

AKTIVITAS HIPOGLIKEMIK SNEDDS EKSTRAK ETANOL BUAH HARENDONG (*Melastoma affine* D.DON) PADA IKAN ZEBRA (*Danio rerio*) YANG DIINDUKSI ALOKSAN

Hypoglycemic Activity of Harendong (Melastoma affine D.Don) Fruit Ethanolic Extract SNEDDS in Alloxan-Induced Zebrafish (Danio rerio)

Arnetta Novitalia^{1*}), Isnatin Miladiyah²⁾

¹Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Indonesia, Jl. Kaliurang KM 14.5, Yogyakarta 55584, Indonesia

²Departemen Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Indonesia, Jl. Kaliurang KM 14.5, Yogyakarta 55584, Indonesia

*e-mail: arnettanovitalia@gmail.com

ABSTRACT

Diabetes mellitus is a chronic disease with high prevalence in Indonesia and is predicted that it will continue to increase. Harendong fruit (*Melastoma affine* D.Don) contains flavonoid compounds anthocyanins that can potentially have hypoglycemic activity in diabetes mellitus. The Self Nano-Emulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) can increase the bioavailability of the active substance of the compound. This study aimed to determine the hypoglycemic activity of harendong fruit ethanolic extract SNEDDS in zebrafish (*Danio rerio*). Harendong fruit extraction using the maceration method, the extract is then formulated in SNEDDS by adding kollisolv, tween 20, and glycerin. The SNEDDS characterization with 77.8 nm particle size, 0.123 D polydispersity index, -32.1 mV zeta potential, and 74.567% transmittance. Hypoglycemic activity test using zebrafish induced alloxan 300 mg for 24 hours and immersion in 2% glucose solution for seven days. In this study 6 groups consisted of normal group, negative control (without treatment), positive control (metformin 100 μ M), and treatment (SNEDDS) with varying doses of H I (100 mg/2L), H II (200 mg/2L), H III (300 mg/2L). The average value of fasting blood glucose in the normal group was 70.9 ± 3.7 mg/dL; negative control 208.9 ± 23.2 mg/dL; positive control 68.7 ± 4.3 mg/dL; H I 100 mg/2L SNEDDS 92.8 ± 8.07 mg/dL; H II 200 mg/2L SNEDDS 65.2 ± 2.2 mg/dL; H III 300 mg/2L SNEDDS 60.7 ± 1.8 mg/dL. The hypoglycemic activity of harendong fruit ethanolic extract SNEDDS was found at a dose of SNEDDS 200 mg/2L and SNEDDS 300 mg/2L.

Keywords: hypoglycemic, *Melastoma affine* D.Don, SNEDDS

ABSTRAK

Diabetes melitus merupakan penyakit kronik dengan prevalensi tinggi di Indonesia dan diperkirakan akan terus mengalami peningkatan. Buah harendong (*Melastoma affine* D.Don) mempunyai kandungan senyawa flavonoid berupa antosianin yang berpotensi memiliki aktivitas hipoglikemik pada diabetes melitus. Sediaan *Self Nano-Emulsifying Drug Delivery System* (SNEDDS) dapat meningkatkan ketersediaan hayati zat aktif senyawa. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas hipoglikemik SNEDDS ekstrak etanol buah harendong pada ikan zebra. Proses ekstraksi menggunakan metode maserasi, ekstrak yang dihasilkan selanjutnya diformulasikan dalam sediaan SNEDDS dengan menambahkan kollisolv, tween 20 dan gliserin (2:6:1). Karakterisasi SNEDDS ekstrak etanol buah harendong dengan hasil ukuran partikel 77,8 nm, *polydispersity index* 0,123 D, zeta potensial -32,1 mV serta persen transmisi 74,57%. Uji aktivitas hipoglikemik menggunakan ikan zebra yang diinduksi aloksan 300 mg selama 24 jam dan perendaman larutan glukosa 2% selama 7 hari. Pada penelitian ini terdapat 6 kelompok terdiri dari kelompok normal, kontrol negatif (tanpa

