman obat yang secara luas digunakan karena profil keamanan yang relatif lebih baik, biaya rendah, dan penerimaan yang cukup baik di kalangan masyarakat (Hussain *et al.*, 2020).

Indonesia memiliki lebih dari 500 spesies tanaman dengan potensi hipoglikemik melalui kandungan

polisakarida, protein, flavonoid, alkaloid, steroid, dan terpenoid (Putrimarlin *et al.*, 2022). Salah satu kandidat yang potensial adalah kersen (*Muntingia calabura* L.), yang secara tradisional digunakan sebagai antiinflamasi dan obat untuk DM (Handayani, 2015; Khasanah *et al.*, 2020; Ilkafah, 2018). Daun *M. calabura* mengandung flavonoid, senyawa fenolat, dan saponin yang dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan yang berpotensi melindungi sel β pankreas. Flavonoid, terutama kuersetin, dilaporkan dapat menghambat transporter glukosa usus (GLUT2), sementara saponin berperan sebagai inhibitor α -glukosidase (Muthmainah *et al.*, 2022; Shafira *et al.*, 2021; Fiana & Oktaria, 2016).

Penelitian sebelumnya mendukung potensi *M. calabura* sebagai antidiabetes. Ekstrak etanol 50% *M. calabura* menunjukkan penghambatan α -glukosidase (IC_{50} $0,46 \pm 0,05$ $\mu\text{g/mL}$) dan α -amilase (IC_{50} $26,39 \pm 3,93$ $\mu\text{g/mL}$) (Zolkeflee *et al.*, 2022). Infusa daun *M. calabura* menurunkan glukosa darah pada mencit hiperglikemia (Febrina & Sari, 2019). Selain itu, ekstrak daun *M. calabura* dilaporkan memperbaiki sel β pankreas pada tikus yang diinduksi aloksan (Andalia *et al.*, 2017). Meskipun demikian, basis bukti *in vivo* terhadap aktivitas antidiabetes *M. calabura* masih

terbatas dan memerlukan validasi dengan model hewan yang efisien dan terstandar.

Ikan zebra (*zebrafish*/*Danio rerio*) merupakan model yang relevan untuk penyakit metabolik karena kesetaraan fisiologi dan regulasi endokrin dengan manusia, tubuh transparan, dan kemudahan pemeliharaan (Zang *et al.*, 2017; Nishio *et al.*, 2012; Cao *et al.*, 2023). Berbagai protokol induksi DM terhadap *zebrafish* misalnya perendaman glukosa, aloksan, dan pakan tinggi lemak telah dilakukan dan dilaporkan memiliki kelebihan dan kekurangan (Cao *et al.*, 2023), sehingga diperlukan optimasi untuk menghasilkan model yang stabil, responsif terhadap kontrol positif, dan bermortalitas rendah. Oleh karena itu, diperlukan optimasi untuk menghasilkan model DM pada *zebrafish* yang stabil, responsif terhadap kontrol positif, dan memiliki mortalitas rendah sehingga layak digunakan sebagai platform skrining *in vivo*.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan (i) mengoptimasi pemodelan DM pada *zebrafish* melalui evaluasi komparatif (head-to-head) protokol induksi yang lazim digunakan, dan (ii) mengevaluasi aktivitas hipoglikemik ekstrak etanol daun *M. calabura* pada model terpilih menggunakan desain dosis bertingkat dengan pengukuran kadar glukosa berulang.

Kebaruan penelitian ini terletak pada penggabungan dua aspek yang sebelumnya belum dilaporkan secara terpadu, yaitu (1) optimasi sistematis beberapa protokol induksi DM *zebrafish* dalam satu kerangka eksperimental yang sama, dan (2) pengujian langsung efikasi ekstrak *M. calabura* pada model yang telah teroptimasi. Berbeda dengan studi terdahulu yang umumnya menggunakan satu jenis hewan pengerat dengan satu protokol induksi dan titik akhir tunggal, desain ini memungkinkan pemilihan model yang paling stabil dan sensitif terhadap kontrol positif sebelum uji ekstrak dilakukan, sehingga meningkatkan validitas translasi dan kekuatan inferensi efek antidiabetes *M. calabura*. Secara praktis, penelitian ini diharapkan dapat menyediakan platform skrining *in vivo* yang cepat, hemat biaya, dan mudah direplikasi sekaligus memperkuat dasar ilmiah pengembangan fitofarmaka antidiabetes berbasis biodiversitas Indonesia.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat khusus. Accu-Chek Instant® meter dan Accu-Chek® test strip (Roche); moisture analyzer (Yamata, tipe YMA 100); akuarium kaca 4–5 L dengan aerator, dan termometer air; plat KLT silika gel GF254.

Bahan. Ekstrak etanol daun *Muntingia calabura* L.; toluena p.a., etil asetat p.a., asam format p.a. ($\geq 98\%$), etanol 96%; reagen sitroborat (campuran asam sitrat dan asam borat); standar kuersetin ($\geq 98\%$); glukosa anhidrat p.a.; pakan ikan Otohime B2 (Marubeni Nisshin);

Hewan uji. Zebrafish dewasa (*Danio rerio*) galur *wild-type*, umur 5-6 bulan, determinasi taksonomi dilakukan di Zoologi ITB. Aklimatisasi 14 hari pada suhu 28 ± 1 °C, pH 6,8–7,0, siklus cahaya 14 jam terang : 10 jam gelap, aerasi kontinu, pakan standar 2–3×/hari. Penelitian disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Universitas Padjadjaran (No. 66/UN6.KEP/EC/2025).

