

Weight Loss Activity of *Boesenbergia rotunda*, *Zingiber cassumunar*, and *Hibiscus sabdariffa* Combination Extract on Zebrafish Model

Niken Indriyanti¹, Sabaniah I. Gama², and Ganjar Firmansyah²

¹Department of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mulawarman University, Samarinda, 75119

²Department of Chemistry, Faculty of Pharmacy, Mulawarman University, Samarinda, 75119

Abstract

Boesenbergia rotunda, *Zingiber cassumunar*, and *Hibiscus sabdariffa* are potential medicinal plants to be developed as weight-loss agents. This research aimed to determine the weight-loss activity of the three plants in combination. The model used was a zebrafish wild type. The Ethics Committee of Health Research, Faculty of Pharmacy, Mulawarman University, approved the protocol. The extraction method was decocta. The flavonoid and phenolic contents were calculated using the standard analysis method in the Indonesian Herbal Pharmacopoeia. A weight loss assay was performed experimentally using zebrafish. The results of yield and total flavonoid/phenolic content (TFC/TPC) calculations were *Boesenbergia* extract 2.7% with the TFC of 49.7 mg/g; *Zingiber cassumunar* extract 6.5% with the TPC of 41.2 mg/g; and *Hibiscus* extract 31.6% with the TFC of 91.2 mg/g. It forms as a dry extract, has a brown color, and is hygroscopic. The average weight loss of zebrafish in 2 weeks of treatment is 9–16% in the sample 1 group, 28.5% in the sample 2 group, and no lowering of body weight in the sample 3 group. Samples 1 and 2 are promising compared to orlistat activity, with 32% weight loss. In conclusion, the sample with the highest weight loss activity is sample 2, which consists of a combination of *Boesenbergia* extract and *Zingiber cassumunar* extract.

Keywords: *Boesenbergia* extract, weight loss, *Zingiber cassumunar*

Aktivitas Penurun Berat Badan Kombinasi Ekstrak *Boesenbergia rotunda*, *Zingiber cassumunar*, dan *Hibiscus sabdariffa* pada Model Zebrafish

Abstrak

Boesenbergia rotunda, *Zingiber cassumunar*, dan *Hibiscus sabdariffa* adalah tanaman obat potensial untuk dikembangkan menjadi bahan aktif penurun berat badan. Tujuan penelitian ini adalah mengukur aktivitas penurun berat badan dari kombinasi 3 tanaman ini. Model yang digunakan adalah zebrafish *wild type*. Protokol uji telah disetujui oleh KEPK FF Unmul. Metode ekstraksi yang digunakan adalah dekokta. Total flavonoid dan total fenolik dihitung menggunakan metode analisis standar pada Farmakope Herbal Indonesia. Metode uji penurunan berat badan dilakukan secara eksperimental menggunakan zebrafish. Hasil penelitian pada persen rendemen dan total flavonoid/total fenolik (TFC/TPC) adalah ekstrak *Boesenbergia* 2,7% total flavonoid 49,7 mg/g; ekstrak *Zingiber cassumunar* 6,5% total fenolik 41,2 mg/g; ekstrak *Hibiscus* 31,6% dengan total flavonoid 91,2 mg/g. Ekstrak kering ketiga bahan berwarna coklat, dan higroskopis. Rerata penurunan berat badan zebrafish setelah 2 minggu adalah 9-16% kelompok 1; 28,5% pada kelompok 2; dan tidak ada penurunan pada kelompok 3. Sampel 1 dan 2 cukup menjanjikan dibandingkan dengan aktivitas orlistat, yaitu 32%. Maka disimpulkan bahwa aktivitas penurun berat badan tertinggi adalah sampel 2 yang terdiri dari kombinasi ekstrak *Boesenbergia* dan ekstrak *Zingiber cassumunar*.

Kata Kunci: Ekstrak *Boesenbergia*, Penurun berat badan, *Zingiber cassumunar*.

Article History:

Submitted 18 October 2023

Revised 20 February 2024

Accepted 18 July 2024

Published 28 February 2025

*Corresponding author:

niken@farmasi.unmul.ac.id

Citation:

Indriyanti, N.; Gama, S.I.; Firmansyah, G. Weight Loss Activity of *Boesenbergia rotunda*, *Zingiber cassumunar*, and *Hibiscus sabdariffa* Combination Extract on Zebrafish Model. Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology. 2025; 12 (1), 14-19.