Received : 28-08-2021
Revised : 04-02-2022
Accepted : 09-06-2022
Publish : 01-07-2022

perlakuan), kontrol positif (metformin 100 μM) dan perlakuan (SNEDDS) dengan variasi dosis kelompok H I (100 mg/2L), H II (200 mg/2L), H III (300 mg/2L). Nilai rata-rata kadar glukosa darah puasa (KGDP) kelompok normal $70,9 \pm 3,7$ mg/dL; kontrol negatif $208,9 \pm 23,2$ mg/dL; kontrol positif $68,7 \pm 4,3$ mg/dL; H I 100 mg/2L $92,8 \pm 8,07$ mg/dL; H II 200 mg/2L $65,2 \pm 2,2$ mg/dL; H III 300 mg/2L $60,7 \pm 1,8$ mg/dL. Sehingga aktivitas hipoglikemik SNEDDS ekstrak etanol buah harendong terdapat pada dosis SNEDDS 200 mg/2L dan 300 mg/2L.

Kata kunci: hipoglikemik, *Melastoma affine* D.Don, SNEDDS

PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) merupakan suatu penyakit kronik dengan prevalensi yang tinggi di Indonesia dan menempati peringkat ke tujuh di dunia dengan total kasus 10,7 juta penduduk (IDF, 2019). Data hasil Riset Kesehatan dasar (Riskesdas) 2018 menunjukkan bahwa prevalensi DM di Indonesia meningkat dari 6,9% pada tahun 2013 menjadi 8,5% pada tahun 2018. Kasus DM di dunia diprediksi akan terus mengalami peningkatan hingga mencapai 578 juta kasus pada tahun 2030 dan 700 juta kasus pada tahun 2045 (Kemenkes RI, 2020). DM merupakan suatu penyakit yang disebabkan oleh gangguan metabolik kronik sehingga menimbulkan kondisi hiperglikemia atau peningkatan kadar glukosa dalam darah. Keadaan ini dapat disebabkan karena ketidakmampuan tubuh dalam produksi maupun penggunaan hormon insulin secara adekuat (Okur *et al.*, 2017). Kondisi hiperglikemia yang berkepanjangan dapat menyebabkan terjadinya komplikasi di berbagai organ bahkan hingga menimbulkan kematian (Lotfy *et al.*, 2017).

Harendong (*Melastoma affine* D.Don) merupakan suatu tanaman obat yang hidup liar dan banyak ditemukan di daerah pegunungan, padang rumput, belukar dan tepi rawa. Tanaman harendong dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk obat luka di daerah Pananjung Pangandaran, obat antimalaria di daerah Kampar dan sebagai obat sakit gigi di daerah Ciamis. Namun penelitian mengenai manfaat buah harendong masih sangat terbatas. Terdapat penelitian sebelumnya yang mengkaji manfaat dari daun dan akar tanaman harendong sebagai antidiabetes, antioksidan, serta antibakteri (Dewi, 2019; Kusumowati *et al.*, 2014; Safrida *et al.*, 2020). Kandungan yang terdapat pada buah harendong yaitu senyawa flavonoid berupa antosianin (Syafitri *et al.*, 2014). Senyawa tersebut mempunyai aktivitas antiinflamasi, antioksidan serta menghambat enzim yang berperan dalam metabolisme karbohidrat sehingga buah harendong berpotensi untuk menurunkan kadar glukosa darah penderita diabetes melitus (Les *et al.*, 2021).

Ekstrak etanol buah harendong tidak dapat larut dalam air karena dalam proses ekstraksinya menggunakan bahan yang bersifat non polar, sehingga formulasinya dijadikan dalam bentuk sediaan *Self Nano-Emulsifying Drug Delivery System* (SNEDDS). Sediaan ini merupakan suatu nanoemulsi dengan ukuran kurang dari 200 nm yang terdiri dari fase minyak, surfaktan, ko-surfaktan dan zat aktif, sehingga terjadi peningkatan bioavailabilitas dan tingkat absorpsi dari zat aktif tersebut (Morakul, 2020). Proses pengujian menggunakan hewan coba berupa ikan zebra (*Danio rerio*) yang mempunyai kemiripan genetik (mencapai 70%), kondisi anatomis serta fisiologis dengan manusia (Benchoula *et al.*, 2019). Selain itu jika dibandingkan dengan model hewan coba lain seperti tikus dan mencit, proses pemeliharaan ikan zebra lebih mudah dan murah, serta mempunyai kecepatan reproduksi yang tinggi (Zang *et al.*, 2018). Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas hipoglikemik dari SNEDDS ekstrak etanol buah harendong pada ikan zebra yang diinduksi aloksan.

METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Klinik dan Laboratorium Terpadu Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia dan berlangsung dari bulan April - Mei 2021. Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan penelitian dari Komite Etik dan Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dengan nomor protokol: 11/Ka/Kom.Et/70/KE/VIII/2020.

Pembuatan Ekstrak dan Formulasi SNEEDS Ekstrak Etanol Buah Harendong

Buah harendong (*Melastoma affine* D.Don) berasal dari daerah Ciamis, Jawa Barat dan telah dilakukan proses determinasi untuk memastikan spesies buah harendong yang digunakan telah sesuai. Determinasi dilakukan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada. Proses pembuatan ekstrak etanol buah harendong menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1 : 10. Setelah didapatkan ekstrak kental buah harendong selanjutnya dilakukan proses formulasi SNEEDS ekstrak etanol buah harendong. Sediaan SNEEDS ekstrak etanol buah harendong terdiri dari campuran fase minyak berupa *kollisolv* (2 ml), surfaktan berupa *tween 20* (6 ml), gliserin (1 ml) sebagai ko-surfaktan serta ekstrak etanol buah harendong (500 mg) sebagai zat aktif. Proses formulasi dilakukan dengan menambahkan masing-masing senyawa lalu dilakukan sonifikasi selama 5 menit sebanyak 4-5 kali. Setelah terbentuk SNEEDS ekstrak etanol buah harendong selanjutnya dilakukan uji karakterisasi berupa penentuan ukuran partikel, *Polydispersity Index* (PI), zeta potensial menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA) dan uji persen transmittan dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 650 nm.

Uji Aktivitas Hipoglikemik

Penelitian ini menggunakan ikan zebra (*Danio rerio*) dengan kriteria inklusi berumur 4-6 bulan dan ikan sehat tidak terdapat kelainan, sedangkan kriteria eksklusi yaitu ikan yang sakit dan mati selama penelitian. Setiap kelompok berisi 10 ikan jantan dan betina ditempatkan dalam akuarium berukuran 10x20x20 cm dengan suhu $28 \pm 2^\circ\text{C}$ dan air sebanyak 2 liter, selanjutnya dilakukan proses aklimatisasi selama satu minggu. Pemberian makan berupa TetraMin® sebanyak 2 kali sehari. Kebersihan dan filtrasi air harus dijaga serta memperhatikan pencahayaan yang disesuaikan dengan siklus fotoperiod 14 jam terang dan 10 jam gelap (Capiotti *et al.*, 2014).

Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian *post-test only control group design* dan pembagian kelompok terdiri dari kelompok normal, kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif (metformin 100 μM) dan kelompok perlakuan dengan tiga variasi dosis yaitu kelompok H I (100 mg/2L SNEEDS), kelompok H II (200 mg/2L SNEEDS), dan kelompok H III (300 mg/2L SNEEDS). Pada hari pertama semua kelompok kecuali kelompok normal diinduksi DM dengan cara merendam dalam campuran aloksan 300 mg dengan larutan NaCl 0,45% 100 mL selama 1 jam dilanjutkan perendaman dalam larutan glukosa 2% selama 7 hari (Shin *et al.*, 2012). Proses intervensi dilakukan dengan memasukkan masing-masing dosis SNEEDS kedalam 2 liter air, lalu ikan zebra direndam dalam larutan SNEEDS selama 12 jam. Selanjutnya dilakukan pengukuran kadar glukosa darah setelah ikan zebra dipuasakan terlebih dahulu selama 24 jam. Setelah itu setiap ikan dianestesi dengan merendam dalam air es selama ± 10 detik dan darah diambil dengan metode dekapitasi, memotong pada bagian belakang kepala ikan. Pengukuran kadar glukosa darah puasa (KGDP) menggunakan glukometer (EasyTouch®).

