



# Review: Zebrafish (*Danio Rerio*) Sebagai Model Obesitas dan Diabetes Melitus Tipe 2

(Review: zebrafish (*Danio Rerio*) as a model of obesity and type 2 diabetes mellitus)

Mira Hardianti\*, Ari Yuniarto & Patonah Hasimun

Program Studi Sarjana Fakultas Farmasi, Universitas Bhakti Kencana, Jl. Soekarno Hatta No.754, Bandung

**ABSTRACT:** Zebrafish (*Danio rerio*), previously known as *Brachydanio rerio*, is a small tropical freshwater fish species native to South Asia and the Ganges river in India. Zebrafish can be applied to models of obesity and type 2 diabetes mellitus (T2DM). Obesity is a trigger for T2DM. The aims of this article review can provide information and increase readers' understanding that zebrafish is an ideal model for obesity and T2DM. The article review method was carried out by tracing published scientific articles with national and international standards using keywords such as "Obesity, zebrafish, model", "Hyperglycemia, zebrafish, model" or "zebrafish for hyperglycemia" and "Diabetes mellitus type 2, zebrafish, model". Zebrafish model of obesity and T2DM induced by food and drug showed the advantages of being obese as in humans and other mammals. In addition, zebrafish that was induced by the search method for blood sugar levels and exogenous impaired insulin response. The provision of alternative therapies from natural ingredients such as GTE, *palmaria mollis*, diosgenin, and cinnamon powder in zebrafish gives good enough results so that it can be considered as an alternative model for other animals.

**Keywords:** type 2 DM; animal; obesity; zebrafish (*Danio rerio*).

**ABSTRAK:** Zebrafish (*Danio rerio*) yang sebelumnya disebut *Brachydanio rerio* merupakan spesies ikan air tawar tropis yang berukuran kecil yang berasal dari Asia Selatan dan Sungai Gangga di India. Zebrafish bisa diaplikasikan pada model obesitas dan diabetes melitus tipe 2 (DMT2). Obesitas merupakan pemicu terjadinya DMT2. Tujuan dari review artikel ini dapat memberikan informasi dan meningkatkan pemahaman pembaca bahwa zebrafish merupakan model yang ideal untuk obesitas dan DMT2. Metode penulisan review artikel ini dilakukan dengan penelusuran artikel ilmiah terpublikasi bertaraf nasional dan internasional dengan menggunakan kata kunci berupa "Obesity, zebrafish, model", "Hyperglycemia, zebrafish, model" atau "zebrafish for hyperglycemia" dan "Diabetes melitus type 2, zebrafish, model". Zebrafish model obesitas dan DMT2 yang diinduksi makanan dan obat menunjukkan keunggulan menjadi obesitas seperti pada manusia dan mamalia lain. Selain itu, zebrafish yang diinduksi dengan metode perendaman glukosa diperoleh hasil meningkatnya kadar glukosa darah dan gangguan respon terhadap insulin eksogen. Pemberian alternatif terapi dari bahan alam seperti GTE, *palmaria mollis*, diosgenin, bubuk kayu manis pada zebrafish memberikan hasil yang cukup baik sehingga bisa dipertimbangkan sebagai alternatif model hewan lain.

**Kata kunci:** DM tipe 2; hewan; obesitas; zebrafish (*Danio rerio*).

## Pendahuluan

Prevalensi obesitas dan *overweight* dalam beberapa dekade terakhir terus mengalami peningkatan di seluruh dunia [1]. Obesitas menjadi pemicu terjadinya diabetes mellitus tipe 2 (DMT2) [2]. Tahun 2016, secara global populasi orang dewasa yang berusia >18 tahun mengalami *overweight* sebanyak >1,9 miliar orang, dan dari data tersebut populasi orang dewasa yang mengalami obesitas >650 juta [3]. Prevalensi *overweight* di Asia dan Pasifik, pada tahun 2018 diperkirakan sekitar 15,7 juta jiwa pada anak-anak dibawah umur 5 tahun [4]. Prevalensi obesitas di Indonesia pada tahun 2018 yang berusia ≥18 tahun yaitu meningkat sebanyak 21,8% [5].

Obesitas didefinisikan sebagai akumulasi lemak yang

berlebihan didalam tubuh yang mempengaruhi kesehatan manusia [6]. Obesitas didefinisikan sebagai konsekuensi ketidakseimbangan antara kalori yang masuk dengan energi yang dikeluarkan oleh tubuh [7]. Kelebihan kalori dalam makanan yang dikonsumsi akan disimpan dalam bentuk lemak, sehingga akan meningkatkan massa jaringan adiposa [8]. Obesitas memiliki korelasi terhadap munculnya sindrom metabolik [9]. Sindrom metabolik didefinisikan sebagai kelainan metabolik yang berhubungan dengan penyakit gangguan metabolisme glukosa, obesitas, dislipidemia dan hipertensi [10,11]. DM didefinisikan sebagai sekelompok gangguan metabolik kronik yang terjadi baik karena resistensi insulin atau karena produksi

### Article history

Received: 16 Apr 2021  
Accepted: 05 Juli 2021  
Published: 05 August 2021

### Access this article



\*Corresponding Author: Mira Hardianti

Program Studi Sarjana Fakultas Farmasi, Universitas Bhakti Kencana,  
Jl. Soekarno Hatta No.754, Bandung, 40614 | Email: [11171102@bku.ac.id](mailto:11171102@bku.ac.id)

insulin yang tidak mencukupi di pankreas, yang keduanya dapat menyebabkan peningkatan kadar gula darah atau biasa disebut hiperglikemia [12]. Hiperglikemia dapat didefinisikan sebagai kondisi peningkatan kadar glukosa darah >140 mg/dL tanpa riwayat diabetes sebelumnya atau hemoglobin terglikosilasi (HbA1c) >6,5% [13]. DM diklasifikasikan menjadi DMT1, DMT2, diabetes gestasional dan diabetes monogenik [2,10,14]. DMT2 merupakan penyakit yang ditandai dengan kekurangan (defisiensi) insulin parsial karena terjadinya resistensi insulin perifer [10].

Terapi farmakologi untuk anti-obesitas yaitu orlistat dengan mekanisme menghambat enzim lipase pankreas dan mengurangi serapan lemak makanan di usus kecil sekitar 30%. Efek samping dari obat tersebut yaitu tinja berlemak dan meningkatnya buang air besar [15]. Selanjutnya terapi farmakologi untuk DMT2 yaitu menggunakan metformin [16–18]. Mekanisme kerja dari metformin yaitu bekerja secara langsung maupun tidak langsung dihati untuk menurunkan produksi glukosa dan bekerja di usus untuk meningkatkan pemanfaatan glukosa, dengan kata lain metformin dapat menurunkan resistensi insulin [17,19,20]. Penggunaan metformin dalam jangka waktu panjang dapat menyebabkan kekurangan vitamin B12 dan asam folat [21]. Terapi farmakologi menyebabkan beberapa efek samping, sehingga disarankan alternatif lain yang memiliki efek samping yang lebih sedikit yaitu menggunakan alternatif dari bahan alam [22].

Selanjutnya secara global prevalensi DM mengalami peningkatan dari tahun ke tahun, dan sekitar 1 dari 11 orang dewasa di seluruh dunia mengidap DM, dengan 90% diantaranya menderita DMT2. Di Asia, negara Cina dan India adalah dua negara dengan prevalensi tertinggi DMT2 [23]. Di negara Indonesia, prevalensi DMT2 tahun 2018 berdasarkan pemeriksaan darah yang berusia  $\geq 15$  tahun yaitu sebanyak 10,9% [5]. Aktivitas yang minimal dan pola makan yang tidak sehat merupakan pendorong penting dari epidemi global untuk DMT2 [23].