Jalannya Penelitian

1. Pemeriksaan Kualitas Ekstrak

1.1 Kadar Air

Sebanyak 0,500 g ekstrak ditimbang pada pan moisture analyzer yang telah ditara dengan aluminium foil, selanjutnya dilakukan pemanasan otomatis hingga suhu mencapai 105 °C hingga diperoleh massa konstan, hasil dinyatakan sebagai % b/b.

1.2 KLT Identitas Flavonoid

Plat silika gel GF254 dipanaskan 110 °C selama 15 menit. Chamber dijenuhkan 30 menit dengan fase gerak toluena : etil asetat : asam format (7:2,5:0,5) dengan volume total 10 ml. Sampel (ekstrak dilarutkan etanol 96%) dan kuersetin 200 ppm ditotol pada

garis awal (lebar spot ± 5 mm), dielusi hingga jarak rambat 7,5 cm. Plat dikeringkan, diobservasi pada UV 254/366 nm, kemudian disemprot sitroborat. Bercak positif flavonoid ditandai fluoresensi kuning-kehijauan. Rf dihitung dan dibandingkan dengan pembanding (Hidayah, A.A.P. & Hidayatullah, M.H.).

1.3 Optimasi Model Diabetes Melitus (DM)

Pengujian dilakukan dengan dua pendekatan induksi untuk menentukan model paling stabil dan aman:

1.3.1 Perendaman Glukosa 4% (w/v)

Larutan glukosa disiapkan segar dengan air deklorinasi. Sebanyak 30 ekor ikan dipelihara dalam 3 L media/akuarium, media diganti 24-jam sekali. Pakan dihentikan dan medium diganti dengan air biasa 6-8 jam sebelum pengukuran glukosa

1.3.2 Kombinasi Pakan Tinggi Lemak + Glukosa 2%

Sebanyak 30 ekor ikan dipelihara dalam 2 L media glukosa 2% dan diberi pakan Otohime B2 berlebih (± 120 mg/ikan/hari, dibagi 6 kali) hingga 3 minggu. Pakan dihentikan dan medim diganti dengan air biasa 12 jam sebelum pengukuran glukosa

Kriteria keberhasilan model: (i) glukosa 6- meningkat $\geq 1,5\times$ dibanding kelompok normal; (ii) fenotipe bertahan setelah *wash-out* singkat; (iii) respons

terhadap kontrol positif (metformin); (iv) mortalitas harian rendah. Model dengan performa terbaik digunakan pada uji efikasi.

1.4 Verifikasi Persistensi Hiperglikemia

Ikan hiperglikemik dari model terpilih dipindahkan ke media bebas glukosa 5 L selama 7 hari (*wash-out*) dan diberi pakan standar 3 kali/hari. Kadar glukosa puasa dipantau secara berkala pada hari ke-0 *wash-out* (H_0 ", segera sebelum pemindahan), hari ke-3, ke-5, dan ke-7 setelah puasa 6–8 jam. Fenotipe DM dianggap stabil dan persisten apabila rata-rata kadar glukosa selama periode *wash-out* tetap $\geq 1,5\times$ kadar glukosa kelompok normal dan tidak menunjukkan penurunan $>20\%$ dari nilai H_0 ". Ikan yang memenuhi kriteria ini kemudian digunakan dalam uji aktivitas hipoglikemik.

1.5 Rancangan Uji Aktivitas Hipoglikemik

Desain *posttest-only* dengan *simple random sampling*. Ukuran sampel mengikuti aturan uji ANOVA satu arah $p(n-1) \geq 15$ (p = jumlah kelompok), dengan 7 kelompok, sehingga diperoleh $n \geq 4$ ekor/kelompok. Pada pengujian ini digunakan 6 ekor/kelompok untuk mengantisipasi atrisi. Hewan uji dibagi menjadi 6 kelompok berikut: (1) kelompok normal (tanpa induksi), (2) kelompok kontrol negatif (DM, model terpilih), (3) kelompok kontrol positif (metformin, 1,65 mg/dL atau 20 μ M), (4–6)

kelompok uji yang diberikan ekstrak daun *Muntingia calabura* 50, 100, 150 mg/L.

1.6 Penyiapan dan Pemberian Larutan Uji

Stok ekstrak disiapkan dalam etanol 96% ($\leq 0,1\%$ v/v dalam media akhir), dilindungi dari cahaya; metformin dilarutkan dalam air. Pemberian ekstrak dan metformin dilakukan melalui perendaman dalam media (*bath immersion*), yaitu dengan melarutkan senyawa uji pada air pemeliharaan sehingga ikan terpapar secara kontinu. Metode perendaman merupakan teknik pemberian obat yang lazim pada zebrafish karena senyawa terlarut dapat diserap ke dalam sirkulasi sistemik terutama melalui insang dan kulit, serta melalui saluran cerna akibat tertelannya air selama respirasi dan makan (Fries *et al.* 2023; Choul *et al.*, 2023). Media perlakuan diganti setiap hari ($\geq 80\%$ volume) untuk menjaga konsentrasi senyawa dan kualitas air. Jadwal pengukuran glukosa ditetapkan pada hari ke-0, 3, 5, 7, dan 14 setelah puasa 6–8 jam.