Analisis Data

Data yang dianalisis uji normalitas data menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov. Jika data terdistribusi normal untuk melihat perbedaan kadar glukosa darah antar kelompok dilakukan uji

One-Way Anova dan jika data tidak terdistribusi normal maka analisis data dengan menggunakan uji Kruskal-Wallis yang diikuti dengan uji Post-Hoc test menggunakan Man-Whitney U Test.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Formulasi SNEDDS Ekstrak Etanol Buah Harendong

Proses ekstraksi buah harendong menggunakan metode maserasi yaitu dengan merendam bahan pada suatu pelarut yang selanjutnya memecah dinding sel sehingga senyawa metabolit sekunder akan keluar dan terlarut (Tzanova *et al.*, 2020). Ekstrak etanol buah harendong mempunyai konsistensi kental, warna hijau kecoklatan serta bau khas buah harendong dengan rendemen ekstrak sebesar 13,4%. Rendemen ekstrak menyatakan perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal (Dhanani *et al.*, 2017).

Sediaan SNEDDS merupakan suatu campuran terdiri dari fase minyak, surfaktan, ko-surfaktan dan zat aktif bersifat isotropik dan stabil dengan ukuran kurang dari 200 nanometer (Narayan *et al.*, 2015). Formulasi SNEDDS ekstrak etanol buah harendong untuk fase minyak yaitu *kollisolv*, surfaktan yaitu *tween 20* dan ko-surfaktan berupa gliserin. Pemilihan ketiganya sebagai formulasi SNEDDS ekstrak etanol buah harendong setelah melalui serangkaian percobaan di laboratorium. *Kollisolv* merupakan suatu rantai trigliserida medium yang sesuai dengan bahan aktif yang larut dalam lemak (Kim *et al.*, 2018). Sebagai fase minyak, *kollisolv* berfungsi untuk mengatur spontanitas proses nanoemulsifikasi, ukuran tetesan dan kelarutan suatu senyawa (Alshamsan *et al.*, 2018). Surfaktan merupakan suatu senyawa yang mengandung gugus lipofilik dan hidrofilik yang berfungsi untuk menurunkan tegangan permukaan sehingga dapat mencegah penggabungan antar partikel (Morsy, 2014). *Tween 20* merupakan suatu surfaktan non-ionik yang memicu terjadinya interaksi antar sterik dengan kutub sehingga dapat mencegah penggabungan antar partikel (Avachat & Patel, 2015). Gliserin merupakan suatu koloid dengan toksisitas rendah dan biokompabilitas baik (Winarti *et al.*, 2016), sebagai ko-surfaktan gliserin berfungsi untuk membantu surfaktan dalam menurunkan tegangan permukaan dan memperkecil ukuran partikel (Sharma *et al.*, 2016).

Hasil uji karakterisasi dari sediaan SNEDDS ekstrak etanol buah harendong ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Data hasil karakterisasi SNEDDS ekstrak etanol buah Harendong

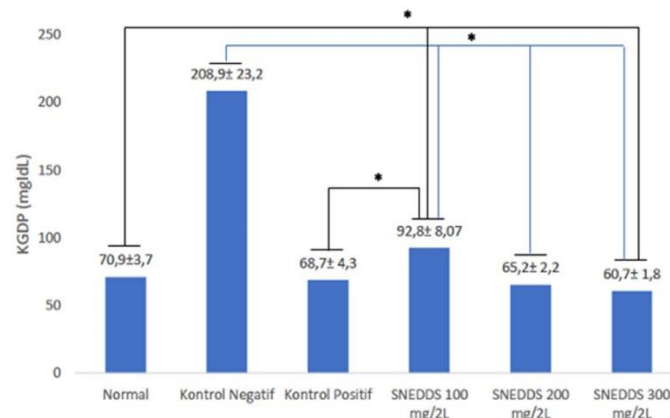
No.	Jenis Karakterisasi	Hasil Karakterisasi	Nilai Batasan
1.	Ukuran partikel (nm)	77,8 ± 1,83	<200
2.	<i>Polydispersity index</i> (D)	0,123 ± 0,56	0,001-0,7
3.	Zeta potensial (mV)	-32,1 ± 5,6	<-30 atau >+30
4.	Persen transmitan (%)	74,567 ± 2,3	70-100

