

EVALUASI ANTIOKSIDAN DAN ANTIDIABETIK INFUSA DAUN KARAMUNTING (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) pada IKAN ZEBRA (*Danio rerio*)

Susana Elya Sudradjat^{1,3*}, Ika Rahayu^{2,3}

¹Departemen Farmakologi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Kristen Krida Wacana, Jakarta

²Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Kristen Krida Wacana, Jakarta

³Research Center for Jamu and Herbal Medicine (Ja-He), Universitas Kristen Krida Wacana, Jakarta

*) Correspondence Author

Susana Elya Sudradjat

Departemen Farmakologi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Universitas Kristen Krida Wacana, Jalan Arjuna Utara, No.6. Jakarta 11470

Email: susana.sudrajat@ukrida.ac.id

Telepon: +6287885301989

Abstract

Background: Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) is a potential herbal plant that can be found in Kalimantan, Indonesia. This plant is widely used because of its benefits for health. Several studies show its ability as anti-inflammatory, anti-bacterial, anti-fungal, and anti-diabetic.

Objective: This study aimed to evaluate the chemical content, antioxidant and anti-diabetic activity of the infusion of karamunting leaves.

Methods: Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LCMS) was used for the phytochemical analysis of karamunting leaf infusion. Total phenolic content was calculated using Folin Ciocalteu's reagent. Antioxidant activity test using DPPH free radicals. An anti-diabetic activity test was performed using hyperglycemic-induced zebrafish.

Results: There were 14 active compounds detected. There are three main fragments, namely Tectoridin, Engeletin, and Rhamnetin-3-O rhamnoside, in the infusion of karamunting leaves. The total phenolic content of the infusion of karamunting leaves was $288 \pm 5.94 \mu\text{g GAE/g}$. The antioxidant activity of karamunting leaf infusion was more potent than that of BHT (IC_{50} infusion $0.79 \pm 0.33 \mu\text{g/mL}$, BHT $13.5 \pm 2.5 \mu\text{g/mL}$). Karamunting leaf infusion of 4% had a hypoglycemic effect equivalent to metformin compared to 1% and 2% infusion.

Conclusions: The main bioactive compounds in the infusion of karamunting leaves are Tectoridin, Engeletin, and Rhamnetin-3-O rhamnoside. The antioxidant activity of karamunting leaf infusion is powerful. Karamunting leaf infusion has the potential as an antihyperglycemic agent.

Keywords: *Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk., karamunting, anti-diabetic, zebrafish

Abstrak

Latar belakang: Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) merupakan tanaman herbal potensial yang ditemukan di daerah Kalimantan, Indonesia. Tanaman ini banyak dimanfaatkan oleh masyarakat luas karena dipercaya berkhasiat bagi kesehatan. Beberapa penelitian menunjukkan kemampuannya sebagai antiinflamasi, anti-bakteri, anti-fungi dan antidiabetik.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi kandungan kimia, aktivitas antioksidan dan anti-diabetes dari infusa daun karamunting.

Metode: Liquid Chromatography Mass Spectrometry (LCMS) digunakan untuk analisa fitokimia infusa daun karamunting. Kadar total fenolik dihitung dengan menggunakan reagen Folin Ciocalteu's. Uji aktivitas antioksidan menggunakan radikal bebas DPPH. Uji aktivitas antidiabetes dilakukan menggunakan ikan zebra yang diinduksi hiperglikemik.

Hasil: Terdapat 14 senyawa aktif terdeteksi. Ada tiga fragmen utama yaitu Tectoridin, Engeletin, dan Rhamnetin-3-O rhamnosida dalam infusa daun karamunting. Kadar fenolik total infusa daun karamunting adalah $288 \pm 5.94 \mu\text{g GAE/g}$. Aktivitas antioksidan infusa daun karamunting lebih kuat dibanding BHT (IC_{50} infusa $0.79 \pm 0.33 \mu\text{g/mL}$, BHT $13.5 \pm 2.5 \mu\text{g/mL}$). Infusa daun karamunting 4% memiliki efek hipoglikemia yang setara dengan metformin dibandingkan dengan infusa 1% dan 2%.