1.7 Pengambilan Darah dan Penetapan Glukosa

Ikan dianestesi dingin dengan perendaman dalam campuran es-air (± 4 – 10 °C) selama 1–2 detik hingga gerak minimal, sesuai rekomendasi penggunaan cold anesthesia yang aman untuk prosedur singkat pada ikan kecil. Sayatan kecil dibuat pada

regio oksipital/caudal peduncle menggunakan jarum 30G untuk mengakses pembuluh darah kaudal, kemudian 1–3 μ L darah kapiler dibiarkan menetes dan diambil langsung dengan ujung test strip (Matthews & Varga 2012). Sampel segera dibaca menggunakan glukometer Accu-Chek Instant®. Prosedur pengambilan darah dari pedunkel kaudal dengan volume mikrosampel dan pengukuran glukosa menggunakan glukometer genggam telah divalidasi pada zebrafish dewasa dan terbukti memberikan hasil yang reliabel untuk analisis glukosa darah. Hasil dinyatakan dalam mg/dL.

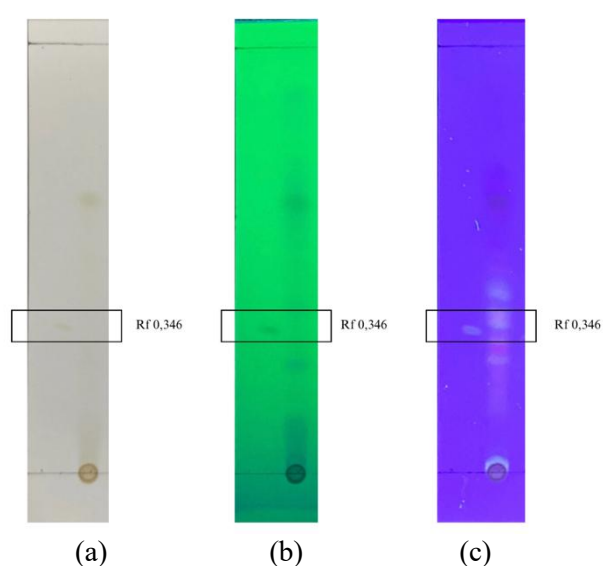
1.8 Evaluasi Efektivitas dan Analisis Data

Efek hipoglikemik dihitung sebagai perubahan absolut dan persentase relatif terhadap kontrol negatif pada tiap titik waktu. Pola dose-response (50–150 mg/L) dan time-dependent (H0–H14). Data diringkas sebagai mean $\pm$ SD dan diuji normalitas (Shapiro–Wilk) dan homogenitas varians (Levene). Jika asumsi terpenuhi maka analisis dilanjutkan dengan ANOVA satu arah ($\alpha = 0,05$) yang diikuti Tukey HSD. Bila varians tidak homogen, analisis dilanjutkan dengan Games–Howell. Bila normalitas tidak terpenuhi, analisis dilakukan dengan Kruskal–Wallis dan uji lanjut Mann–Whitney (koreksi Holm). Hasil analisis

disajikan dengan nilai 95% CI dan ukuran efek (η^2 untuk ANOVA; r untuk uji non-parametrik) ketika relevan. Analisis dilakukan menggunakan SPSS versi 29.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Pemeriksaan Kualitas Ekstrak Daun *M.calabura*



Gambar 1. Pengamatan hasil KLT identifikasi senyawa flavonoid pada (a) sinar tampak, (b) UV 254 nm, dan (c) UV 366 nm

Keterangan :

Sampel 1 : Standar Kuersetin

Sampel 2 : *Muntingia calabura* L.

Pemeriksaan mutu menunjukkan kadar air ekstrak sebesar 3,69% yang berada di bawah ambang 10%. Analisis KLT pada silika gel GF254 dengan fase gerak toluena:etil asetat:asam format (7:2,5:0,5) menampilkan bercak yang ko-migrasi dengan standar kuersetin dengan nilai R_f 0,346. Visualisasi menggunakan sitroborat di bawah UV 366 nm menghasilkan fluoresensi

kuning-hijau kebiruan konsisten dengan flavonol (Gambar 1). Hasil ini menegaskan keberadaan flavonoid sebagai penanda mutu ekstrak yang relevan dengan aktivitas biologis.

2. Aktivitas Hipoglikemik Ekstrak Daun *M.calabura*

Tabel 1. Kadar glukosa darah kontrol normal dan kontrol negatif (mg/dL)

Kelompok	H0	H3	H5	H7	H14
Kontrol Normal	33.8 3 ± 4.45	46.5 0 ± 1.64	45.6 7 ± 3.98	48.6 7 ± 2.50	53.5 0 ± 2.43
Kontrol negatif(Induksi glukosa 4%)	33.8 3 ± 4.45	111. 17 ± 6.11	128. 00 ± 2.53	183. 17 ± 5.31	227. 00 ± 5.37