Model obesitas dan DMT2 bisa diaplikasikan pada hewan uji rodent (hewan pengerat) seperti tikus, mencit karena memiliki kesamaan anatomi, fisiologi dengan manusia serta memiliki masa hidup yang relatif pendek dan mudah untuk ditangani [24,25]. Hewan uji rodent memiliki kekurangan seperti sarana prasarana harus memadai dan perlu tenaga kerja yang handal. Sehingga dapat dipertimbangkan menggunakan alternatif hewan uji lain yaitu menggunakan hewan uji zebrafish (*Danio rerio*).

Zebrafish (*Danio rerio*) yang sebelumnya disebut *Brachydanio rerio* merupakan spesies ikan air tawar tropis yang berukuran kecil yang berasal dari Asia Selatan dan

Sungai Gangga di India. Di Habitat aslinya, zebrafish biasanya ditemukan di dekat dasar air untuk menghindari diri dari predator. Selama beberapa puluh tahun terakhir, zebrafish telah menjadi organisme model yang populer untuk digunakan dalam penelitian genetika vertebrata, pengembangan, regenerasi, dan toksikologi. Zebrafish merupakan bagian dari keluarga *Cyprinidae* [26,27]. Zebrafish memperlihatkan pola sirkadian yaitu beraktivitas pada siang hari dan beristirahat di malam hari. Zebrafish juga mampu menyadari bila ada ancaman, sehingga perilakunya yang ditunjukkan berubah menjadi gelisah atau tidak bergerak, penurunan nafsu makan, dan peningkatan agresi [28].

Keuntungan menggunakan zebrafish sebagai model hewan penelitian yaitu zebrafish memiliki kemampuan menghasilkan ratusan embrio pada saat bertelur, proses pembiakan yang cepat, kemudahan dalam pemeliharaan, harganya yang lebih murah dan memiliki kesamaan gen yang menyerupai manusia atau mamalia [29,30]. Sebagai tambahan, zebrafish secara anatomi dan fisiologi memiliki semua organ utama yang terlibat dalam proses metabolisme dan dapat digunakan untuk mempelajari beberapa gangguan metabolisme pada manusia seperti penyakit hati berlemak non alkohol, DMT2, dislipidemia, dan penyakit hati lainnya [27].

Meskipun zebrafish memiliki beberapa kesamaan dengan manusia, namun zebrafish memiliki keterbatasan seperti ketidaksamaan beberapa organ contohnya sistem pernapasan dan sistem reproduksi. Sehingga hal tersebut menjadi kendala bahwa zebrafish tidak bisa diaplikasikan pada model respirasi dan reproduksi seperti pada manusia [27].

Beberapa contoh aplikasi zebrafish pada berbagai model penyakit yang ada pada manusia dan berhasil diaplikasikan pada zebrafish yaitu distrofi otot duchenne, melanoma manusia, leukemia limfoblas akut, penyakit ginjal polikistik, penyakit parkinson, penyakit metabolisme, gangguan jantung, gangguan saluran pencernaan, sistem imunitas, kanker, dan osteoporosis [27,30]. Namun yang akan dibahas secara fokus pada review artikel ini yaitu mengenai model obesitas dan DMT2 karena beberapa penelitian sudah banyak terarah pada model penyakit tersebut dan berhasil diaplikasikan pada zebrafish.

Tujuan dari review artikel ini dapat memberikan informasi dan meningkatkan pemahaman pembaca bahwa zebrafish merupakan model yang ideal untuk obesitas dan DMT2.

## Metode Penelitian

### Strategi dan Kriteria Pencarian Literatur Review

Penulisan review artikel ini dilakukan dengan penelusuran artikel ilmiah terpublikasi bertaraf nasional dan internasional melalui Research Gate, MDPI, PubMed, Google Scholar, Elsevier/Scimedirect, Springerlink, NCBI dan database lainnya sebagaimana pada [tabel 1](#) dengan menggunakan kata kunci berupa “Obesity, zebrafish, model”, “Hyperglycemia, zebrafish, model” atau “zebrafish for hyperglycemia” dan “Diabetes melitus type 2, zebrafish, model” dengan kriteria rentang tahun 2011 hingga 2020.

Hasil temuan literatur pada beberapa database yaitu sebanyak 89 dan literatur yang di inklusi pada artikel review ini sebanyak 57, sedangkan yang di eksklusi sebanyak 34 hal tersebut sebagaimana pada [tabel 1](#). Artikel review yang di inklusi yaitu sebanyak 46 artikel internasional rentang tahun 2015-2020, 4 artikel nasional rentang tahun 2015-2020, 3 artikel internasional rentang tahun 2011-2014 dan 4 literatur dari (WHO, Riskesdas, dan UNICEF) dengan kriteria artikel sudah sesuai dengan tema dan masuk kriteria tahun yang digunakan. Artikel ilmiah yang dieksklusi yaitu sebanyak 32 artikel dengan kriteria tidak sesuai dengan tema dan kriteria tahun yang digunakan.

## Hasil dan Diskusi

### Habitat Zebrafish

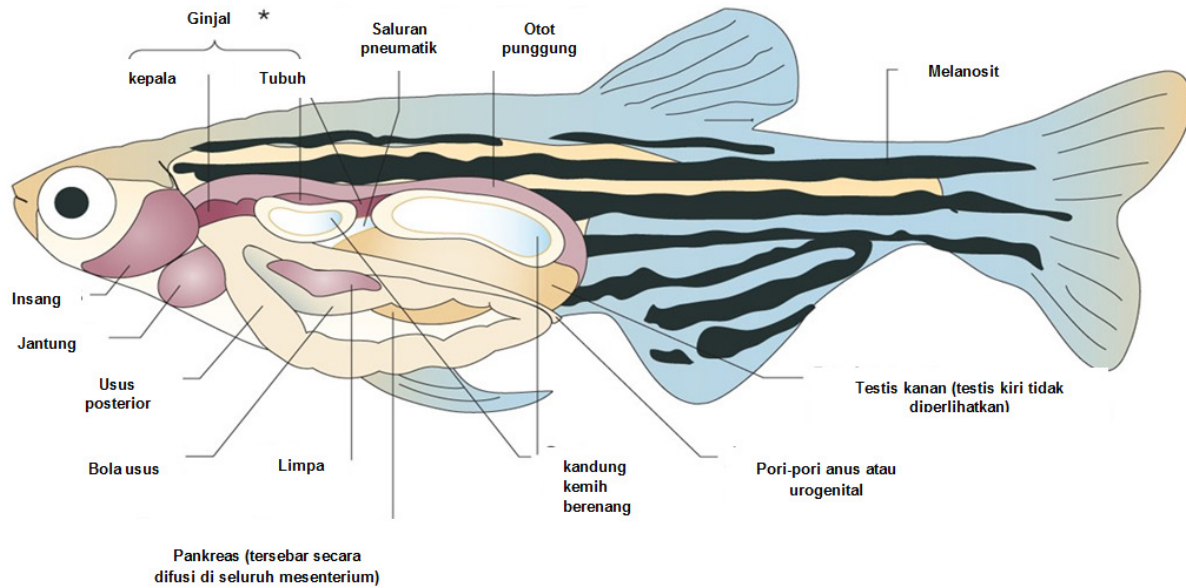
Habitat zebrafish di alam liar yaitu lebih menyukai perairan dengan aliran air yang pelan dan memiliki sedikit predator, sedangkan untuk habitat di laboratorium zebrafish harus menyesuaikan dengan habitat aslinya. Zebrafish akan hidup pada kondisi air yang jernih dan basa dengan pH 8, serta kondisi suhu berkisar 20-33°C [\[29\]](#).