Kesimpulan: Senyawa bioaktif utama dalam infusa daun karamunting adalah Tectoridin, Engeletin, dan Rhamnetin-3-O rhamnosida. Aktivitas antioksidan infusa daun karamunting sangat kuat. Infusa daun karamunting mempunyai potensi sebagai bahan antihiperglikemia.

Kata Kunci: *Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk., karamunting, antidiabetes, ikan zebra

PENDAHULUAN

Rhodomyrtus tomentosa (Aiton) Hassk. atau dikenal sebagai karamunting merupakan tanaman herbal potensial yang banyak ditemukan di Kalimantan. Karamunting merupakan tumbuhan berbunga yang termasuk dalam famili *Myrtaceae*, asli Asia Selatan dan Tenggara¹. Karamunting merupakan bahan alam yang bermanfaat bagi kesehatan seperti serat pangan, asam lemak esensial, protein, asam amino, karbohidrat, lipid, vitamin, dan mineral, serta senyawa fenolik^{2,3}.

Penelitian sebelumnya pada tanaman ini telah menunjukkan aktivitas antibakteri, antifungi^{4,5}, aktivitas antioksidan⁶, aktivitas antiinflamasi dan anti-ulkus⁷⁻⁹, antidiabetik¹⁰. Konstituen kimia buah karamunting telah dilaporkan termasuk triterpen, steroid, dan senyawa fenolik³. Senyawa fenolik telah dilaporkan bahwa memiliki potensi terapi dalam mengurangi komplikasi diabetes¹⁰.

Meskipun karamunting telah dilaporkan baru-baru ini mengenai aktivitas biologisnya dari berbagai ekstrak senyawa organik, akan tetapi studi lebih lanjut tentang aktivitas biologis dari ekstrak polar masih terbatas. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi kandungan senyawa aktif, aktivitas antioksidan dan anti-diabetes dari infusa daun karamunting.

METODE

Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun karamunting (*R. tomentosa* (Aiton) Hassk.) suku *Myrtaceae* yang diperoleh dari hutan Palangkaraya dan telah diidentifikasi oleh Herbarium Bogoriense¹¹, Direktorat Pengelolaan Koleksi Ilmiah BRIN Cibinong. Larutan glukosa 2%, larutan metformin 10 μ mol dan aqua destilata. Analisa senyawa bioaktif dilakukan menggunakan LC-MS (Waters). Kadar antioksidan dan kandungan total fenolik diukur menggunakan spektrofotometer *Biochrome Libra S22* (United Kingdom). Pengukuran kadar glukosa darah pada ikan zebra menggunakan *Easy Touch*.

Preparasi Infusa

Infusa daun karamunting yang digunakan dalam uji aktivitas antioksidan dan anti-diabetes adalah 1%, 2%, dan 4%. Sebanyak 10 gram, 20 gram dan 40 gram bubuk daun karamunting ditimbang, kemudian ditambahkan 1000 mL aqua bidestilata. Campuran tersebut dipanaskan pada suhu 90°C selama 15 menit, disaring, dan ditambahkan aqua sampai volume 1000 mL.

Kadar Fenolik Total

Reagen Folin-Ciocalteu's digunakan untuk menentukan kadar fenolik total. Standar yang digunakan adalah asam galat. Sebanyak 0,5 mL sampel ditambahkan ke dalam 2,5 mL reagen Folin-

Ciocalteu's 10%. Kedua larutan dipastikan bercampur secara homogen dan diinkubasi selama 10 menit. Setelah itu, 2,5 mL Na₂CO₃ 75 g/L ditambahkan ke dalam campuran tersebut. Campuran tersebut diinkubasi kembali selama dua jam pada suhu ruang. Absorbansi dari hasil campuran warna itu diukur pada panjang gelombang 765 nm. Kadar total fenolik dihitung sebagai ekuivalen asam galat (GAE) berdasarkan kurva kalibrasi larutan standar asam galat yang diekspresikan GAE/g massa kering¹¹.