Pada penelitian ini ukuran partikel dari sediaan SNEDDS sebesar 77,8 ± 1,83 nm sehingga memenuhi kriteria nanoemulsi yaitu ukuran partikel kurang dari 200 nm. Ukuran partikel yang semakin kecil mempunyai luas permukaan yang semakin besar sehingga tingkat absorpsinya meningkat (Hu *et al.*, 2021). *Polydispersity Index* (PI) menunjukkan keseragaman ukuran partikel suatu nanoemulsi dan memberikan gambaran kestabilan fisik sediaan SNEDDS (Danaei *et al.*, 2018). Nilai PI mempunyai rentang 0,01-0,7 D dan SNEDDS ekstrak etanol buah harendong mempunyai nilai PI sebesar 0,123 ± 0,56 D. Suatu nanopartikel yang stabil mempunyai nilai zeta potensial lebih kecil dari -30 mV atau lebih besar dari +30 mV. Zeta potensial mencerminkan potensial listrik dari partikel dan medium partikel terdispersi sehingga menunjukkan tingkat kestabilan nanopartikel (Honary & Zahir, 2013). Nilai zeta potensial dari SNEDDS ekstrak etanol

buah harendong sebesar $-32,1 \pm 5,6$ mV sehingga sediaan tersebut merupakan suatu nanopartikel yang stabil. Nilai persen transmitan menunjukkan tingkat kejernihan dan transparansi sediaan SNEDDS dan mempunyai rentang nilai 70-100% (Nugroho & Sari, 2018), SNEDDS ekstrak etanol buah harendong mempunyai persen transmitan $74,567 \pm 2,3\%$.

Aktivitas Hipoglikemik SNEDDS Ekstrak Etanol Buah Harendong

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat aktivitas hipoglikemik SNEDDS ekstrak etanol buah harendong. Pengukuran kadar glukosa darah puasa (KGDP) pada tiap kelompok menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$). Rata-rata KGDP pada kelompok normal adalah $70,9 \pm 3,7$ mg/dL yang memenuhi rentang KGDP normal ikan zebra yaitu 50-75 mg/dL (Jorgens *et al.*, 2012). Sementara pada kelompok kontrol negatif hasil rata-rata KGDP adalah $208,9 \pm 23,2$ mg/dL dan sesuai dengan kriteria kondisi hiperglikemia pada ikan zebra yaitu KGDP diatas 200 mg/dL (Gleeson *et al.*, 2007) (Gambar 1). Hal ini menunjukkan bahwa proses induksi diabetes melitus menggunakan aloksan dan larutan glukosa 2% berhasil. Aloksan merupakan suatu senyawa yang menyebabkan kerusakan sel β pankreas melalui mekanisme nekrosis sehingga terjadi pengurangan massa pankreas dan mengganggu sekresi hormon insulin (Nam *et al.*, 2015). Perendaman dengan larutan glukosa 2% selama 7 hari bertujuan untuk mempertahankan kondisi hiperglikemia pada ikan zebra (Connaughton *et al.*, 2016).



Gambar 1. Aktivitas Hipoglikemik SNEDDS Ekstrak Etanol Buah Harendong. * $p < 0,05$

Kelompok H I SNEDDS 100 mg/2L mempunyai nilai rata-rata KGDP $92,8 \pm 8,07$ mg/dL, kelompok H II SNEDDS 200 mg/2L mempunyai nilai rata-rata KGDP $65,2 \pm 2,2$ mg/dL, sementara pada kelompok H III SNEDDS 300 mg/2L mempunyai nilai rata-rata KGDP $60,7 \pm 1,8$ mg/dL. Kelompok kontrol negatif menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) dengan semua kelompok perlakuan, yaitu kelompok H I SNEDDS 100 mg/2L, kelompok H II SNEDDS 200 mg/2L, dan kelompok H III SNEDDS 300 mg/2L. Hasil ini menjelaskan bahwa SNEDDS ekstrak etanol buah harendong memiliki aktivitas hipoglikemik. Kelompok normal juga mempunyai perbedaan signifikan ($p < 0,05$) dengan kelompok H I SNEDDS 100 mg/2L dan kelompok H III SNEDDS 300 mg/2L. Hal ini membuktikan bahwa SNEDDS ekstrak etanol buah harendong dapat menurunkan KGDP ikan zebra yang diinduksi diabetes melitus mendekati nilai KGDP ikan normal. Selain itu terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$) antara kelompok kontrol positif dengan kelompok H I SNEDDS 100 mg/2L, namun perbandingan antara kelompok kontrol positif dengan kelompok H II SNEDDS 200 mg/2L dan kelompok H III SNEDDS 300 mg/2L didapatkan hasil bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$). Sehingga hal ini menunjukkan keefektifan aktivitas

hipoglikemik SNEDDS ekstrak etanol buah harendong pada dosis SNEDDS 200 mg/2L dan 300 mg/2L sebanding dengan obat standar metformin.