### Anatomi dan Fisiologi Zebrafish

Zebrafish memiliki kesamaan struktur anatomi dengan mamalia, seperti otak, jantung, hati, limpa, pankreas, kandung empedu, usus, ginjal, testis, dan ovarium seperti yang tertera pada [gambar 1](#). Ginjal juga merupakan tempat haematopoiesis pada zebrafish [\[31\]](#). Zebrafish memiliki fisiologi jantung yang mengalami proses morfogenetik seperti pada manusia. Selain itu, struktur nefron dan sel-sel ginjal pada zebrafish hampir mirip dengan ginjal yang dimiliki oleh manusia. Fisiologi mata yang dimiliki zebrafish hampir mirip dengan mata yang dimiliki oleh manusia, dan jika dibandingkan dengan tikus, penglihatan zebrafish lebih menyerupai manusia karena bentuknya didominasi oleh sel kerucut sedangkan pada tikus penglihatannya didominasi oleh sel batang [\[32\]](#). Sebagai tambahan, jaringan adiposa pada zebrafish memiliki fungsi yang hampir sama dengan jaringan adiposa pada mamalia yaitu mengelola lipid sebagai respon terhadap pembatasan makanan dan mengakumulasi peningkatan lipid sebagai

**Tabel 1.** Hasil temuan literatur dan literatur terpilih

Database	Temuan	Literatur yang diinklusi	Literatur yang dieksklusi
NCBI	7	4	3
Google Scholar	32	25	7
Elsevier/Scimedirect	9	5	4
PubMed	18	8	10
Indonesian J. Pharm	1	0	1
Research Gate	7	3	4
MDPI	7	5	2
Springerlink	4	3	1
WHO	2	2	0
UNICEF	1	1	0
Riskesdas	1	1	0
<b>Jumlah</b>	<b>89</b>	<b>57</b>	<b>32</b>



**Gambar 1.** Anatomi Zebrafish, dimodifikasi dari (White *et al.*, 2013) [31]

respon terhadap kelebihan kalori [33]. Pankreas zebrafish memiliki fungsi yang sama dengan mamalia seperti homeostasis glukosa, termasuk memproduksi dan mensekresi insulin, somatostatin, dan enzim pencernaan seperti amilase [22]. Zebrafish juga dapat meregenerasi sel  $\beta$  pankreas sepanjang hidupnya. Hal tersebut dikarenakan adanya sinyal adenosin yang mendorong untuk terjadinya regenerasi sel  $\beta$  pada zebrafish [34].

**Klasifikasi Spesies Danio**

Spesies *Danio* menurut Cluskes dan Postlethwait, 2015 [35], terbagi menjadi 4 yaitu spesies *Danio* besar, *Danio choprae*, *Danio albolineatus*, dan *Danio rerio*. Namun

yang direkomendasikan sebagai model hewan penelitian yaitu hanya *Danio rerio* karena ukuran tubuhnya yang kecil, proses pembiakan yang cepat dan tinggi, embrio berkembang dengan transparan secara eksternal, dan kemudahan dalam kultur laboratorium, sehingga banyak alat yang dirancang untuk diaplikasikan pada *Danio rerio* [35].

**Daur Hidup / Siklus Hidup Zebrafish**

Daur hidup zebrafish, dimulai dari telur selanjutnya menjadi larva dan hingga menjadi zebrafish dewasa. Embrio zebrafish berkembang dengan cepat, pada 1 jam pasca pembuahan embrio zebrafish memiliki empat

**Tabel 2.** Aplikasi zebrafish sebagai model obesitas

No	Referensi	Metode Induksi	Pengobatan	Kriteria Zebrafish	Hasil
1	[38]	Kuning Telur 0,1%	<i>Green tea</i> ekstrak (GTE) dosis 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Larva	Menurunkan adipositas yang cepat dan signifikan.
		Artemia	GTE dosis oral 250 $\mu\text{g}/\text{g}$ bb/hari	Dewasa	Mengurangi volume jaringan adiposa visceral dan menekan peningkatan plasma trigliserida.
2	[39]	Gluten dan Artemia	Rumput laut merah ( <i>Palmaria Mollis</i> ) 2,5%	Betina berusia 3 bulan	Menekan adipositas visceral dan TG plasma.
3	[40,41]	Artemia	6 mg Bubuk kayu manis ( <i>Cinnamomum verum</i> )	Jantan / betina berusia 3 bulan	Penurunan berat badan yang signifikan, penurunan IMT, glukosa darah dan trigliserida plasma.
4	[42]	Olanzapine		Betina dewasa	Penambahan berat badan, meningkatkan asupan makan, kadar asam lemak bebas dan trigliserida plasma.
				Larva usia 72 hpf	Menurunkan metabolisme lipid pada zebrafish larva

sel kutub yang berada di atas satu sel kuning telur dan terbentuk melalui pembelahan sel. Kemudian setelah 25 jam pasca pembuahan, embrio memiliki sumbu tubuh yang jelas dengan organ yang belum sempurna. Embrio pada 48 jam pasca pembuahan memiliki dasar dari sebagian organ utama, contohnya jantung di bagian perut dan mata. Zebrafish memiliki masa generasi yang cepat, mencapai usia dewasa pada 3 bulan pasca pembuahan dengan rata-rata umur mencapai 2-3 tahun. Zebrafish jantan dewasa memiliki ciri bentuk tubuh yang ramping dengan corak kuning dan sirip anus yang lebih besar. Sedangkan zebrafish betina berukuran lebih besar dan memiliki corak yang lebih putih [29].

### Pengaruh Usia Zebrafish dalam Pemilihan Model Penyakit

Metode DIO (diet induksi obesitas) dapat diaplikasikan pada model hewan zebrafish. Pemberian makan berlebih bisa dimulai sejak zebrafish berusia 5 dpf (*day post fertilization*), sedangkan pada hewan pengerat pemberian makan berlebih dimulai setelah penyapihan yaitu berusia 3 minggu setelah lahir. Hal tersebut dapat dikatakan lebih menguntungkan dalam segi waktu [1].

Zebrafish dengan usia 4-11 bulan lebih dipilih untuk digunakan pada metode induksi yang menggunakan larutan glukosa bila dibandingkan dengan zebrafish yang berusia 1-3 tahun [36]. Pada zebrafish larva, pengumpulan darah untuk pengukuran glukosa dapat dilakukan dengan uji fluoresin enzim gabungan. Untuk zebrafish dewasa, pengambilan darah lebih sulit karena ukuran badannya yang hanya 3-4 cm. Sehingga diharuskan menggunakan alternatif lain yaitu menggunakan metode pengukur glukosa genggam [1]. Secara umum, pengambilan darah pada zebrafish larva dan dewasa yaitu menggunakan metode syok hipotermal (dengan menggunakan es batu). Zebrafish yang terpapar air es menunjukkan berhentinya detak jantung setelah 10 menit namun ketika dipindahkan ke air tawar zebrafish kembali pulih [37].

### Aplikasi Zebrafish Sebagai Model Obesitas

Zebrafish merupakan model yang sesuai untuk digunakan dalam mempelajari gangguan metabolisme. Hal ini dikarenakan zebrafish mempunyai organ penting yang memiliki kemampuan dalam mengatur homeostasis energi serta metabolisme sebagaimana pada mamalia, termasuk organ pencernaan, dan jaringan adiposa. Zebrafish juga memiliki kemampuan dalam pengaturan nafsu makan, regulasi insulin dan penyimpanan lipid yang dapat dikembangkan dengan baik [1]. Aplikasi model obesitas pada zebrafish terdapat pada [tabel 2](#).