Analisa Fitokimia Infusa Daun Karamunting Dengan Liquid Chromatography Mass Spectrometry (LCMS)

LCMS/MS-QTOF (Waters) digunakan untuk menganalisis senyawa bioaktif dalam infusa daun karamunting. Mode operasi yang digunakan adalah TOF MSE yang dilengkapi dengan sumber Ionisasi Elektrospray ESI (mode ion positif dan negatif). Kolom yang digunakan adalah C18. Fase gerak yang digunakan dalam analisa ini adalah asam format 0,1% dalam asetonitril dan asam format 0,1% dalam aquabidest dengan total laju aliran 0,6 mL/menit. Sebelum diinjeksikan, sampel sebanyak 0,5 gram dilarutkan dalam 10 mL metanol kemudian dihomogenkan. Campuran itu kemudian disaring menggunakan filter membran GHP/PTFE 0,22 µm. Sampel yang diinjeksikan sebanyak 10 µL. *Software* UNIFI digunakan untuk mendeteksi senyawa bioaktif sampel dengan cara mencocokkan hasil pembacaan sampel dengan spektrum massa di *library* UNIFI.

Uji Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan dilakukan dengan melakukan pengukuran kemampuan infusa karamunting dalam meredam radikal bebas DPPH. Sebanyak 500 µL infusa pada konsentrasi yang berbeda direaksikan dengan 1500 µL larutan DPPH 150 µM dalam metanol absolut. Campuran di inkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer (Biochrome Libra S22). Kemampuan pemadaman radikal DPPH dihitung menggunakan rumus berikut ini, dimana H dan Ho merupakan densitas optikal dari pelarut dengan dan tanpa sampel¹².

$$\text{Aktivitas pemadaman DPPH (\%)} = \frac{(1-H)}{H_0} \times 100\%$$

Uji Aktivitas Anti-Diabetes

A. Preparasi Ikan Zebra

Ikan zebra (*Danio rerio*) dewasa (3-5 cm) diaklimatisasi selama 14 hari pada pengaturan suhu air 28±2°C. Ikan sejumlah 15 ekor dimasukkan kedalam akuarium berukuran 5 liter dengan siklus 14 jam terang dan 10 jam gelap. Makanan diberikan 3 kali sehari dengan Tetramine *flakes* yang mengandung 48% protein, 8% lemak, 2% serat (TetraMin™) serta diberikan larva udang segar¹².

Ikan zebra dibagi menjadi 5 kelompok. Masing-masing kelompok terdiri atas 15 ekor ikan dengan pengelompokan sebagai berikut:

- a. Kelompok 1 (kontrol negatif) adalah ikan zebra yang hanya menggunakan NaCl fisiologis

- b. Kelompok 2 (kontrol positif) adalah ikan hiperglikemik yang dimasukkan kedalam larutan metformin 10 μ mol.
- c. Kelompok 3 adalah ikan hiperglikemik yang diberi infusa daun karamunting dosis 1%
- d. Kelompok 4 adalah ikan hiperglikemik yang diberi infusa daun karamunting dosis 2%
- e. Kelompok 5 adalah ikan hiperglikemik yang diberi infusa daun karamunting dosis 4%

B. Uji Aktivitas Anti-Diabetes Pada Ikan Zebra Hiperglikemik

Sebanyak 15 ekor ikan zebra yang akan diinduksi hiperglikemik dimasukkan kedalam akuarium volume 5 liter yang berisi larutan glukosa 2% (111mMol) selama 14 hari pada suhu kamar. Larutan glukosa diganti seminggu tiga kali untuk mencegah pertumbuhan mikroorganisme yang tidak diinginkan¹³.

Kelompok kontrol menggunakan larutan NaCl fisiologis, tidak menggunakan larutan glukosa. *Wash out* dilakukan selama 7 hari dengan cara memasukkan ikan kedalam akuarium yang berisi air normal tanpa glukosa¹⁴.