1. Pendahuluan

Obat-obat yang digunakan untuk mengurangi obesitas saat ini masih terbatas. Maka, banyak penderita *overweight* maupun obesitas yang tertarik menggunakan produk-produk pelangsing yang dipromosikan sebagai obat, suplemen, minuman, maupun obat herbal. Tingkat keamanan produk yang beredar saat ini cukup bervariasi, dengan khasiat yang belum tentu terbukti.¹

Beberapa tanaman obat penurun berat badan adalah *Zingiber cassumunar*, *Boesenbergia rotunda*, dan *Hibiscus sabdariffa*. *Zingiber cassumunar* secara tradisional telah digunakan sebagai jamu untuk kondisi terlalu gemuk dengan komposisi yang tercatat pada buku Cabe Puyang² yang merupakan salah satu buku acuan saintifikasi herbal di BP2TOOT Kemenkes di Tawangmangu. Secara ilmiah, masing-masing tanaman ini telah diteliti efek antiobesitasnya. Ekstrak air dan ekstrak etanol rimpang *Zingiber cassumunar*, atau bangle telah terbukti mampu menghambat onset obesitas secara *in vitro*.³

Pada uji *in vitro* pada enzim lipase pankreas, konsentrasi 100 ppm ekstrak etanol *Zingiber cassumunar* dapat menurunkan aktivitas lipase sebesar 29,17%; sedangkan ekstrak air mampu menurunkan sebesar 25,66%.³ *Boesenbergia rotunda*, atau temu kunci memiliki biflavonoid yang mampu menghambat enzim lipase pankreas sebanyak 70% dengan konsentrasi uji 20 µg/mL.⁴ Temu kunci juga diketahui dapat menurunkan obesitas dengan mengaktifkan AMP-activated protein kinase dan meregulasi metabolisme lipid.⁵ Bunga *Hibiscus sabdariffa* dapat menangani resistensi FGF21 yang berperan dalam homeostasis energi di jaringan adiposa dan mengurangi berat badan dengan mereduksi jaringan adiposa putih kecoklatan.⁶ *Hibiscus sabdariffa* menghasilkan penurunan berat badan dengan menghambat penumpukan lemak tikus C57BL/6NHsd yang obesitas setelah diobati dengan 33 mg/kg tiga kali seminggu selama 8 minggu.

Penelitian ini penting untuk menelusuri keefektifan kombinasi tanaman obat penurun berat badan. Dengan demikian penelitian lanjutan saintifikasi jamu bisa lebih mudah dilakukan. Penggunaan khasiat kombinasi tanaman obat menggunakan zebrafish juga lebih praktis sehingga memberikan dasar kuat penentuan lanjutan secara *in vivo* menggunakan rodent.

2. Bahan dan Metode

2.1. Alat

Aquarium set modifikasi, neraca analitik Ohaus, beakerglass Pyrex, labu takar Pyrex, mortar dan

stamper, spektrofotometer Inesa UV Vis N4S.

2.2. Bahan

Rimpang *Boesenbergia rotunda*, rimpang *Zingiber cassumunar*, bunga *Hibiscus sabdariffa*, zebrafish, pakan zebrafish, aquadest. Voucher spesimen dengan nomor 01-03/Lab Riset/2022 disimpan di Laboratorium Farmaka Tropis FF Unmul.

2.3. Prosedur

Bahan uji rimpang *Zingiber cassumunar* dan *Boesenbergia rotunda* segar dibeli dari penjual rempah di Samarinda. Hewan coba zebrafish *wild type* dewasa ukuran sekitar 2-4 cm dibeli dari toko ikan hias Samarinda. Jumlah sampel yang digunakan untuk penelitian 100 ekor. Kontrol positif yang digunakan adalah orlistat. Klirens etik penelitian ini telah disetujui oleh KEPK FF Unmul No.006/KEPK-FFUNMUL/EC/EXE/01/2023 tanggal 09 Januari 2023.