### Metode Induksi Zebrafish Sebagai Model Obesitas Zebrafish yang diberi GTE (*Green Tea Extract*)

Sebagaimana yang tercantum pada [tabel 2](#) mengenai metode induksi zebrafish, menurut Zang *et al.*, [38] pengujian obesitas dilakukan menggunakan larva zebrafish dengan 2 kelompok perlakuan (kontrol dan yang diberi GTE). Larva zebrafish diinduksi dengan pemberian pakan 75 µg kemudian diikuti 150 µg sampai bisa digunakan pada uji obesitas zebrafish dan terlihat penumpukan volume jaringan adiposanya. Larva zebrafish yang digunakan yaitu berukuran ±10 mm dan ditempatkan pada 6 wadah yang digunakan dengan masing-masing wadah berisi 5 ml larutan danieau dan 5 larva zebrafish. Pada hari pertama uji, kedua kelompok perlakuan diberi pakan kuning telur ayam rebus 0,1% sebagai pakan tinggi lemak, sedangkan pada hari kedua larva kelompok kontrol tidak diberi pakan dan kelompok GTE dipaparkan larutan GTE dengan dosis 100µg/mL [38].

Pengujian anti obesitas lainnya yaitu pada zebrafish betina dewasa yang berusia 3 bulan dengan dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan dengan menggunakan lima ikan per tangki yang berukuran 2 Liter seperti pada [tabel 3](#).

Selama pemberian makan, aliran air pada tangki akuarium dihentikan selama 2 jam dan artemia yang tersisa dibuang sekali sehari dengan menggunakan penyedot debu untuk menghindari polusi air [38].

**Tabel 3.** Pemberian makan zebrafish setiap kelompok perlakuan, sumber [38]

Kelompok Perlakuan	Pemberian makan	Waktu
Kontrol (n=5)	Butiran gluten	3 minggu
	(+) 5 mg artemia (udang air asin)	Dari minggu ke 2
Makan berlebih (n=5)	Butiran gluten	3 minggu
	(+) 60 mg artemia (udang air asin)	Dari minggu ke 2
GTE (n=5)	Gluten mengandung GTE (250 µg /g BB/hari)	30 menit sebelum pemberian artemia
	Artemia	3 minggu



### Zebrafish yang Diberi PM (*Palmaria Mollis*)

Menurut Nakayama *et al.*, [39] untuk membuat zebrafish menjadi model obesitas yaitu menggunakan zebrafish betina yang berumur 3 bulan lalu dibagi secara acak dengan 14 ekor zebrafish pertangki 2 L dan diberi makan secara terbatas (diet) selama 3 minggu pertama sebanyak 4 mg/zebrafish/hari menggunakan *Hikari Tropical Fancy Guppy*. Kemudian zebrafish dibagi secara acak menjadi tiga kelompok perlakuan dengan 5 ekor zebrafish pertangki 2 L, dan diberi makanan berlebih menggunakan artemia sebanyak 150 kal/hari. Untuk kelompok kontrol, pemberian artemia lebih rendah yaitu sekitar 30 kal/hari. Setelah 2 minggu *overfeeding*, zebrafish diberi makan artemia + 2 mg PM/zebrafish yang mengandung butiran gluten (sama dengan 50 µg PM/ zebrafish) atau hanya diberi butiran gluten setiap pagi selama empat minggu. Gluten dapat didefinisikan sebagai bahan pembawa [39].

### Zebrafish yang Diberi Bubuk Kayu Manis

Metode lain yaitu menggunakan zebrafish jantan atau betina dengan dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan [40,41], dan setiap kelompok perlakuan diberi makan 4 mg artemia/zebrafish [40], sedangkan menurut Kaur *et al.*, kelompok perlakuan 1 dan 2 sama seperti menurut Zang *et al.*, [38] namun yang membedakan pada kelompok perlakuan 3, yaitu zebrafish diinduksi dengan diberi makan berlebih artemia sebanyak 60 mg dengan dibagi 20 mg tiga kali dan ditambah 2 mg bubuk kayu manis tiga kali sehari dengan pemberian bubuk kayu manis tersebut dilakukan 20 menit sebelum pemberian makan artemia [41]. Bubuk kayu manis (*Cinnamomum verum*) merupakan famili Lauraceae yang memiliki efek dalam menurunkan

glukosa plasma, dan obesitas [43].

### Zebrafish yang Diberi Olanzapine

Menurut Khanal *et al.*, [42], untuk menjadikan zebrafish sebagai model obesitas maka dilakukan dengan cara menginduksi zebrafish dewasa menggunakan olanzapine dengan konsentrasi sebesar 0,5 µM [42].

### Pengukuran Volume Jaringan Adiposa Viseral pada zebrafish

Volume jaringan adiposa viseral diukur sebelum dan sesudah pemberian GTE (100 µg/mL) dengan menggunakan pewarnaan *nile red* sebanyak 2 kali. Pewarnaan *nile red* digunakan untuk mengukur akumulasi lipid jaringan lemak viseral pada larva dan mengevaluasi perubahan volume jaringan adiposa viseral [38].

### Pengukuran Kadar Glukosa Darah Puasa dan Triasilgliserol (TG) Plasma pada Zebrafish

Pada akhir percobaan percobaan pemberian makan, zebrafish dipuasakan dalam semalam untuk mengukur kadar glukosa darah puasa, dan mengukur kadar triasilgliserol (TG) plasma [39].

### Parameter Zebrafish sebagai Model Obesitas

#### Zebrafish yang Diberikan GTE (*Green Tea Extract*)

Larva zebrafish yang berusia 30 dpf yang dipapar dengan GTE dosis 100µg/mL menyebabkan terjadinya penurunan pada volume jaringan adipositas viseral yang cepat dan signifikan (-66%;  $p < 0,05$ ) jika dibandingkan dengan larva zebrafish yang menjalani diet tinggi lemak (kontrol). Jaringan adiposa viseral pada larva zebrafish



**Gambar 2.** Pengaruh GTE terhadap berat badan Zebrafish, diadopsi dari (Zang *et al.*, 2019) [38]

**Keterangan :** OF = *overfeeding*; GTE = *Green Tea Extract*

dapat dilihat menggunakan mikroskop fluoresensi setelah diberi pewarnaan *nile red* dengan area nil merah-positif (berwarna merah) menunjukkan Jaringan adiposa visceral [38].

Zebrafish dewasa yang diberi makan berlebihan dalam jangka waktu pendek yaitu selama satu minggu dapat meningkatkan berat badan kelompok zebrafish makan berlebih dibandingkan dengan kelompok makan kontrol. Perubahan berat badan antara kelompok yang diberi makan berlebih dengan yang diobati menggunakan GTE tidak terlihat secara signifikan, namun kelompok GTE menunjukkan penurunan berat badan seperti pada gambar 2. Selain itu, volume jaringan adiposa visceral pada kelompok makan berlebih menunjukkan lebih tinggi dibandingkan pada kelompok makan normal, namun GTE secara signifikan mengurangi volume jaringan adiposa visceral dibandingkan dengan kelompok makan berlebih. Untuk mengetahui pengaruh GTE pada metabolisme glikolipid dalam darah, maka dilakukan pengecekan trigliserida plasma (TG). Hasil tersebut menunjukkan bahwa Kadar TG plasma meningkat secara signifikan dengan pemberian makan berlebih dibandingkan dengan kelompok kontrol. Sebaliknya, pemberian GTE menghasilkan penurunan yang signifikan pada kadar TG plasma dibandingkan dengan kelompok makan berlebih [38].