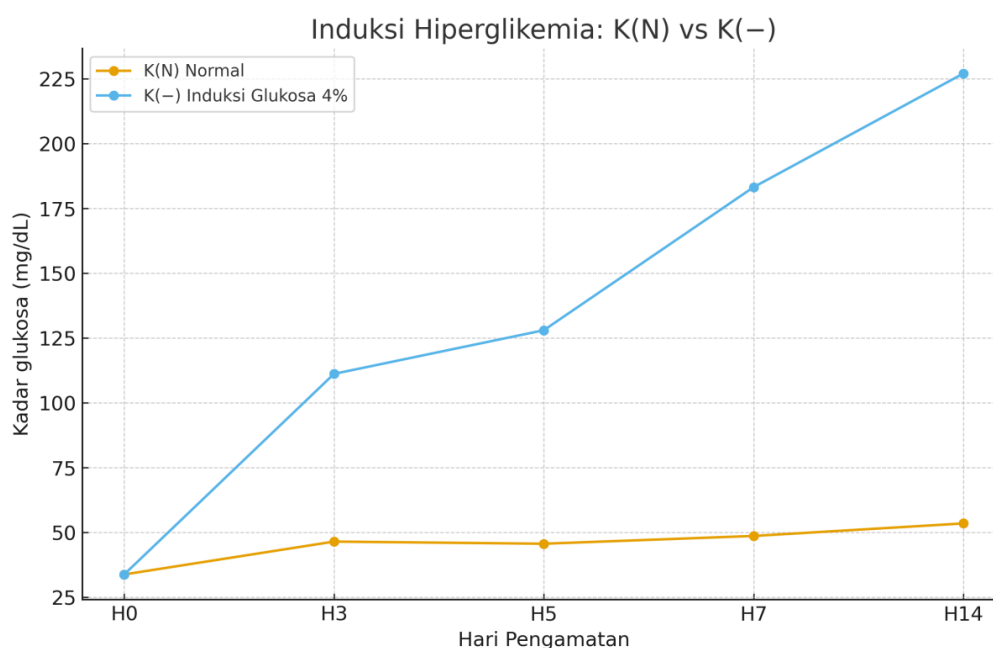
Dua pendekatan pemodelan dievaluasi pada tahap optimasi. Induksi pakan tinggi lemak + glukosa 2% tidak dapat dianalisis karena mortalitas sangat tinggi (30%/hari). Oleh sebab itu, data tidak ditampilkan dan pendekatan ini tidak digunakan untuk uji efikasi. Hanya hasil induksi glukosa 4% yang dilaporkan. Hasil induksi diabetes terhadap zebrafish ditampilkan pada Tabel 1. Kelompok kontrol negatif (K(-)) menunjukkan peningkatan glukosa progresif dari H3 hingga H14, mencapai $227 \pm 5,37$ mg/dL pada H14. Sebaliknya, kelompok normal K(N) berada pada rentang fisiologis dan cenderung stabil. Perbedaan lintas-kelompok dan lintas-waktu bermakna secara

statistik, menandakan model glukosa 4% andal sebagai dasar pengujian efikasi.

Catatan statistik (Tabel 1): Data disajikan sebagai mean $\pm$ SD; n=6 per kelompok per waktu. Peningkatan K(–) melebihi $1,5 \times$ K(N) sejak H3, mengonfirmasi keberhasilan induksi hiperglikemia. Uji Shapiro–Wilk menunjukkan distribusi normal; beberapa kombinasi tidak homogen (Levene), sehingga analisis utama menggunakan ANOVA satu arah (Welch bila perlu) dengan uji lanjut Games–Howell ($\alpha=0,05$).

Grafik pada Gambar 1 menunjukkan bahwa kelompok kontrol normal (KN)

berada pada rentang fisiologis dan hanya menunjukkan kenaikan ringan dari 33,8 mg/dL (H0) menjadi 53,5 mg/dL (H14) yang dapat dikaitkan dengan variabilitas biologis, asupan pakan, atau stres pengukuran, tanpa indikasi hiperglikemia. Sebaliknya, kelompok terinduksi glukosa 4% (K–) menunjukkan peningkatan glukosa yang tajam dan berkelanjutan dari 33,8 mg/dL (H0) menjadi 111,2 mg/dL (H3) yang memenuhi kriteria keberhasilan model yaitu kadar glukosa darah $>1,5 \times$ nilai awal dan tidak turun hingga H14 yang menegaskan persistensi hiperglikemia.



Gambar 2. Induksi hiperglikemia pada zebrafish. Perbandingan K(N) dan K(–) dari H0 hingga H14.

Tabel 2 menunjukkan bahwa kontrol positif metformin menurunkan glukosa dengan cepat sejak H3, memvalidasi sensitivitas model hewan uji. Ekstrak daun

M. calabura menurunkan glukosa secara signifikan pada seluruh dosis dan bersifat *time-dependent*. Dosis 150 mg/L memberikan penurunan paling besar hingga

24,50 mg/dL pada H14. Pola ini mengindikasikan adanya komponen aktif yang bekerja melalui kombinasi modulasi

ambilan glukosa perifer (*peripheral glucose uptake*) dan penghambatan pencernaan karbohidrat.