Ikan zebra yang telah diinduksi dengan larutan glukosa dan di *wash out*, kemudian dimasukkan kedalam larutan metformin 10 μ M (kontrol positif) atau larutan infusa karamunting. Sampel darah dikumpulkan setelah 4 hari perendaman larutan metformin atau larutan infusa karamunting.

Kadar glukosa darah diukur setelah 14 hari perendaman

dengan larutan glukosa 2% dan *wash out* selama 7 hari. Pengukuran kadar glukosa darah ikan zebra dilakukan setelah ikan zebra dipuasakan selama 12 jam, kemudian dimasukkan ke dalam air normal selama 15 menit untuk mencegah kontaminasi. Prosedur anestesi menggunakan metode induksi hipotermia¹⁵.

HASIL DAN DISKUSI

LC-MS mendeteksi tujuh puncak pada ESI positif dan tujuh puncak pada ESI negatif. Dari keempat belas senyawa tersebut, terdapat tiga fragmen utama senyawa bioaktif, yaitu Tectoridin, Engeletin, dan *Rhamnetin-3-O rhamnosida* (Tabel 1). Ketiga senyawa tersebut merupakan senyawa dari golongan flavonoid. Flavonoid merupakan sekelompok zat fenolik yang terhidroksilasi dan dikenal sebagai peredam radikal bebas yang kuat¹⁶.

Tectoridin adalah isoflavon, sejenis flavonoid. Ini adalah 7-glukosida dari tectorigenin dan dapat diisolasi dari bunga *Pueraria thunbergiana* (Leguminosae). Tectoridin adalah *prodrugs* yang dapat diubah menjadi agen aktif oleh bakteri usus manusia¹⁷ menghasilkan tectorigenin. Tectorigenin melindungi sel V79-4 dari kerusakan akibat H_2O_2 , tectorigenin mengurangi pembentukan sel apoptosis, meningkatkan aktivitas enzim antioksidan seluler seperti superoksida dismutase, katalase, glutathion peroksidase, dan juga meningkatkan kadar proteinnya¹⁸.

Tabel 1. Analisa fitokimia infusa karamunting dengan LC-MS

No	Identifikasi senyawa	Ionization Mode	RT	MZ	Rumus molekul	Respons
1	Tectoridin	+	10.13	286 301	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁	26104
2	Naringenin4'-O glucopyranoside	+	8.17	163 325 457	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₀	4897
3	Adenosine	+	1.61	136 268 314	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	4141
4	Apigenin-7-O- α -L rhamnose(14)-6"-O acetyl- β -D-glucoside	+	10.68	113 286 301	C ₂₉ H ₃₂ O ₁₅	2250
5	Safflomin C	+	6.86	133 163 415	C ₃₀ H ₃₀ O ₁₄	1774
6	Quercetagetin	+	8.22	181 307 319	C ₁₅ H ₁₀ O ₈	1592
7	Luteolin	+	9.46	287 393 409	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	1247
8	Engeletin	-	8.14	161 323 433	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₀	78573
9	Rhamnetin-3-O rhamnoside	-	10.10	283 299 461	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁	15479
10	Ellagic acid	-	8.19	300 431 463	C ₁₄ H ₆ O ₈	6004
11	Neocomplanoside	-	10.07	283 461 592	C ₂₄ H ₂₄ O ₁₂	5002
12	Odoratin-7-O- β -D glucoside	-	11.70	161 431	C ₂₂ H ₂₄ O ₉	4640
13	Neoisoliquiritin	-	9.30	179 417 433	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	3008
14	Kaempferol-3-glucuronide	-	8.18	161 300 433	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	2623

Engeletin merupakan senyawa flavonoid. Engeletin dilaporkan dapat memperbaiki Osteo Arthritis in vitro dan in vivo. Ini dapat dipromosikan sebagai obat terapi potensial untuk Osteo Arthritis¹⁹. Engeletin melindungi terhadap cedera iskemia/reperfusi serebral²⁰. Engeletin memperbaiki fibrosis paru²¹, Engeletin merupakan agen antiinflamasi yang potensial²².