### Zebrafish yang Diinduksi dengan *Palmaria Mollis* (PM)

Menurut Nakayama *et al.*, setelah empat minggu pemberian PM yaitu pada kelompok PM (DIO+PM) hasil yang diperoleh tidak mempengaruhi berat badan zebrafish sedangkan pada kelompok *overfeed* (DIO) mengalami kenaikan pada minggu ke 6. Hasil analisis *computed tomography* (CT) menunjukkan bahwa pemberian PM dapat menekan adipositas visceral pada kelompok zebrafish yang diberikan alternatif pengobatan menggunakan PM sedangkan kelompok DIO zebrafish volume jaringan adipositas visceralnya meningkat. Maka secara signifikan adipositas visceral meningkat maka PM menekan TG plasma [39]. Maka hal tersebut menunjukkan bahwa zebrafish yang menjalani diet kalori tinggi memiliki kesamaan dengan manusia yaitu meningkatnya kadar trigliserida plasma [44]. Selain itu, PM dapat menunjukkan efek penurunan lipid, hal tersebut disebabkan oleh aktivitas beta-oksidasi dan penghambatan lipogenesis. Dalam jaringan adiposa visceral, PM dapat menurunkan regulasi gen yang terlibat dalam diferensiasi adiposit awal dan akhir pada zebrafish, namun tidak jika diaplikasikan pada tikus [39].

### Zebrafish yang Diberikan Bubuk Kayu Manis

Berat badan dan indeks massa tubuh pada kelompok yang diberi makan berlebihan menggunakan artemia selama 4 minggu menyebabkan peningkatan berat badan secara signifikan serta obesitas dibandingkan dengan kelompok yang diberi makan normal [40,41]. Pada kelompok makan berlebih yang diberi tambahan kayu manis dengan dosis 6 mg, terjadi penurunan berat badan zebrafish yang signifikan. Selain itu, hasil IMT yang diperoleh menunjukkan bahwa kelompok kayu manis dengan dosis 6 mg + makan berlebih sebanding dengan kelompok makan normal dibanding dengan kelompok makan berlebih. Sehingga dapat dikatakan bahwa kayu manis dapat menurunkan IMT pada zebrafish yang diberi makan berlebihan dan membantu mengurangi efek yang diinduksi makan berlebih dan panjang badannya [41].

Hasil pengukuran kadar glukosa darah zebrafish setelah 4 minggu terjadi peningkatan yang signifikan pada kelompok makan berlebih dibandingkan dengan kelompok makan normal, sedangkan pada zebrafish yang diberi makan kayu manis dengan dosis 6 mg sebelum diberi makan berlebih, kadar glukosa darah sebanding dengan kelompok makan normal, yang berimplikasi bahwa kayu manis memiliki dampak penurunan glukosa darah pada zebrafish dan membantu mengobati diabetes yang diinduksi makan berlebihan. Sebagai tambahan, kelompok zebrafish yang diberi kayu manis dapat memberikan efek penurunan trigliserida pada zebrafish [41].

### Zebrafish yang Diberikan Paparan Olanzapine

Pemberian olanzapine pada zebrafish dewasa mempengaruhi peningkatan asupan makanan dan bertambahnya berat badan pada zebrafish dari jangka waktu 12 hari dan berlanjut hingga hari ke 20. Hal tersebut terjadi karena obesitas yang diinduksi olanzapine dihubungkan dengan hiperfagia yang menyebabkan penambahan berat badan [42]. Hiperfagia didefinisikan sebagai peningkatan nafsu makan [45]. Selain itu, paparan olanzapine pada zebrafish dapat meningkatkan kadar asam lemak bebas dan trigliserida plasma. Sebagai tambahan, paparan olanzapine pada larva zebrafish yang berusia 72 hpf (*hours post fertilization*) selama 24 jam menunjukkan dapat menurunkan metabolisme lipid yang dilihat dari teknik pewarnaan *oil red O* [42].

Dari semua hasil tersebut dapat dikatakan bahwa zebrafish yang diinduksi diet kaya lemak menggunakan artemia, pakan kuning telur maupun diinduksi dengan olanzapine dapat berfungsi sebagai model hewan untuk obesitas karena dari hasil yang diperoleh serupa dengan yang ditemukan pada mamalia [38,42,46]. Selain itu, metode

**Tabel 4.** Aplikasi zebrafish sebagai model DMT2

No	Referensi	Metode Induksi	Kriteria Zebrafish	Pengobatan	Hasil
1	[50,51]	Otohime B2 120 mg/zebrafish (kelompok DIO) dan 20 mg zebrafish (kelompok kontrol)	Jantan usia 4-6 bulan	Metformin	1. Kelompok DIO meningkatkan bobot badan, glukosa darah puasa, volume jaringan adiposa visceral, trigliserida plasma dan akumulasi lipid di hati 2. Pemberian metformin menurunkan glukosa darah puasa zebrafish secara signifikan
2	[49]	Streptozotocin dosis 20 mg/kg b.w	Dewasa berukuran ± 2-5 cm panjangnya	Diosgenin dan Metformin (sebagai pembanding)	Diosgenin menurunkan konsentrasi glukosa darah
3	[52]	Konsentrasi 50 mM larutan glukosa + glukosa monohidrat, obati menggunakan metformin dan silibin	Berusia 7 bulan	Kombinasi silibin dan metformin	Silibin menurunkan glukosa darah dan metformin mengurangi jumlah glukosa yang diproduksi oleh hati.
4	[1]	Direndam dalam konsentrasi glukosa 0% dan 2%, atau paran kronis larutan glukosa 2%	Dewasa	-	Peningkatan kadar glukosa darah dan gangguan respon terhadap insulin eksogen.

DIO yang diaplikasikan pada zebrafish hasilnya serupa dengan model hewan tikus, contohnya pada rodent yang di induksi menggunakan metode DIO dapat menyebabkan peningkatan berat jaringan adiposa, kelainan metabolisme glukosa dan lipid pada tikus [47].

### Aplikasi Zebrafish Sebagai Model Diabetes Melitus Tipe 2

Pengaplikasian model DMT2 pada zebrafish yang paling umum yaitu dilakukan dengan metode diet tinggi lemak atau kelebihan nutrisi, pencelupan glukosa dan pemberian streptozotocin [48,49] sebagaimana pada tabel 4.

### Metode Induksi Zebrafish Sebagai Model Diabetes Melitus Tipe 2

#### Metode DIO (Diet Induksi Obesitas)

Sebagaimana yang tercantum pada tabel 4 mengenai metode induksi, zebrafish jantan yang berusia 4-6 bulan [50,51] dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok DIO dan kelompok kontrol dengan menggunakan tangki akuarium berukuran 2 Liter per lima ekor zebrafish. Pada kelompok DIO, zebrafish diinduksi dengan pemberian makan berlebih menggunakan 120 mg otohime B2/zebrafish setiap harinya, sedangkan kelompok kontrol diinduksi dengan 20 mg otohime B2/zebrafish setiap harinya. Otohime B2 merupakan makanan yang berukuran 0,36-0,65 mm dengan kepadatan energi 3,39 kkal/g serta mengandung minimal 11% lemak mentah, 51% protein kasar, kalsium mentah 2,3%, fosfor 1,5%, maksimum 15%

abu, 3% minyak mentah serat dan kelembaban 6,5% [51].