Kemampuan SNEDDS ekstrak etanol buah harendong dalam menurunkan kadar glukosa darah berhubungan dengan kandungan senyawa metabolit sekunder flavonoid berupa antosianin. Pada penelitian sebelumnya mengenai kandungan fitokimia dari ekstrak etanol buah harendong didapatkan hasil bahwa kadar total antosianin pada 10 mg ekstrak etanol buah harendong sebesar $225,5 \pm 12,63$ mg (Syafitri *et al.*, 2014). Berdasarkan literatur disebutkan bahwa antosianin merupakan suatu pigmen warna pada buah atau sayuran dan bertindak sebagai antioksidan sehingga mempunyai aktivitas hipoglikemik dengan meningkatkan sensitivitas insulin (Khoo *et al.*, 2017). Terdapat beberapa jalur mekanisme kerja dari antosianin, antara lain dengan meningkatkan aktivasi *adenosine monophosphate-activated protein kinase* (AMPK) dan regulasi *glucose transporter 4* (GLUT-4) sehingga merangsang produksi hormon insulin oleh sel β pankreas (Solverson, 2020). Antosianin juga mengaktifasi jalur *peroxisome proliferator-activated receptor- γ* (PPAR- γ) di jaringan lemak dan otot sehingga meningkatkan metabolisme glukosa (Seymour *et al.*, 2011). Antosianin juga dilaporkan dapat menurunkan ekspresi dari *retinol binding protein 4* (RBP-4) yang berhubungan dengan ekspresi dari GLUT-4 (Sasaki *et al.*, 2007).

KESIMPULAN

Sediaan SNEDDS ekstrak etanol buah harendong dosis 200 mg/2L menurunkan Kadar gula darah puasa (KGDP) ikan zebra yang diinduksi aloksan dan larutan glukosa sebesar 65,2 mg/dL dan pada dosis 300 mg/2L sebesar 60,7 mg/dL. Aktivitas penurunan KGDP pada kedua dosis ini sebanding dengan metformin dosis 100 μ M.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Dekanat Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia atas pendanaan dari Hibah Karya Tulis Ilmiah dan Inovasi (No. 391.a/Dek/70/Tim Hibah Mahasiswa/VI/2020).

DAFTAR PUSTAKA

- Alshamsan, A., Kazi, M., Badran, M. M., & Alanazi, F. K. (2018). Role of alternative lipid excipients in the design of self-nanoemulsifying formulations for fenofibrate: Characterization, in vitro dispersion, digestion and ex vivo gut permeation studies. *Frontiers in Pharmacology*, 9(6), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01219>
- Avachat, A. M., & Patel, V. G. (2015). Self nanoemulsifying drug delivery system of stabilized ellagic acid-phospholipid complex with improved dissolution and permeability. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 23(3), 276–289. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2014.11.001>
- Benchoula, K., Khatib, A., Quzwain, F. M. C., Anuar, C., Mohamad, C., Mohd, W., Wan, A., Wahab, R. A., Ahmed, Q. U., Abdul, M., Saiman, M. Z., Alajmi, M. F., & El-seedi, H. (2019). Optimization of Hyperglycemic Induction in Zebrafish and Evaluation of Its Blood Glucose Level and Metabolite Fingerprint Treated with *Psychotria malayana* Jack Leaf Extract. *Molecules*, 24(1506), 1–22. <https://doi.org/10.3390/molecules24081506>
- Capiotti, K. M., Junior, R. A., Kist, L. W., Bogo, M. R., Bonan, C. D., Souza, R., & Silva, D. (2014). Persistent Impaired Glucose Metabolism in a Zebrafish Hyperglycemia Model. *Comparative Biochemistry*