2.3.1. Ekstraksi

Dekokta 100 g simplisia *Boesenbergia rotunda*; 50 g simplisia *Zingiber cassumunar*; 50 g simplisia *Hibiscus sabdariffa* dengan rasio simplisia:air sebanyak 1:20. Simplisia rimpang *Boesenbergia rotunda*, *Zingiber cassumunar*, dan bunga *Hibiscus sabdariffa* diekstraksi sebagaimana cara ekstraksi pada penggunaan tradisional, yaitu dengan cara dekokta.² Setelah volume berkurang sampai setengahnya, ekstrak air dikeringkan menggunakan food dehydrator dengan suhu 78°F selama 24 -32 jam. Ekstrak kering disimpan dalam wadah kedap dan dilengkapi dengan silika gel untuk mengatasi sifat ekstrak yang higroskopis.⁷

2.3.2. Penetapan kadar Total Flavonoid

Sebanyak 0,2 g ekstrak dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer, ditambahkan 25 ml etanol, diaduk, kemudian disaring. Larutan pembanding dibuat dengan kadar 100,75, 50, dan 25 mikrogram/mL. Larutan uji dan masing-masing larutan pembanding ditambahkan masing-masing 1,5 mL etanol; 0,1 mL aluminium klorida; 0,1 mL natrium asetat 1M dan 2,8 mL aquadest. Campuran dikosok dan didiamkan pada suhu ruang selama 30 menit. Serapan diukur menggunakan panjang gelombang maksimum. Dibuat kurva kalibrasi kemudian kadar larutan uji dihitung.⁸

2.3.3. Penetapan kadar Total Fenolik

Sebanyak 0,2 g ekstrak dimasukkan ke labu Erlenmeyer, ditambah 25 mL etanol, diaduk selama 30 menit, kemudian disaring. Pembanding sebanyak

10 mg dilarutkan dengan cara yang sama, kemudian dibuat seri konsentrasi 100, 70, 50, 30, 15, dan 5 mikrogram/mL. Satu mL larutan uji dan masing masing larutan pembanding ditambahkan 5 mL enceran Folin-Ciocalteu (7,5% dalam air), didiamkan 8 menit, ditambahkan 4 ml NaOH 1%, diinkubasi selama 1 jam. Serapan diukur pada panjang gelombang 730 nm. Dilakukan pengukuran blangko dengan cara yang sama. Kurva kalibrasi dibuat, kemudian kadar Total Fenolik dihitung.⁸

2.3.4. Pengujian

Sampel dilarutkan ke dalam air akuarium sesuai jenis kombinasi (sampel 1,2,3) dalam satuan ppm. Air akuarium diganti setiap 2 hari, diikuti pemberian konsentrasi sampel yang sama. Ketiga ekstrak dikombinasikan dengan konsentrasi total 600 ppm sesuai hasil uji pendahuluan.

1. Sampel 1 berisi ekstrak *Boesenbergia rotunda* 600 ppm
2. Sampel 2 berisi ekstrak *Boesenbergia rotunda* 300 ppm dan ekstrak *Zingiber cassumunar* 300 ppm
3. Sampel 3 berisi ekstrak *Boesenbergia rotunda* 200 ppm; ekstrak *Zingiber cassumunar* 200 ppm, dan ekstrak *Hibiscus sabdariffa* 200 ppm.

Aklimatisasi zebrafish dilakukan dalam waktu 5 hari. Zebrafish dengan berat badan yang setara dipilih untuk dibagi menjadi 5 kelompok uji (Gambar 1). Pemberian pakan untuk induksi peningkatan berat badan dilakukan selama 2 minggu dengan takaran pakan 20% dari berat Zebrafish per hari. Kondisi obesitas tidak dapat diukur langsung sebagaimana menggunakan hewan coba rodent.⁸ Kelebihan pemberian pakan pada Zebrafish dapat mengakibatkan kematian. Pada uji pendahuluan, peningkatan berat badan signifikan sudah didapatkan setelah induksi 14 hari. Setelah itu dilakukan pemberian bahan uji dengan pengamatan efek setiap 7 hari selama 2 minggu.

2.3.5. Analisis hasil

Hasil penelitian dianalisis secara deskriptif kemudian disajikan dalam bentuk tabel

3. Hasil

Aklimatisasi Zebrafish perlu waktu yang cukup singkat, yaitu selama 5 hari. Pengkondisian air bersih bebas klorin⁹ dan sirkulasi udara dalam akuarium menjadi kunci berhasilnya proses aklimatisasi ini. Penggantian air dan kualitas pakan mendukung kondisi optimal Zebrafish selama masa induksi dan pengujian. Penelitian menggunakan Zebrafish cukup praktis untuk mengetahui gambaran aktivitas suatu bahan uji, namun tidak dapat menggantikan peran pengujian secara pra klinik pada hewan coba. Zebrafish diinduksi peningkatan berat badan karena mudah diamati dan bisa dilakukan pada Zebrafish dewasa. Sedangkan jika menginduksi obesitas pada Zebrafish, digunakan larva ikan Zebrafish⁸ dengan parameter *lipid staining*.