Zebrafish kelompok DIO yang diinduksi dengan makan berlebih menunjukkan keunggulan menjadi obesitas seperti pada manusia dan mamalia lain dibanding kelompok kontrol, karena dapat meningkatkan bobot badan secara signifikan, glukosa darah puasa, volume jaringan adiposa visceral, trigliserida plasma dan akumulasi lipid di hati pada zebrafish [10,50,51]. Hal tersebut sesuai dengan patofisiologi yaitu ketika periode asupan karbohidrat berlebih maka akan meningkatnya glukosa dalam darah serta meningkatkan akumulasi lipid di otot rangka dan hati, menghasilkan lipotoksitas yang meningkatkan resistensi insulin. Bersamaan dengan resistensi insulin, insulinopenia dapat terjadi akibat akumulasi lipid di pankreas yang diikuti oleh apoptosis. Perubahan tersebut akan mendorong berkembang terjadinya DMT2 [53,54]. Resistensi insulin merupakan keadaan dimana berkurangnya kemampuan insulin untuk bekerja dengan tindakan biologis pada berbagai konsentrasi [53].

#### Metode Induksi dengan Streptozotocin

Zebrafish dewasa yang berukuran ±3-5 cm panjangnya diinduksi menggunakan streptozotocin dengan dosis 20 mg/kg b.w melalui rute intravena pemberiannya dengan memakai jarum suntik berukuran 1 ml dengan jarum 1-inci dengan interval 7 hari dalam jangka waktu 28 hari [49]. Hasil yang diperoleh menunjukkan hiperglikemia secara signifikan dengan glukosa plasma meningkat setelah selesainya pemberian streptozotocin triwulanan pada hari ke 28 dengan hiperglikemia menetap setelah pemberian



dosis kedua streptozotocin (hari ke 14). Streptozotocin didefinisikan sebagai suatu kondisi hiperglikemik karena kemampuannya untuk secara langsung menyebabkan sel  $\beta$  pankreas mengalami kerusakan, sehingga menyebabkan produksi insulin yang tidak konsisten dan terganggu [49].

### Metode Induksi dengan Larutan Glukosa

Metode induksi lain yaitu dengan cara menginduksi zebrafish yang berusia 7 bulan menggunakan konsentrasi larutan glukosa sebanyak 50 mM didalam tangki akuarium. Setelah 5 hari, zebrafish diberi perlakuan dengan penambahan glukosa monohidrat secara bertahap ke dalam tangki akuarium serta menaikkan dosis konsentrasi larutan glukosa menjadi 100 mM selama durasi waktu 3 hari dan hari selanjutnya menaikkan kembali dosis konsentrasi larutan glukosa menjadi 200 mM [52].

Zebrafish muda yang berusia 4-11 bulan dapat menyesuaikan diri dengan lebih baik terhadap paparan glukosa dibanding zebrafish yang berusia 1-3 tahun, namun hiperglikemia persisten dapat dicapai bahkan pada zebrafish muda dengan cara meningkatkan glukosa secara bertahap [36].

Metode induksi yang paling mudah yaitu dengan cara perendaman zebrafish di dalam larutan glukosa. Zebrafish dewasa di rendam di dalam konsentrasi glukosa 0% dan 2% secara bergantian setiap hari selama 28-30 hari, atau dengan paparan kronis larutan glukosa 2% selama 14 hari, hal tersebut menunjukkan fenotipe diabetes, termasuk peningkatan kadar glukosa darah serta gangguan respon terhadap insulin eksogen [1].

### Pengukuran Tes Toleransi Glukosa Pada Zebrafish

Pengukuran tes toleransi glukosa pada zebrafish yaitu dengan cara membius zebrafish menggunakan air es secara bertahap dari suhu 17°C sampai 12°C dengan durasi waktu selama 5 menit. Suntik zebrafish secara intraperitoneal dengan 0,5 mg glukosa/g berat zebrafish, biarkan zebrafish pulih selama durasi 30, 90 dan 180 menit setelah injeksi. Kemudian darah dikumpulkan dan glukosa darah ditentukan pada waktu yang telah ditentukan [51]. Pengukuran tes toleransi glukosa secara intraperitoneal serupa dengan model hewan rodent [55].

Cara lain untuk mengukur glukosa darah pada zebrafish maka dilakukan dengan cara menyuntik mati zebrafish lalu ekor posterior dipotong dan setetes darah dioleskan ke strip glukometer [52].

## Pengobatan Antidiabetes Melitus Tipe 2 Pada Zebrafish

### Menggunakan Metformin

Zebrafish diberikan metformin dengan konsentrasi 20  $\mu$ M dan harus diganti setiap harinya. Kemudian zebrafish yang telah terpapar metformin selama 7 hari maka sampel darahnya diambil. Efek yang diberikan metformin pada zebrafish sebagai anti-DMT2 menunjukkan glukosa darah puasa pada zebrafish menurun secara signifikan [51]. Hal tersebut menunjukkan bahwa metformin dapat diaplikasikan sebagai obat anti-DMT2 pada zebrafish [51,52].

### Menggunakan Diosgenin dan Metformin sebagai Pembanding

Zebrafish dapat diberikan alternatif pengobatan dengan menggunakan diosgenin dosis 20 dan 40 mg/BW serta diberikan metformin dengan dosis 500 mg sebagai kontrol standar positif [49]. Diosgenin merupakan saponin fitosterol yang digunakan sebagai alternatif obat bahan alam dan memiliki efek farmakologis sebagai antidiabetes [49,56]. Diosgenin pada konsentrasi 20 dan 40 mg/kg bb menunjukkan dapat menurunkan konsentrasi glukosa secara signifikan ( $p < 0,01$ ) hal tersebut terjadi karena efek penghambatan alfa-glukosidase dan keberadaan B-sitosterol [49].

### Menggunakan Silibinin dan Metformin

Terapi pengobatan alternatif lain yaitu dilakukan dengan pemberian kombinasi metformin dengan silibinin [52]. Silibinin merupakan bahan yang ada di dalam ekstrak yang berasal dari buah-buahan kering *silybum marianum* yang memiliki efek farmakologis sebagai anti-diabetes dengan merangsang penurunan resistensi insulin [57].

Hasil yang diperoleh dari pengobatan menggunakan metformin dan silibinin pada zebrafish yaitu menunjukkan kadar glukosa darah turun ( $p < 0,05$ ). Hal tersebut karena silymarin menurunkan gula darah dan metformin mengurangi jumlah glukosa yang diproduksi oleh hati, sehingga menurunkan penyerapan glukosa tubuh serta meningkatkan efek insulin pada tubuh [52].

## Kesimpulan

Pengaplikasian model obesitas dan DMT2 pada zebrafish yang diinduksi makanan dan obat menunjukkan keunggulan menjadi obesitas seperti pada manusia dan mamalia lain, karena dapat meningkatkan bobot badan secara signifikan, glukosa darah puasa, volume jaringan adiposa visceral, trigliserida plasma dan akumulasi lipid di

hati zebrafish. Selain itu, zebrafish yang diinduksi dengan metode perendaman glukosa diperoleh hasil meningkatnya kadar glukosa darah dan gangguan respon terhadap insulin eksogen. Pemberian terapi pada zebrafish menggunakan alternatif dari bahan alam seperti GTE, PM, diosgenin, bubuk kayu manis memberikan hasil yang cukup baik, sehingga zebrafish bisa dipertimbangkan sebagai model hewan alternatif lain jika tidak bisa menggunakan model hewan rodent dan model hewan yang ideal untuk diaplikasikan pada model obesitas dan DMT2.