- and *Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 171(1), 58–65. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2014.03.005>
- Connaughton, V. P., Baker, C., Fonde, L., Gerardi, E., & Slack, C. (2016). Alternate Immersion in an External Glucose Solution Differentially Affects Blood Sugar Values in Older Versus Younger Zebrafish Adults. *Zebrafish*, 13(2), 87–94. <https://doi.org/10.1089/zeb.2015.1155>
- Danaei, M., Dehghankhold, M., Ataei, S., Hasanzadeh Davarani, F., Javanmard, R., Dokhani, A., Khorasani, S., & Mozafari, M. R. (2018). Impact of particle size and polydispersity index on the clinical applications of lipidic nanocarrier systems. *Pharmaceutics*, 10(2), 1–17. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10020057>
- Dewi, A. P. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Senduduk (*Melastoma affine* D.Don) Terhadap *Staphylococcus Aureus*. *JOPS (Journal Of Pharmacy and Science)*, 3(1), 10–14. <https://doi.org/10.36341/jops.v3i1.1100>
- Dhanani, T., Shah, S., Gajbhiye, N. A., & Kumar, S. (2017). Effect of extraction methods on yield, phytochemical constituents and antioxidant activity of *Withania somnifera*. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S1193–S1199. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.02.015>
- Gleeson, M., Connaughton, V., & Arneson, L. S. (2007). Induction of hyperglycaemia in zebrafish (*Danio rerio*) leads to morphological changes in the retina. *Acta Diabetologica*, 44(3), 157–163. <https://doi.org/10.1007/s00592-007-0257-3>
- Honary, S., & Zahir, F. (2013). Effect of zeta potential on the properties of nano-drug delivery systems - A review (Part 1). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 12(2), 255–264. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v12i2.19>
- Hu, M., Xie, F., Zhang, S., Qi, B., & Li, Y. (2021). Effect of nanoemulsion particle size on the bioavailability and bioactivity of perilla oil in rats. *Journal of Food Science*, 86(1), 206–214. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15537>
- IDF (International Diabetes Federation). (1955). International Diabetes Federation. In *The Lancet*, 266(6881), 34–137. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(55\)92135-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(55)92135-8)
- Jorgens, K., Hillebrands, J. L., Hammes, H. P., & Kroll, J. (2012). Zebrafish: A model for understanding diabetic complications. *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes*, 120(4), 186–187. <https://doi.org/10.1055/s-0032-1304565>
- Kemendes RI (Kementrian Kesehatan Republik Indonesia). (2020). Infodatin Diabetes Melitus. In *pusat data dan informasi kementrian kesehatan RI*.
- Khoo, H. E., Azlan, A., Tang, S. T., & Lim, S. M. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food and Nutrition Research*, 61(1), 1–17. <https://doi.org/10.1080/16546628.2017.1361779>
- Kim, R. M., Jang, D. J., Kim, Y. C., Yoon, J. H., Min, K. A., Maeng, H. J., & Cho, K. H. (2018). Flurbiprofen-loaded solid SNEDDS preconcentrate for the enhanced solubility, in-vitro dissolution and bioavailability in rats. *Pharmaceutics*, 10(4). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10040247>
- Kusumowati, I. T. D., Melannisa, R., & Prasetyawan, A. (2014). Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Senggani (*Melastoma affine* D.Don). *Biomedika*, 6(2), 22–25. <https://doi.org/10.23917/biomedika.v6i2.278>
- Les, F., Cásedas, G., Gómez, C., Moliner, C., Valero, M. S., & López, V. (2021). The role of anthocyanins as antidiabetic agents: from molecular mechanisms to in vivo and human studies. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 77(1), 109–131. <https://doi.org/10.1007/s13105-020-00739-z>