Bahan uji berupa ekstrak yang digunakan adalah ekstrak air, sehingga dapat larut sempurna dalam air akuarium. Penentuan konsentrasi 600 ppm berdasarkan uji kepekatan/kemampuan Zebrafish bertahan hidup dalam beberapa tingkat kepekatan bahan aktif dalam akuarium.⁹⁻¹¹

Hasil karakteristik bahan uji ekstrak disajikan pada (Tabel 1), dan hasil uji aktivitas penurunan berat badan disajikan pada (Tabel 2 dan Tabel 3). Hasil penelitian dianalisis secara deskriptif.

4. Pembahasan

Ekstrak rimpang *Boesenbergia rotunda* sesuai penelitian sebelumnya memiliki aktivitas antiobesitas yang baik. Dilihat dari persen rendemen, ekstrak *Boesenbergia rotunda* memiliki rendemen yang lebih kecil dibandingkan dengan *Zingiber cassumunar* dan *Hibiscus sabdariffa*. Rendemen kecil ini menjadi pertimbangan penting jika ekstrak akan diproduksi dalam skala industri. Namun, jika dilihat dari berlimpahnya sumber rimpang *Boesenbergia rotunda* di Indonesia sebagai rempah dan bumbu masakan, rendemen ini tidak menjadi masalah.

Dilihat dari gambaran umum kandungan kimia sesuai Farmakope Herbal Indonesia,¹² ekstrak *Boesenbergia rotunda* dan *Hibiscus sabdariffa* bisa diukur



Gambar 1. Pembagian kelompok uji Zebrafish

Tabel 1. Karakteristik ekstrak sebagai bahan uji

Ekstrak	Rendemen (%)	TFC mg/g	TPC mg/g	Organoleptik	Kestabilan pada suhu ruang
<i>Boesenbergia rotunda</i>	2,73	49,71	41,24	Serbuk coklat bau khas	Higroskopis
<i>Zingiber cassumunar</i>	6,55			Serbuk coklat tidak berbau	Higroskopis
<i>Hibiscus sabdariffa</i>	31,64	91,18		Serbuk merah tua kecoklatan tidak berbau	Higroskopis

menggunakan parameter Total Flavonoid. Sedangkan *Zingiber cassumunar* menggunakan Total Fenolik. Total Flavonoid tertinggi ada pada ekstrak bunga *Hibiscus sabdariffa*. Sedangkan pada kedua ekstrak rimpang, nilai total kurang lebih sama pada konsentrasi 40-50 mg/g (Tabel 1). Angka tersebut bisa digunakan sebagai acuan gambaran awal karakteristik kimia ekstrak untuk penelitian lanjutan. Meski yang diukur adalah Total Flavonoid/Total Fenolik, senyawa aktif penurun berat badan belum tentu dari kedua golongan tersebut, sebagaimana telah diuji secara *in vitro* pada penelitian sebelumnya. *Boesenbergia rotunda* memiliki senyawa panduratin dan pinostrobin yang mampu menghambat diferensiasi adiposit. Pada pengujian *in vitro*, pinostrobin memanipulasi sinyal MAPK (p38 dan JNK) dan Akt (Akt/GSK3 β , Akt/AMPK α -AC).¹³

Setelah pemberian bahan uji selama 7 hari, rerata berat badan Zebrafish secara umum menurun pada sampel 1 dan 2 (Tabel 2). Tidak ada penurunan pada kelompok sampel 3. Kontrol positif orlistat yang digunakan juga tidak menghasilkan penurunan berat badan yang konsisten. Hal ini diduga karena mekanisme kerja orlistat yang bisa efektif untuk manusia dan rodent sebagai *lipid absorption inhibitor*, namun kemungkinan tidak optimal pada Zebrafish. Literatur mengenai efektivitas orlistat pada Zebrafish masih sangat terbatas.¹⁴⁻¹⁵

Dengan demikian, pembandingan yang digunakan adalah kelompok kontrol negatif (diinduksi, tanpa pemberian bahan aktif); dan berat badan awal setiap kelompok sebelum diberi perlakuan.

Setelah perubahan berat badan Zebrafish diolah menjadi persen penurunan berat badan, didapatkan hasil penurunan berat badan terbesar ada pada kelompok sampel 2 setelah 7 hari perlakuan, yaitu penurunan sebesar 28,51% dari berat badan awal.