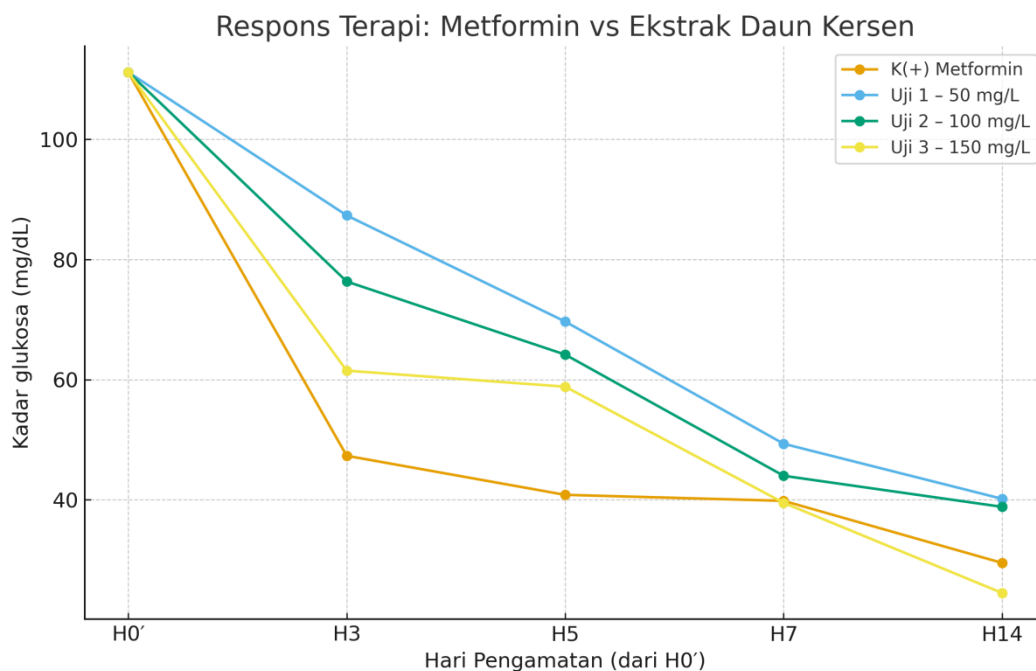
Tabel 2. Kadar glukosa darah K(+) vs kelompok uji (50–150 mg/L) dari baseline H0' (mg/dL)

Kelompok	H0	H0'	H3	H5	H7	H14
K(+) – Metformin	33.83 ± 4.45	111.17 ± 6.11	47.33 ± 3.27	40.83 ± 2.32	39.83 ± 4.17	29.50 ± 2.43
Uji 1 – 50 mg/L	33.83 ± 4.45	111.17 ± 6.11	87.33 ± 3.50	69.67 ± 1.63	49.33 ± 2.58	40.17 ± 3.60
Uji 2 – 100 mg/L	33.83 ± 4.45	111.17 ± 6.11	76.33 ± 4.46	64.17 ± 1.17	44.00 ± 1.41	38.83 ± 1.72
Uji 3 – 150 mg/L	33.83 ± 4.45	111.17 ± 6.11	61.50 ± 3.51	58.83 ± 1.83	39.50 ± 2.74	24.50 ± 1.05

Analisis ANOVA satu arah menunjukkan perbedaan bermakna antar-kelompok pada setiap titik waktu dan antar-waktu dalam tiap kelompok ($p < 0,001$). Uji Games–Howell mengonfirmasi bahwa seluruh dosis ekstrak berbeda bermakna terhadap K(–) pada H3–H14. Dosis 150 mg/L berbeda bermakna terhadap 50–100 mg/L pada H14, sedangkan 50 vs 100 mg/L tidak berbeda bermakna ($\alpha = 0,05$).

Grafik pada Gambar 3 menampilkan dinamika penurunan glukosa darah zebrafish pasca-induksi glukosa 4% (baseline H0' 11,2 mg/dL seragam untuk semua kelompok) hingga hari ke-14 pada empat kelompok uji yaitu metformin (K+), serta ekstrak daun kersen dosis 50, 100, dan 150 mg/L. Pada fase awal (H0'–H3), metformin menunjukkan penurunan tercepat (47,3 mg/dL pada H3), menandakan validitas model dan sensitivitas

terhadap obat rujukan. Ekstrak memicu penurunan bertingkat sesuai dosis yang ini memperlihatkan onset efek yang nyata namun lebih lambat dibanding metformin. Pada hari ke-7 semua kelompok menunjukkan penurunan gula darah yang konsisten, dengan kelompok uji dosis 150 mg/L terus mendekati metformin. Tren ini konsisten dengan efek bergantung-waktu dan tendensi *dose–response*. Pada hari ke-14, penurunan kumulatif dosis 150 mg/L sebesar 78,0%), lebih rendah daripada metformin. Konvergensi kurva dosis 50 dan 100 mg/L mengindikasikan kemungkinan ambang efektivitas pada rentang dosis tersebut atau keterbatasan resolusi statistik untuk membedakan keduanya, sedangkan dosis 150 mg/L menunjukkan efek superior yang berkelanjutan hingga H14.



Gambar 3. Respons metformin dan ekstrak daun kersen terhadap hiperglikemia dari baseline H0' hingga H14.