## Ucapan Terima Kasih

Terima Kasih kepada Prodi S1 Fakultas Farmasi, Bhakti Kencana University yang telah memfasilitasi dalam proses penyusunan review artikel ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik.

## Referensi

- Zang L, Maddison LA, Chen W. Zebrafish as a model for obesity and diabetes. *Front Cell Dev Biol.* 2018;6(AUG):1–13. <https://doi.org/10.3389/fcell.2018.00091>
- Baynest HW. Classification, Pathophysiology, Diagnosis and Management of Diabetes Mellitus. *J Diabetes Metab.* 2015;06(05):1–10. <https://doi.org/10.4172/2155-6156.1000541>
- WHO. Diakses dari : <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>, pada tanggal 20 November 2020, pukul 17.00 WIB; 2020.
- UNICEF EA and P. REGIONAL OVERVIEW OF FOOD SECURITY AND NUTRITION. 2019. 12–16 hal.
- Risikesdas. Hasil Utama Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS). 2018. 1–200 hal. <https://doi.org/10.1088/1751-8113/44/8/085201>
- WHO. Diakses dari : 2020. <https://doi.org/https://www.who.int/westernpacific/health-topics/obesity>, pada tanggal 02 Desember 2020, pukul 08.00 WIB
- Faillaci F, Milosa F, Critelli RM, Turola E, Schepis F, Villa E. Obese zebrafish: A small fish for a major human health condition. *Anim Model Exp Med.* 2018;1(4):255–65. <https://doi.org/10.1002/ame2.12042>
- Vargas R. Childhood obesity and the zebrafish as a model for the study of diet-induced obesity and its impact in cardiovascular system in adulthood - An overview. *Trends Med.* 2018;18(3):1–4. <https://doi.org/10.15761/tim.1000142>
- Andersen CJ, Murphy KE, Fernandez ML. Impact of obesity and metabolic syndrome on immunity. *Adv Nutr.* 2016;7(1):66–75. <https://doi.org/10.3945/an.115.010207>
- Heckler K, Kroll J. Zebrafish as a model for the study of microvascular complications of diabetes and their mechanisms. *Int J Mol Sci.* 2017;18(9):1–9. <https://doi.org/10.3390/ijms18092002>
- Yuniarto A, Sukandar EY, Fidrianny I, Crystalia AA, Adnyana IK. Zebra fish model of obesity: Relevance to metabolic syndrome. *Int J Green Pharm.* 2019;13(2):175–9. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.22377/ijgp.v13i2.2499>
- Tabassum N, Tai H, Jung DW, Williams DR. Fishing for Nature's Hits: Establishment of the Zebrafish as a Model for Screening Antidiabetic Natural Products. *Evidence-based Complement Altern Med.* 2015;2015. <https://doi.org/10.1155/2015/287847>
- Viana MV, Moraes RB, Fabbrin AR, Santos MF, Gerchman F. Avaliação e tratamento da hiperglicemia em pacientes graves. *Rev Bras Ter Intensiva.* 2014;26(1):71–6. <https://doi.org/10.5935/0103-507X.20140011>
- Yeni CM, Talima A, Milzam H. Description of Gestational Mellitus Diabetes in the General Hospital Dr. Zainoel Abidin Banda Aceh in 2018. *Budapest Int Res Exact Sci J.* 2020;2(2):236–40. <https://doi.org/10.33258/birex.v2i2.979>
- Schindler C, Engeli S. Modern pharmacological treatment of obese patients. *Ther Adv Endocrinol Metab.* 2020;1–19. <https://doi.org/10.1177/2042018819897527>
- Wróbel MP, Marek B, Kajdaniuk D, Rokicka D, Szymborska-Kajane A, Strojek K. Metformin — a new old drug. *Endokrynol Pol.* 2017;68(4):482–96. <https://doi.org/10.5603/ep.2017.0050>
- Vieira R, Souto SB, Elena S, Ana L, Severino P, Jose S, et al. Sugar-Lowering Drugs for Type 2 Diabetes Mellitus and Metabolic Syndrome — Review of Classical and New Compounds : Part-I. *Pharmaceuticals.* 2019; <https://doi.org/https://dx.doi.org/10.3390%2Fph12040152>
- Marín-peñalver JJ, Martín-timón I, Sevillano-collantes C, Cañizo-gómez FJ, Marín-peñalver JJ, Martín-timón I, et al. Update on the treatment of type 2 diabetes mellitus. 2016;7(17):354–95. <https://doi.org/10.4239/wjd.v7.i17.354>
- Diani A, Pulungan AB. Tata laksana Metformin Diabetes Mellitus Tipe 2 pada Anak Dibandingkan dengan obat Anti Diabetes Oral yang lain. *Sari Pediatr.* 2016;11(6):395. <https://doi.org/10.14238/sp11.6.2010.395-400>
- Rena G, Hardie DG, Pearson ER. The mechanisms of action of metformin. *Diabetologia.* 2017;60(9):1577–85. <https://doi.org/10.1007/s00125-017-4342-z>
- Zhou T, Xu X, Du M, Zhao T, Wang J. A preclinical overview of metformin for the treatment of type 2 diabetes. *Biomed Pharmacother.* 2018;106(July):1227–35. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.07.085>
- Benchoula K, Khatib A, Quzwain FMC, Che Mohamad CA, Wan Sulaiman WMA, Wahab RA, et al. Optimization of hyperglycemic induction in zebrafish and evaluation of its blood glucose level and metabolite fingerprint treated with psychotria malayana Jack Leaf extract. *Molecules.* 2019;24(8). <https://doi.org/10.3390/molecules24081506>
- Zheng Y, Ley SH, Hu FB. Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nat Rev Endocrinol.* 2018;14(2):88–98. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2017.151>
- Fernandes MR, de Lima NV, Rezende KS, Santos ICM, Silva IS, Guimarães R de CA. Animal models of obesity in rodents. An integrative review. *Acta Cir Bras.* 2016;31(12):840–4. <https://doi.org/10.1590/S0102-865020160120000010>
- Husna F, Suyatna FD, Arozal W, Purwaningsih EH. Model Hewan Coba pada Penelitian Diabetes. *Pharm Sci Res.* 2019;6(3):131–41. <https://doi.org/10.7454/psr.v6i3.4531>
- Meyers JR. Zebrafish: Development of a Vertebrate Model Organism. *Curr Protoc Essent Lab Tech.* 2018;16(1):1–26. <https://doi.org/10.1002/cpet.19>
- Teame T, Zhang Z, Ran C, Zhang H, Yang Y, Ding Q, et al. The use of zebrafish (*Danio rerio*) as biomedical models. *Anim Front.* 2019;9(3):68–77. <https://doi.org/10.1093/af/vfz020>
- Reed B, Jennings M. Guidance on the housing and care of Zebrafish. *Res Anim Dep.* 2011;1–64.
- Holtzman NG, Kathryn Iovine M, Liang JO, Morris J. Learning to fish with genetics: A primer on the vertebrate model *Danio rerio*. *Genetics.* 2016;203(3):1069–89. <https://doi.org/10.1534/genetics.116.190843>
- Yuniarto A, Sukandar EY, Fidrianny I, Adnyana IK. Aplikasi Zebrafish (*Danio rerio*) pada Beberapa Model Penyakit Eksperimental. *Media Pharm Indones.* 2017;1(3):116. <https://doi.org/10.24123/mpi.v1i3.215>
- White R, Rose K, Zon L. Zebrafish cancer: The state of the art and the path forward. *Nat Rev Cancer.* 2013;13(9):624–36. <https://doi.org/10.1038/nrc3589>
- William W. Ikan zebra (*Danio rerio*) dan Kegunaanya dalam Penelitian Fisiologi. *J Kedokt Meditek.* 2017;23(64):41–6.