Namun penurunan berat badan ini tidak konsisten pada perlakuan minggu ke-2. Sedangkan aktivitas sampel 1 (ekstrak *Boesenbergia rotunda* 600 ppm) memiliki aktivitas penurunan berat badan yang tidak terlalu besar namun konsisten pada minggu pertama dan minggu ke-2 perlakuan. Diduga efektivitas senyawa aktif meningkat secara bertahap sesuai lamanya waktu paparan.¹⁶

Dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif tanpa perlakuan, penurunan berat badan Zebrafish pada kelompok 1 dan 2 secara umum sangat menjanjikan untuk pengujian ke tahap uji pra klinik^{17,18} atau bahkan uji klinik jika dibuat dalam bentuk jamu. Jika dilihat dari penurunan terbesar, sampel 2 memiliki aktivitas yang sesuai. Secara *in vitro*, *Zingiber cassumunar* memiliki efek penghambatan lipogenesis dan regulasi adipogenesis. Kombinasi dengan *Boesenbergia* yang memiliki senyawa panduratin dan pinostrobin¹⁹ meningkatkan kemungkinan mekanisme kerja searah yang menguntungkan, mengarah pada pencegahan obesitas atau penumpukan adiposit.²⁰⁻²² Namun, kelemahan hasil pengujian ini adalah penurunan berat badan yang tidak konsisten pada minggu ke-2, sehingga perlu konfirmasi pada penelitian selanjutnya.

Jika dilihat dari kekonsistenan aktivitas penurunan berat badan, maka sampel 1 (*Boesenbergia rotunda*) bisa dilanjutkan ke tahap berikutnya dengan lama paparan yang ditambah. Hasil pengujian *in vitro* rimpang ini ditunjang dengan penggunaan empiris sebagai komponen jamu menjadikan potensi rimpang *Boesenbergia rotunda* sangat besar untuk dikembangkan menjadi produk penurun berat badan dengan data pengujian ilmiah yang mencukupi.

Sedangkan, pengujian pada ekstrak bunga *Hibiscus sabdariffa* untuk obesitas secara *in vivo* dan uji pada

Tabel 2. Data rerata berat badan zebrafish setelah induksi kenaikan berat badan dan setelah pemberian sampel uji

Kelompok	Rerata berat setelah induksi (g)	Rerata berat setelah treatment pekan ke-1 (g)	Rerata berat setelah treatment pekan ke-2 (g)	Rerata perubahan BB pekan 1 (g)	Rerata perubahan BB pekan 2 (g)
Sampel 1	0,588 $\pm$ 0,242	0,507 $\pm$ 0,124	0,493 $\pm$ 0,041	-0,082 $\pm$ 0,232	-0,21 $\pm$ 0,233
Sampel 2	0,463 $\pm$ 0,226	0,498 $\pm$ 0,201	0,542 $\pm$ 0,216	-0,014 $\pm$ 0,370	0,03 $\pm$ 0,316
Sampel 3	0,404 $\pm$ 0,404	0,548 $\pm$ 0,150	0,463 $\pm$ 0,169	0,014 $\pm$ 0,370	-0,137 $\pm$ 0,116
Kontrol positif	0,39 $\pm$ 0,616	0,55 $\pm$ 0,149	0,494 $\pm$ 0,159	0,0866 $\pm$ 0,173	0,108 $\pm$ 0,204
Kontrol negatif	0,405 $\pm$ 0,149	0,473 $\pm$ 0,163	0,455 $\pm$ 0,168	0,078 $\pm$ 0,216	0,005 $\pm$ 0,187

Tabel 3. Data persen perubahan berat badan tiap kelompok uji

Kelompok	Penurunan berat badan Zebrafish setelah perlakuan 7 hari (%)	Penurunan berat badan Zebrafish setelah perlakuan 14 hari (%)	Kesimpulan
Sampel 1	-9,28	-15,99*	Turun
Sampel 2	-28,51*	-0,23*	Turun
Sampel 3	30,56	1,93	Naik
Kontrol positif	-3,57	26,59	Turun-Naik
Kontrol negatif	32,44	11,77	Naik

*berbeda signifikan dengan kontrol negatif.

manusia telah menghasilkan data penurunan berat badan hewan coba dan penurunan kadar asam lemak bebas pada manusia.²³⁻²⁴ Namun pada kombinasi 3 ekstrak sampel 3, aktivitas tersebut tidak menghasilkan luaran yang memuaskan.