Rhamnetin-3-O-rhamnoside merupakan bagian dari kelompok Rhamnetin, suatu O-methylated flavonol. Rhamnetin merupakan kandidat yang baik untuk memperbaiki karsinoma hepatoseluler²³, efek sitoprotektif²⁴. Rhamnetin mampu secara signifikan menghambat proliferasi sel dan menginduksi aktivitas caspase-3/9²⁵.

Infusa karamunting memiliki kadar fenolik yang tinggi yaitu $288 \pm 5,94 \mu\text{g GAE/g}$. Hasil ini berbeda dengan kadar fenolik pada fraksi air yaitu 99 mgGAE/g , sedangkan kadar fenolik ekstrak etanol $94,1 \text{ mgGAE/g}$ ²⁶. Variasi hasil ini disebabkan oleh perbedaan jenis pelarut yang digunakan. Infusa daun karamunting mampu meredam radikal bebas DPPH, kemampuannya sangat kuat jika dibandingkan dengan BHT. Aktivitas antioksidan infusa daun karamunting lebih kuat dibanding BHT (IC_{50} infusa $0,79 \pm 0,33 \mu\text{g/mL}$, BHT $13,5 \pm 2,5 \mu\text{g/mL}$) (Tabel 2).

Stres oksidatif memainkan peranan penting dalam perkembangan berbagai penyakit, seperti kanker, penyakit neurodegeneratif, penyakit kardiovaskular, dan juga diabetes mellitus^{27,28}. Pada kondisi diabetes

mellitus, stres oksidatif dapat menurunkan sekresi dan kerja insulin²⁷. Telah dilaporkan bahwa antioksidan merupakan senyawa yang sangat membantu untuk memperbaiki kondisi stres oksidatif pada diabetes mellitus, misalnya flavonoid²⁹.

Tabel 2. Kadar total fenolik dan aktivitas antioksidan infusa daun karamunting

Infusa daun karamunting	Konsentrasi
Kadar fenolik total	$188 \pm 5,94 \mu\text{g GAE/g}$
Aktivitas antioksidan (IC_{50})	$7,9 \pm 0,33 \mu\text{g/mL}$
BHT	$13,5 \pm 2,5 \mu\text{g/mL}$

Penelitian ini menggunakan hewan model zebrafish jantan (*Danio rerio*) karena kemiripan patofisiologi diabetes mellitus pada ikan zebra^{30,31}. Ikan zebra dapat dibuat hiperglikemik dengan cara memasukkannya kedalam larutan glukosa. Molekul-molekul disekitarnya akan diserap dengan cara osmosa. Pemberian glukosa pada ikan zebra untuk menyebabkan terjadinya resistensi insulin dan mempercepat keadaan hiperglikemik pada ikan zebra³². Ikan zebra yang direndam dengan larutan glukosa 111 mMol selama 14 hari akan meningkatkan glukosa darah $156,8 \pm 15,98 \text{ mg/dL}$. Larutan metformin $10 \mu\text{M}$ dapat menurunkan kadar glukosa darah sebesar $102,7 \pm 27,15 \text{ mg/dL}$. Pengujian larutan infusa karamunting 1%, 2%, dan 4% terhadap ikan zebra hiperglikemik memperlihatkan penurunan kadar glukosa darah sebesar $62,2 \pm 19,82 \text{ mg/dL}$; $68,1 \pm 24,99 \text{ mg/dL}$; $98,4 \pm 11,65 \text{ mg/dL}$. Infusa daun karamunting dengan konsentrasi (1%, 2%, dan 4%) maupun dengan metformin (kontrol positif) menghasilkan penurunan kadar gula darah yang

bermakna dibandingkan dengan kontrol negatif (ikan zebra tanpa penambahan perlakuan setelah diinduksi glukosa 2%).