Ekstrak etanol daun *M. calabura* menunjukkan efikasi hipoglikemik yang kuat dan konsisten, dengan kecenderungan dose-response. Hasil ini selaras dengan bukti *in vitro* penghambatan enzim pencernaan karbohidrat dan laporan *in vivo* mengenai proteksi/pemulihan sel β pankreas. Variabilitas yang rendah memperkuat reliabilitas prosedur, sementara performa dosis 150 mg/L mengindikasikan potensi untuk ditindaklanjuti pada studi fraksinasi, penetapan penanda kimia, toksisitas subkronik, dan validasi pada model mamalia.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perendaman *zebrafish* pada glukosa 4% menghasilkan hiperglikemia persisten dan responsif terhadap metformin, sehingga valid sebagai platform uji efikasi

antihiperglikemik. Pada model ini, ekstrak etanol daun *M. calabura* menurunkan glukosa darah secara bermakna pada seluruh dosis, dengan pola menurun yang jelas dari hari ke-3 hingga hari ke-14 dan kecenderungan *dose-response* dimana dosis 150 mg/L memberikan penurunan terbesar dan pada hari ke-14 bahkan lebih rendah daripada metformin. Temuan ini konsisten dengan bukti *in vitro* bahwa ekstrak daun *M. calabura* secara poten menghambat α -glukosidase dan α -amilase, serta memiliki profil polifenol/flavonoid yang kaya berdasarkan hasil UHPLC-ESI-MS/MS (Zolkeflee dkk., 2022), dan sejalan dengan uji *in vivo* pada mencit diabetik aloksan yang melaporkan penurunan glukosa serta perbaikan bobot tubuh (Solikhah dkk., 2021).

Dari sisi fitokimia, daun *M. calabura* diketahui mengandung flavonoid (turunan kuersetin/kaempferol), fenolat, dan komponen lain yang relevan dengan aktivitas antioksidan dan antihiperglikemik (Zolkeflee dkk., 2022). Sementara itu, buah *M. calabura* juga dilaporkan kaya fenolat (galat sebagai salah satu komponen utama) dan menunjukkan kapasitas antioksidan tinggi, memperkuat landasan kimia-farmakologi spesies ini sebagai kandidat antidiabetes alami (Pereira dkk., 2018).

Secara mekanistik, kuersetin, flavonol yang lazim terdeteksi pada ekstrak *M. calabura*, bekerja melalui beberapa target yang saling melengkapi. Pertama, inhibisi enzim pencernaan karbohidrat (α -glukosidase/ α -amilase) yang menurunkan beban glukosa pasca-prandial (Günel-Köroğlu dkk., 2021; Barber dkk., 2021). Kedua, aktivasi jalur AMPK yang meningkatkan pengambilan glukosa perifer (GLUT4), menekan glukoneogenesis hepatis (PEPCK, G6Pase), dan memperbaiki sensitivitas insulin (Dhanya dkk., 2017; Dhanya dkk., 2022; Ansari dkk., 2022). Ketiga, proteksi sel β melalui efek antioksidan dan antiinflamasi sehingga mempertahankan kapasitas sekresi insulin (Ansari dkk., 2022). Pola penurunan yang relatif lebih lambat pada awal pemberian ekstrak dibanding metformin namun

berlanjut hingga hari ke-14, khususnya pada dosis 150 mg/L, selaras dengan gabungan mekanisme tersebut.

Perbandingan dengan penelitian sebelumnya memperlihatkan konsistensi lintas-model. Pada mencit yang diinduksi streptozotocin atau aloksan, ekstrak daun *M. calabura* menurunkan glukosa dan memberi indikasi proteksi pankreas (Solikhah dkk., 2021), sementara kajian metabolomik pada model STZ-NA mengindikasikan modulasi lintasan metabolik yang sejalan dengan perbaikan glikemia (Zolkeflee dkk., 2023). Berbeda dari model diabetogenik sitotoksik, platform zebrafish imersi glukosa yang digunakan di sini menonjol karena laju induksi cepat, mortalitas rendah, dan sensitivitas yang baik terhadap obat kontrol, sehingga efektif untuk *primary screening* kandidat antidiabetes sebelum konfirmasi pada mamalia.

Dari perspektif pengembangan produk herbal antidiabetes, data ini menegaskan beberapa prioritas translasional diantaranya standarisasi ekstrak berbasis penanda kimia (misalnya kadar kuersetin atau sidik jari (*fingerprint*) flavonoid dengan HPTLC/UPLC) yang berkorelasi dengan aktivitas enzimatik dan *in vivo*, konfirmasi dosis-respon dan efektivitas pada model mamalia diet-induced/insulin-resistant, uji toksisitas bertahap sesuai pedoman OECD,

termasuk potensi interaksi dengan obat hipoglikemik, dan verifikasi mekanisme di jaringan sasaran (aktivasi AMPK, translokasi GLUT4, penekanan glukoneogenesis, dan inhibisi enzim pencernaan karbohidrat) sebagai dasar kualitas, keamanan, dan khasiat menuju fitofarmaka.

Pendekatan kombinasi pakan tinggi lemak dan glukosa 2% tidak dianalisis lebih lanjut karena menyebabkan mortalitas ikan yang sangat tinggi (data tidak ditampilkan). Oleh karena itu, hasil penelitian ini difokuskan pada model perendaman glukosa 4% yang terbukti stabil. Keterbatasan tersebut tidak mengubah kesimpulan utama mengenai efektivitas ekstrak daun *M. calabura*, tetapi menunjukkan bahwa kondisi media dan pemeliharaan perlu dioptimalkan terlebih dahulu jika hendak mengembangkan model sindrom metabolik berbasis diet pada zebrafish.