- Lotfy, M., Adeghate, J., Kalasz, H., Singh, J., & Adeghate, E. (2017). Chronic Complications of Diabetes Mellitus: A Mini Review. *Current Diabetes Reviews*, 13(1), 3–10. <https://doi.org/10.2174/1573399812666151016101622>
- Morakul, B. (2020). Self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS): An advancement technology for oral drug delivery. *Pharmaceutical Sciences Asia*, 47(3), 205–220. <https://doi.org/10.29090/psa.2020.03.019.0121>
- Morsy, S. M. I. (2014). Role of Surfactants in Nanotechnology and Their Applications. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(5), 237–260. https://doi.org/10.1007/978-3-319-13596-0_10
- Nam, Y. H., Hong, B. N., Rodriguez, I., Ji, M. G., Kim, K., Kim, U. J., & Kang, T. H. (2015). Synergistic Potentials of Coffee on Injured Pancreatic Islets and Insulin Action via KATP Channel Blocking in Zebrafish. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(23), 5612–5621. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b00027>
- Narayan, R., Habibuddin, M., & Ramesh, D. (2015). Design , optimization and evaluation of glipizide solid self-nanoemulsifying drug delivery for enhanced solubility and dissolution. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 1(24), 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2015.01.024>
- Nugroho, B. H., & Sari, N. P. (2018). Formulation of Self Nano Emulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) Karamunting Leaf Extract (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk). *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 14(1), 1–8. <https://doi.org/10.20885/jif.vol14.iss1.art01>
- Okur, M. E., Karantas, I. D., & Sifaka, P. I. (2017). Diabetes Mellitus : A Review on Pathophysiology , Current Status of Oral Medications and Future Perspectives. *Acta Pharmaceutica Scientia*, 55(1), 61–82. <https://doi.org/10.23893/1307-2080.APS.0555>
- Safrida, Khairil, & Fardinita, F. (2020). Antihyperglycemic and Antioxidant Activity of Nanoemulsion Extracts of *M. affine* D.Don Leaves in Alloxan-Induced Rat. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*, 5(3), 167–171. <https://doi.org/10.22146/jtbb.56701>
- Sasaki, R., Nishimura, N., Hoshino, H., Isa, Y., Kadowaki, M., Ichi, T., Tanaka, A., Nishiumi, S., Fukuda, I., Ashida, H., Horio, F., & Tsuda, T. (2007). Cyanidin 3-glucoside ameliorates hyperglycemia and insulin sensitivity due to downregulation of retinol binding protein 4 expression in diabetic mice. *Biochemical Pharmacology*, 74(11), 1619–1627. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2007.08.008>
- Seymour, E. M., Tanone, I. I., Urcuyo-Llanes, D. E., Lewis, S. K., Kirakosyan, A., Kondoleon, M. G., Kaufman, P. B., & Bolling, S. F. (2011). Blueberry intake alters skeletal muscle and adipose tissue peroxisome proliferator-activated receptor activity and reduces insulin resistance in obese rats. *Journal of Medicinal Food*, 14(12), 1511–1518. <https://doi.org/10.1089/jmf.2010.0292>
- Sharma, A. K., Garg, T., Goyal, A. K., & Rath, G. (2016). Role of microemulsions in advanced drug delivery. *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology*, 44(4), 1177–1185. <https://doi.org/10.3109/21691401.2015.1012261>
- Shin, E., Hong, B. N., & Kang, T. H. (2012). An optimal establishment of an acute hyperglycemia zebrafish model. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 6(42), 2922–2928. <https://doi.org/10.5897/ajpp12.327>
- Solverson, P. (2020). Anthocyanin Bioactivity in Obesity and Diabetes: The Essential Role of Glucose Transporters in the Gut and Periphery. *Cells*, 9(2515), 1–21. <https://doi.org/10.3390/cells9112515>

- Syafitri, E. N., Bintang, M., & Falah, S. (2014). Kandungan Fitokimia , Total Fenol , dan Total Flavonoid Ekstrak Buah Harendong (*Melastoma affine* D.Don). *Current Biochemistry*, 1(3), 105–115.
- Tzanova, M., Atanasov, V., Yaneva, Z., Ivanova, D., & Dinev, T. (2020). Selectivity of current extraction techniques for flavonoids from plant materials. *Processes*, 8(10), 1–30. <https://doi.org/10.3390/pr8101222>
- Winarti, L., Suwaldi, Martien, R., & Hakim, L. (2016). Formulation of self-nanoemulsifying drug delivery system of Bovine serum albumin using HLB (Hydrophilic-Lypophilic Balance) approach. *Indonesian Journal of Pharmacy*, 27(3), 117–127. <https://doi.org/10.14499/indonesianjpharm27iss3pp117>
- Zang, L., Maddison, L. A., & Chen, W. (2018). Zebrafish as a model for obesity and diabetes. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 6(91), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fcell.2018.00091>