Tidak terdapat perbedaan bermakna rata-rata kadar gula darah antara kelompok metformin dengan kelompok infusa 4%, sehingga data ini menunjukkan bahwa infusa 4% memiliki efek hipoglikemia yang setara dengan metformin, sedangkan rata-rata kadar gula darah antara metformin dengan infusa 1% dan 2% terdapat perbedaan yang bermakna, sehingga efek hipoglikemia infusa 1% dan 2% lebih rendah jika dibandingkan dengan efek hipoglikemia yang dimiliki oleh metformin.

Penggunaan metformin merupakan obat pilihan untuk diabetes tipe 2 pada manusia, sehingga digunakan sebagai kontrol positif. Metformin meningkatkan aktivitas reseptor insulin dan meningkatkan pengambilan glukosa melalui perpindahan *glucose transporters*, seperti GLUT-1 dan GLUT 4 kedalam membran plasma, pada insang (GLUT 1–3, 6, 8, 10–13) dan intestin (GLUT 5 dan 9)³³.

Fraksi air daun *Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk. oral dengan dosis 10, 20 dan 40 mg/kgBB mampu menurunkan kadar glukosa darah mencit diabetes yang diinduksi aloksan.³⁴ Fraksi air daun karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk. efektif menurunkan kadar glukosa darah 2 jam post prandial dan meningkatkan kadar insulin tikus putih jantan model diabetes dengan dosis 280mg/KgBB yang merupakan dosis yang paling efektif³⁵.

Dari hasil yang didapatkan maka infusa daun karamunting merupakan kandidat yang digunakan sebagai terapi dalam penyakit yang melibatkan stres oksidatif, seperti halnya pada diabetes mellitus. Flavonoid yang terkandung didalamnya dapat digunakan untuk memperbaiki patogenesis diabetes dan komplikasinya melalui regulasi metabolisme glukosa, aktivitas enzim hati, dan profil lipid³⁶.

SIMPULAN

Infusa daun karamunting mempunyai tiga senyawa bioaktif dominan yaitu Tectoridin, Engeletin, dan Rhamnetin-3-O rhamnosida. Aktivitas antioksidan infusa daun karamunting sangat kuat, dapat dibandingkan dengan BHT. Karamunting merupakan kandidat obat herbal untuk antidiabetes.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih kepada LPPM UKRIDA yang telah membiayai penelitian ini

REFERENSI

1. Lim, T.K. *Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.. In: *Edible Medicinal And Non Medicinal Plants*. 2012. Springer, Dordrecht.
2. Wei, M.S., Chen, Z.H., Ren, H., Yin, Z.Y. Reproductive ecology of *Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk. (Myrtaceae). *Nord J Bot*, 2009, 3, 154–160.
3. Lai, T.N., André, C., Rogez, H., Mignolet, E., Nguyen, T.B., Larondelle, Y. Nutritional composition and antioxidant properties of the sim fruit (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.). *Food Chem*. 2015, 168, 410–416.
4. Limsuwan, S., Kayser, O., Voravuthikunchai, S. P. Antibacterial Activity of *Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk. (Aiton) Hassk. Leaf Extract against Clinical Isolates of *Streptococcus pyogenes*. *eCAM*, 2012, 2012: 697183.
5. Mordmuang, A., Brouillette, E., Voravuthikunchai, S.P., Malouin, F. Evaluation