- [33]. Elemans LMH, Cervera IP, Riley SE, Wafer R, Fong R, Tandon P, et al. Quantitative analyses of adiposity dynamics in zebrafish. *Adipocyte*. 2019;8(1):330–8. <https://doi.org/10.1080/21623945.2019.1648175>
- [34]. Matsuda H. Zebrafish as a model for studying functional pancreatic  $\beta$  cells development and regeneration. *Dev Growth Differ*. 2018;60(6):393–9. <https://doi.org/10.1111/dgd.12565>
- [35]. McCluskey BM, Postlethwait JH. Phylogeny of zebrafish, a “model species,” within *Danio*, a “model genus.” *Mol Biol Evol*. 2015;32(3):635–52. <https://doi.org/10.1093/molbev/msu325>
- [36]. Connaughton VP, Baker C, Fonde L, Gerardi E, Slack C. Alternate Immersion in an External Glucose Solution Differentially Affects Blood Sugar Values in Older Versus Younger Zebrafish Adults. *Zebrafish*. 2016;13(2):87–94. <https://doi.org/10.1089/zeb.2015.1155>
- [37]. Lidster K, Readman GD, Prescott MJ, Owen SF. International survey on the use and welfare of zebrafish *Danio rerio* in research. *J Fish Biol*. 2017;90(5):1891–905. <https://doi.org/10.1111/jfb.13278>
- [38]. Zang L, Shimada Y, Nakayama H, Kim Y, Chu DC, Juneja LR, et al. RNA-seq based transcriptome analysis of the anti-obesity effect of green tea extract using zebrafish obesity models. *Molecules*. 2019;24(18):1–11. <https://doi.org/10.3390/molecules24183256>
- [39]. Nakayama H, Shimada Y, Zang L, Terasawa M, Nishiura K, Matsuda K, et al. Novel anti-obesity properties of palmaria mollis in zebrafish and mouse models. *Nutrients*. 2018;10(10):1–16. <https://doi.org/10.3390/nu10101401>
- [40]. Zang L, Shimada Y, Tanaka T, Nishimura N. Rhamnan sulphate from *Monostroma nitidum* attenuates hepatic steatosis by suppressing lipogenesis in a diet-induced obesity zebrafish model. *J Funct Foods*. 2015;17:364–70. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.05.041>
- [41]. Kaur N, Chugh H, Tomar V, Sakharkar MK, Dass SK, Chandra R. Cinnamon attenuates adiposity and affects the expression of metabolic genes in Diet-Induced obesity model of zebrafish. *Artif Cells, Nanomedicine Biotechnol*. 2019;47(1):2930–9. <https://doi.org/10.1080/21691401.2019.1641509>
- [42]. Khanal P, Patil BM, Unger BS. Zebrafish shares common metabolic pathways with mammalian olanzapine-induced obesity. *Futur J Pharm Sci*. 2020;6(1). <https://doi.org/10.1186/s43094-020-00049-7>
- [43]. Mollazadeh H, Hosseinzadeh H. Cinnamon effects on metabolic syndrome: a review based on its mechanisms Mollazadeh H, Hosseinzadeh H. Cinnamon effects on metabolic syndrome: a review based on its mechanisms. *Iran J Basic Med Sci*. 2016;19(6):1258–70.
- [44]. Den Broeder MJ, Kopylova VA, Kamminga LM, Legler J. Zebrafish as a Model to Study the Role of Peroxisome Proliferating-Activated Receptors in Adipogenesis and Obesity. *PPAR Res*. 2015;2015(1). <https://doi.org/10.1155/2015/358029>
- [45]. Orsso CE, Colin-Ramirez E, Field CJ, Madsen KL, Prado CM, Haqq AM. Adipose tissue development and expansion from the womb to adolescence: An overview. *Nutrients*. 2020;12(9):1–21. <https://doi.org/10.3390/nu12092735>
- [46]. Meguro S, Hasumura T, Hase T. Body Fat Accumulation in Zebrafish Is Induced by a Diet Rich in Fat and Reduced by Supplementation with Green Tea Extract. *PLoS One*. 2015;1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120142>
- [47]. Kimura Y, Yamada A, Takabayashi Y, Tsubota T, Kasuga H. Development of a new diet-induced obesity (DIO) model using wistar lean rats. *Exp Anim*. 2018;67(2):155–61. <https://doi.org/10.1538/expanim.17-0079>
- [48]. Zang L, Shimada Y, Nakayama H, Chen W, Okamoto A, Koide H, et al. Therapeutic silencing of centromere protein X ameliorates hyperglycemia in zebrafish and mouse models of type 2 diabetes mellitus. *Front Genet*. 2019;10(JUL):1–11. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00693>
- [49]. Oyelaja-Akinsipo OB, Dare EO, Katare DP. Protective role of diosgenin against hyperglycaemia-mediated cerebral ischemic brain injury in zebrafish model of type II diabetes mellitus. *Heliyon*. 2020;6(1):e03296. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03296>
- [50]. Okazaki F, Zang L, Nakayama H, Chen Z, Gao ZJ, Chiba H, et al. Microbiome Alteration in Type 2 Diabetes Mellitus Model of Zebrafish. *Sci Rep*. 2019;9(1):1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37242-x>
- [51]. Zang L, Shimada Y, Nishimura N. Development of a Novel Zebrafish Model for Type 2 Diabetes Mellitus. *Sci Rep*. 2017;7(1):1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01432-w>
- [52]. Mohammadi H, Manouchehri H, Changizi R, Booterabi F, Khorramizadeh MR. Concurrent metformin and silibinin therapy in diabetes: assessments in zebrafish (*Danio rerio*) animal model. *J Diabetes Metab Disord*. 2020; <https://doi.org/10.1007/s40200-020-00637-7>
- [53]. Kesavadev J, Jawad F, Deeb A, Coetzee A, Ansari MAJ, Shrestha D. The Diabetes Textbook. *Diabetes Textb*. 2019; <https://doi.org/10.1007/978-3-030-11815-0>
- [54]. Hernández RJ, Mahmoud AM, Königsberg M, López NE, Guerrero D. Biomedicine & Pharmacotherapy Obesity: Pathophysiology, monosodium glutamate-induced model and anti-obesity medicinal plants. *Biomed Pharmacother*. 2019;111(October 2018):503–16. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.12.108>
- [55]. Barrière DA, Noll C, Roussy G, Lizotte F, Kessai A, Kirby K, et al. Combination of high-fat/high-fructose diet and low-dose streptozotocin to model long-term type-2 diabetes complications. *Sci Rep*. 2018;8(1):1–17. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18896-5>
- [56]. Gan Q, Wang J, Huang Q, Hu J, Lou G, Xiong H, et al. The role of diosgenin in diabetes and diabetic complications. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2020;198(December 2019). <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2019.105575>
- [57]. Mohammadi Arvanag F, Bayrami A, Habibi-Yangjeh A, Rahim Pourn S. A comprehensive study on antidiabetic and antibacterial activities of ZnO nanoparticles biosynthesized using *Silybum marianum* L seed extract. *Mater Sci Eng C*. 2019;97(April 2018):397–405. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.12.058>



Copyright © 2021 The author(s). You are free to share (copy and redistribute the material in any medium or format) and adapt (remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially) under the following terms: Attribution — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; ShareAlike — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)