Secara praktis, temuan ini menegaskan bahwa model perendaman glukosa 4% pada zebrafish layak digunakan sebagai platform skrining *in vivo* yang relatif sederhana, stabil, dan hemat hewan untuk mengevaluasi kandidat antidiabetes berbasis bahan alam, termasuk pengembangan fitofarmaka dari daun *M. calabura*. Di sisi lain, kegagalan model pakan tinggi lemak + glukosa 2% karena mortalitas tinggi mengindikasikan perlunya optimasi lebih lanjut terhadap

komposisi diet, konsentrasi glukosa, dan kondisi pemeliharaan bila ingin memodelkan sindrom metabolik terkait diet. Studi lanjutan diperlukan untuk mengarahkan fraksinasi dan identifikasi senyawa aktif, penetapan penanda kimia, evaluasi toksisitas subkronik, serta konfirmasi mekanisme dan efikasi pada model mamalia sebelum ekstrak atau fraksi *M. calabura* dapat dipertimbangkan menuju pengembangan klinis.

KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa pemodelan diabetes pada zebrafish melalui perendaman glukosa 4% merupakan pendekatan yang paling optimal, ditandai dengan pembentukan hiperglikemia yang cepat ($\geq 1,5 \times$ nilai awal sejak H3), bersifat persisten hingga hari ke-14, responsif terhadap metformin, serta disertai mortalitas rendah. Sebaliknya, pendekatan kombinasi pakan tinggi lemak dan glukosa 2% tidak dapat dianalisis lebih lanjut karena mortalitas ikan yang sangat tinggi. Ekstrak etanol daun *Muntingia calabura* yang digunakan memenuhi kriteria mutu awal (kadar air 3,69% dan identitas KLT dengan Rf 0,346 yang ko-migrasi dengan kuersetin) dan menunjukkan aktivitas hipoglikemik bermakna pada seluruh dosis yang diuji (50–150 mg/L) dengan pola bergantung waktu. Dosis 150 mg/L menghasilkan kadar glukosa

24,5 ± 1,05 mg/dL pada H14 (-78,0% dari H0'), yang lebih rendah dibanding metformin (29,5 ± 2,43 mg/dL). Analisis statistik (ANOVA/Welch dilanjutkan Games-Howell, $\alpha = 0,05$) mengonfirmasi perbedaan signifikan antar-kelompok dan antar-waktu; seluruh dosis berbeda bermakna terhadap kontrol negatif, dan dosis 150 mg/L lebih efektif dibanding 50–100 mg/L pada hari ke-14.

PENDANAAN DAN UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Kementrian Pendidikan Tinggi, Sains, dan Teknologi melalui Skema Hibah Penelitian Fundamental Reguler tahun 2025 untuk RMF dengan Nomor kontrak 1635/UN6.3.1/PT.00/2025.

DAFTAR PUSTAKA

American Diabetes Association 2010. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes care*, 33 Suppl 1(Suppl 1), S62–S69

Andalia N, Safrida, Sabri M. 2017. Efektivitas Pemberian Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Terhadap Struktur Mikroskopis Sel Beta Pankreas Tikus Hiperglikemik. *Jurnal EduBio Tropika*, 5(1): 49-53

Ansari P, Choudhury ST, Seidel V, Rahman AB, Aziz MA, Richi AE, Rahman A, Jafrin UH, Hannan JMA, Abdel-Wahab YHA. Therapeutic Potential of Quercetin in the Management of Type-2 Diabetes Mellitus. *Life (Basel)*. 2022 Jul 28;12(8):1146. doi: 10.3390/life12081146. PMID: 36013325; PMCID: PMC9409999.

Cao Y, Chen Q, Liu Y, Jin L, Peng R. 2023. Research Progress on the Construction and Application of a Diabetic Zebrafish Model. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(6): 5195.

Chaoul V, Dib EY, Bedran J, Khoury C, Shmoury O, Harb F, Soueid J. 2023. Assessing Drug Administration Techniques in Zebrafish Models of Neurological Disease. *Int J Mol Sci*. Vol 4;24(19):14898. doi: 10.3390/ijms241914898. PMID: 37834345; PMCID: PMC10573323.

Dhanya R, Arya AD, Nisha P, Jayamurthy P. Quercetin, a Lead Compound against Type 2 Diabetes Ameliorates Glucose Uptake via AMPK Pathway in Skeletal Muscle Cell Line. *Front Pharmacol*. 2017 Jun 8;8:336. doi: 10.3389/fphar.2017.00336. PMID: 28642704; PMCID: PMC5462925.