- of a *Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk. ethanolic extract for its therapeutic potential on *Staphylococcus aureus* infections using in vitro and in vivo models of mastitis. *Vet Res.* 2019, 50(1):49.
6. Cui, C., Zhang, S., You, L., Ren, J., Luo, W., Chen, W., Zhao, M. Antioxidant capacity of anthocyanins from *Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk. (Ait.) and identification of the major anthocyanins. *Food Chem.* 2013, 139(1-4):1-8.
 7. Geetha, K. M., Sridhar, C., Murugan, V. Antioxidant and healing effect of aqueous alcoholic extract of *Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk. (Ait.) Hassk on chronic gastric ulcers in rats. *Journal of Pharmacy Research*, 2010, 3: 2860–2862.
 8. Lavanya, G., Voravuthikunchai, S.P., Towatana, N.H. 2012. Acetone Extract from *Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.: A Potent Natural Antioxidant. Hindawi Publishing Corporation, Songkhla.
 9. Jeong, D., Yang, W.S., Yang, Y., Nam, G., Kim, J.H., Yoon, D.H., *et al.* In vitro and in vivo anti-inflammatory effect of *Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk. methanol extract. *J Ethnopharm.* 2013,146: 205-213.
 10. Febriyanto, G., Saleh, M.I., Theodorus, T. Efektivitas antidiabetes fraksi air daun karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk. (ait.) hassk.) terhadap kadar glukosa darah dan sekresi insulin pada tikus model diabetes. 2021, 10(1): 57-70.
 11. Striegel, L., Kang, B., Pilkenton, S. J., Rychlik, M., Apostolidis, E. Effect of black tea and black tea pomace polyphenols on α -glucosidase and α -amylase inhibition, relevant to type 2 diabetes prevention. *Front in Nutr*, 2015, 2: 3.
 12. Siccardi, A. J., Garriss, H. W., Jones, W. T., Moseley, D. B., D'Abramo, L. R., & Watts, S. A. (2009). Growth and survival of Zebrafish (*Danio rerio*) fed different commercial and laboratory diets. *Zebrafish*, 6(3), 275–280. <https://doi.org/10.1089/zeb.2008.0553>
 13. Gleeson M. V Connaughton L S. (2007). *Induction of hyperglycaemia in zebrafish (Danio rerio) leads to morphological changes in the retina.* 157–163.
 14. Eames, S. C., Philipson, L. H., Prince, V. E., & Kinkel, M. D. (2010). Blood sugar measurement in zebrafish reveals dynamics of glucose homeostasis. *Zebrafish*, 7(2), 205–213.
 15. Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods Enzymol*, 299: 152-178.
 16. Shekhar TC, Anju G. Antioxidant activity by DPPH radical scavenging method of *Ageratum conyzoides* Linn. leaves. *Am J Ethnomed.* 2014;1(4):244-249.
 17. Bae, E-A., Han, M.J., Lee, K-T., Choi, J-W., Park, H-J., Kim, D-H. Metabolism of 6''-O-Xylosyltectoridin and tectoridin by human intestinal bacteria and their hypoglycemic and in vitro cytotoxic activities. *Biol Pharm Bull*, 1999, 22(12): 1314-1318.
 18. Kang, K.A., Lee, K.H., Chae, .S, Zhang, R., Jung, M.S., Kim SY, *et al.* Cytoprotective effect of tectorigenin, a metabolite formed by transformation of tectoridin by intestinal microflora, on oxidative stress induced by hydrogen peroxide. *Eur J Pharmacol*, 2005 519(1-2):16-23.
 19. Hao, W., Zengxin, J., Zhiying, P., Guobin, Q., Bingxuan, H., Zuoqin, Y, *et al.* Engeletin Protects Against TNF- α -Induced Apoptosis and Reactive Oxygen Species Generation in Chondrocytes and Alleviates Osteoarthritis in vivo. *J Inflamm Res*, 14: 745–760.
 20. Hui, L., Shucui, Li., Yangyang, Xu., Xin, W., Rui, R., Haibo, Z. Engeletin protects against cerebral ischemia/reperfusion injury by modulating the VEGF/vasohibin and Ang-1/Tie-2 pathways. *Braz J Med Biol*, 2021, 54(10): e11028,
 21. Jinjin, Z., Xiaoqing, C., Hongbin, C., Rongrong, L., Pan, X., Changjun, L., *et al.* Engeletin ameliorates pulmonary fibrosis through endoplasmic reticulum stress depending on lnc949-mediated TGF- β 1-Smad2/3 and JNK signalling pathways, *Pharmaceutical Biology*, 2020, 58(1): 1114-1123.
 22. Haiqiu, H., Zhihong, C, Haiming, S., Wenbo, X., Thomas, Wang, T.Y., *et al.* Isolation and Characterization of Two Flavonoids, Engeletin and Astilbin, from the Leaves of *Engelhardia roxburghiana* and Their Potential Anti-inflammatory Properties. *J Agric Food Chem J Agr Food Chem*, 2011, 59(9): 4562-4569
 23. Jia, H., Yang, Q., Wang, T., Cao, Y., Jiang, Q.Y., Ma, H.D., *et al.* Rhamnetin induces sensitization of hepatocellular carcinoma cells to a small molecular kinase inhibitor or chemotherapeutic agents. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1860(7):1417-30.
 24. Lee, K.P., Kim, J.E., Park, W.H. Cytoprotective effect of rhamnetin on miconazole-induced H9c2 cell damage. *Nutr Res Pract.* 2015, (6):586-91.
 25. Lan, L., Wang, Y., Pan, Z., Wang, B., Yue, Z., Jiang, Z., Li, L., Wang, C., Tang, H. Rhamnetin induces apoptosis in human breast cancer cells via the miR-34a/Notch-1 signaling pathway. *Oncology Letters*, 2019, 17(1): 676-682.
 26. Dona, R., Fur, M., Suryani, F. Penentuan kadar total flavonoid dan uji aktivitas antioksidan dari ekstrak dan fraksi daun karamunting