- Dhanya R. Quercetin for managing type 2 diabetes and its complications, an insight into multitarget therapy. *Biomed Pharmacother.* 2022 Feb;146:112560. doi: 10.1016/j.biopha.2021.112560. Epub 2021 Dec 22. PMID: 34953390.
- Entezari M, Hashemi D, Taheriazam A, Zabolian A, Mohammadi S, Fakhri F, Hashemi M, Hushmandi K, Ashrafizadeh M, Zarrabi A, Ertas YN, Mirzaei S, Samarghandian S. AMPK signaling in diabetes mellitus, insulin resistance and diabetic complications: A pre-clinical and clinical investigation. *Biomed Pharmacother.* 2022 Feb;146:112563. doi: 10.1016/j.biopha.2021.112563. Epub 2021 Dec 29. PMID: 35062059.
- Febrina, M., & Sari, S.F. 2019. Pengaruh Pemberian Infusa Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Terhadap Kadar Glukosa Darah Mencit Putih (*Mus musculus*) yang Diberi Beban Glukosa. *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*, 8(2): 60-66.
- Fiana, N., & Oktaria, D. 2016. The Effect of Saponin Content in Mahkota Dewa Fruit Flesh (*Phaleria macrocarpa*) on Decreasing Blood Glucose Levels. *Journal of Majority*, 5 (4):128–132
- Fries, Franziska, Andreas M. Kany, Sari Rasheed, Anna K. H. Hirsch, Rolf Müller, and Jennifer Herrmann. 2023. Impact of Drug Administration Routes on the *In Vivo* Efficacy of the Natural Product Sorangicin A Using a *Staphylococcus aureus* Infection Model in Zebrafish Embryos. *International Journal of Molecular Sciences* 24, no. 16: 12791. <https://doi.org/10.3390/ijms241612791>
- Günel-Köroğlu, D., *et al.* 2021. Quercetin: Potential Antidiabetic Effects through Enzyme Inhibition. *Food Science & Nutrition*. <https://doi.org/10.1002/fs.h3.12066>
- Handayani V. 2015. Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Terhadap Bakteri Penyebab Jerawat. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(1):94-96.
- Hidayah, A.A.P. & Hidayatullah, M.H. 2025. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) terhadap *Bacillus cereus* dan *Shigella sonnei* serta Bioautografinya.” *Usadha: Journal of Pharmacy*, 4(3).
- Hussain SA, Namilikonda MG, Chandra TK, Pasha A. 2020. A Review on Medicinal

- Plants with Anti-Diabetic Activity. *International Journal of Advanced Research*, 8(3):902–917.
- Ilkafah. 2018. Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Sebagai Alternatif Terapi pada Penderita Gout Arthritis. *Pharmacy Medical Journal*, 1(1):33-41.
- International Diabetes Federation. *IDF Diabetes Atlas, 10th Edition. Journal of Experimental Biology*. 2021. <https://doi.org/https://doi.org/10.1242/jeb.64.3.665>
- Kharroubi, A.T., & Darwish, H.M. 2015. Diabetes Mellitus: The Epidemic of the Century. *World Journal of Diabetes*, 6(6):850-867.
- Khasanah HR, Laksono H, Widelia PW. 2020. Kadar Gula Darah Penderita Diabetes Mellitus Tipe II yang Mengonsumsi Air Rebusan Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) di Curup Kota Bengkulu. *Avicenna*. 15(1):1-10.
- Liang H et al. 2024. Corn Stigma Ameliorates Hyperglycemia in Zebrafish and GK Rats of Type 2 Diabetes. *Journal of Ethnopharmacology* 325:117746.
- Muthmainah SM, Romdhoni MF, Ningrom IC, Annisa Y. 2022. The Effect of Kersen (*Muntingia calabura*) Extract on the Number of Pancreatic Beta Cells: Experiment Study in Rat. *Herb-Medicine Journal*, 5(4):17-22.
- Nishio S et al. 2012. Fasting Induces CART Down-Regulation in the Zebrafish Nervous System in a Cannabinoid Receptor 1-Dependent Manner. *Molecular endocrinology (Baltimore, Md.)* 26(8):1316–1326.
- Pereira GA, Arruda HS, de Moraes DR, Eberlin MN, Pastore GM. 2018. Carbohydrates, volatile and phenolic compounds composition, and antioxidant activity of calabura (*Muntingia calabura* L.) fruit. *Food Res Int*;108:264-273. doi: 10.1016/j.foodres.2018.03.046..
- Pramono, V. J., & Santosa, R. 2014. Effect of *Muntingia calabura* Fruit Extract on STZ-Induced Rats. *Journal of the Indonesian Veterinary Sciences*; 32,(2). doi: [10.22146/jsv.6556](https://doi.org/10.22146/jsv.6556)
- Putrimarlin I, Hasanuddin H, Safrida S, Wardiah W, Andayani D. 2022. Utilization of Plant as A Drug for Diabetes Mellitus by the Community of Beutong District, Nagan Raya Regency. *Biosaintifika*, 14(2): 180-190.
- Shafira K, Bakar A, Wahyuni ED. 2021. Effectiveness of Giving *Muntingia calabura* Leaves and *Muntingia*

- calabura* Fruit (*Muntingia calabura* L) on Blood Sugar Levels in Type 2 Diabetes Mellitus Patients: Literature Review. *Critical Medical and Surgical Nursing Journal*, 10(1).
- Solikhah, T. I., *et al.* 2021. Effect of *M. calabura* Leaf Extract on Blood Glucose and Body Weight of Alloxan-Induced Diabetic Mice. *Pharmacognosy Journal*. 13,6,1450-1455. doi:[10.5530/pj.2021.13.184](https://doi.org/10.5530/pj.2021.13.184)
- Zang L, Shimada Y, Nishimura N. 2017. Development of a Novel Zebrafish Model for Type 2 Diabetes Mellitus. *Scientific Reports*, 7(1461):1-11.
- Zolkeflee NKZ, Ramli NS, Azlan A, Abas F. 2022. In Vitro Anti-Diabetic Activities and UHPLC-ESI-MS/MS Profile of *Muntingia calabura* Leaves Extract. *Molecules* (Basel, Switzerland), 27(1):287.
- Zolkeflee NKZ, Wong PL, Maulidiani M, Ramli NS, Azlan A, Abas F. 2023. Metabolic Alterations in Streptozotocin-nicotinamide-induced Diabetic Rats Treated with *Muntingia calabura* Extract via ¹H-NMR-based Metabolomics. *Planta Med*; 89(9):916-934. doi: 10.1055/a-2053-0950.