- (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.). J Penelitian Farmasi Indonesia, 9(2): 72-78.
27. Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., Gargiulo, G., Testa, G., Cacciatore, F., Bonaduce, D., & Abete, P. (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin Interv Aging*, 13, 757–772.
 28. Utarra, B., Singh, A.V., Zamboni, P., Mahajan, R.T. Oxidative Stress and Neurodegenerative Diseases: A Review of Upstream and Downstream Antioxidant Therapeutic Options. *Curr Neuropharmacol*, 2009, 7: 65-74.
 29. Sarian, M.N., Ahmed, Q.U., So'ad, S.Z.M., Alhasan, A.M., Murugesu, S., Perumal, V., *et al*. Antioxidant and Antidiabetic Effects of Flavonoids: A Structure-Activity Relationship Based Study. *Biomed Res Int*, 2017, 2017: 1-14.
 30. Capiotti, K. M., Antonioli, R., Kist, L. W., Bogo, M. R., Bonan, C. D., Da Silva, R. S. (2014). Persistent impaired glucose metabolism in a zebrafish hyperglycemia model. *Comp Biochem Physiol*, 171(1), 58–65.
 31. Schlegel, A., Gut, P. Metabolic Insights from Zebrafish Genetics Physiology and Chemical Biology. *Cell Mol Life Sci*, 2015, 72(12):2249-60.
 32. Istrianingsih, E., Solikhati, D.I.K. Aktivitas Antidiabetik Ekstrak Rimpang Kunyit (*Curcuma Domestica* Val.) Pada Zebrafish (*Danio Rerio*). *J Ilmiah Farmasi*, 2021, 10(1): 60-65.
 33. Tseng, Y., Chen, R., Lee, J., Liu, S., Lee, S., & Hwang, P. (2021). *Specific expression and regulation of glucose transporters in zebrafish ionocytes*. 275–290.
 34. Sinata, N., & Arifin, H. (2016). Antidiabetic Effect of Air Leaf Fraction of Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk. (Ait.) Hassk.) in diabetic mice. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 3(1), 72–78.
 35. Febriyanto, G., Saleh, M. I., & Theodorus, T. (2021). Efektivitas Antidiabetes Fraksi Air Daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk. (Ait.) Hassk.) terhadap Kadar Glukosa Darah dan Sekresi Insulin pada Tikus Model Diabetes. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Wijaya Kusuma*, 10(1), 57.
 36. Al-Ishaq, R. K., Abotaleb, M., Kubatka, P., Kajo, K., & Büsselberg, D. (2019). Flavonoids and Their Anti-Diabetic Effects: Cellular Mechanisms and Effects to Improve Blood Sugar Levels. *Biomolecules*, 9(9), 430.