Kombinasi beberapa ekstrak tanaman sebagaimana kombinasi pada komposisi jamu perlu pengujian lebih lanjut, karena aktivitas sinergisme belum tentu terjadi. Penelitian ini menghasilkan adanya penurunan berat badan Zebrafish pada kombinasi pada sampel 2 yang berisi ekstrak *Boesenbergia rotunda* dan ekstrak *Zingiber cassumunar* perbandingan setara.

5. Simpulan

Aktivitas penurun berat badan tertinggi adalah sampel 2 yang merupakan kombinasi ekstrak *Boesenbergia rotunda* 300 ppm dan ekstrak *Zingiber cassumunar* 300 ppm.

Ucapan Terimakasih

Terimakasih penulis ucapkan kepada pemberi sponsor pendanaan penelitian non-kompetitif Fakultas Farmasi Unmul Tahun 2022, dan Mahasiswa/i S1 Farmasi dan S1 Farmasi Klinis angkatan 2020 yang turut serta menjadi asisten penelitian dalam mata kuliah K2LF.

Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan bahwa data yang dipublikasikan pada naskah ini tidak ada konflik kepentingan terhadap pihak manapun.

Referensi

- Kamaluddin TK. 2016. Obat Herbal Berkhasiat, Keamanan Perlu Dimonitor. J. Indon. Med. Assoc., 66(10):461-464.
- Mardiswojo Sudarman. Cabe Puyang Warisan Nenek Moyang Edisi Cetak 1; Jakarta : Balai Pustaka, 1987
- Yuniarto A, Aji A, Ramadhani AN, Permatasari GW. Active compounds of fingerroot (*Boesenbergia pandurata*) for obesity treatment: *in silico* approaches. MPI, 2020; 4(1), 31-43.
- Iswantini D, Froistasilitonga R, Martatilofa E, Kosimdarusman L. *Zingiber cassumunar*, *Guazuma*

ulmifolia, and *Murraya paniculata* Extracts as Antiobesity: *In Vitro* Inhibitory Effect on Pancreatic Lipase Activity. HAYATI J Biosci, 2011; 18(1): 6-10.

- Chatsumpun N, Sritularak B, Likhiwitayawuid K. New Biflavonoids with α -Glucosidase and Pancreatic Lipase Inhibitory Activities from *Boesenbergia rotunda*. Molecules. 2017; 22(11):1862.
- Kim DY, Kim MS, Sa BK, Kim MB, Hwang JK. *Boesenbergia pandurata* Attenuates Diet-Induced Obesity by Activating AMP-Activated Protein Kinase and Regulating Lipid Metabolism. Int. J. Mol. Sci. 2012; 13(1): 994-1005.
- Sulastri, S. 2009. Modifikasi Silika Gel dalam Kaitannya dengan Peningkatan Manfaat, Prosiding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan dan Penerapan MIPA, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Yogyakarta; K-367-372.
- (FHI), F.H.I. (2017) Farmakope Herbal Indonesia. 2nd edn. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Alestrom, P. Housing and husbandry recommendations. Laboratory Animals; 2020;54(3):213-224.
- Lee, C.J., Paull, G.C. and Tyler, C.R. Improving zebrafish laboratory welfare and scientific research through understanding their natural history. Biol Rev. 2022;97: 1038-1056.
- Malik, S.; Cohen, A.; MacAvoy, S.E.; Connaughton, V.P. The Importance of Assessing Water Quality in Tributaries: A Case Study in an Urban Waterway Using Zebrafish (*Danio rerio*). Water, 2023; 15: 2372.
- Kartinah NT, Komara NK, Sianipar IR, Noviati ND. (2019). The Potential of Hibiscus sabdariffa Linn. for Treatment of Obesity: Focus on FGF21 in Liver and Adipose Tissue. eJKI, 2019; 7(2):11093.
- Villalpando-Arteaga EV, Mendieta-Condado ES, Canales-Aguirre AA, Gálvez-Gastélum FJ. et al. *Hibiscus sabdariffa* L. aqueous extract attenuates hepatic steatosis through down-regulation of PPAR- γ and SREBP-1c in diet-induced obese mice. Food & function, 2019;4(4): 618-626.
- Failaci F, Milosa F, Critelli RM, Turola E, Schepis F, Villa E. Obese zebrafish: A small fish for a major human health condition, Animal Model Exp Med, 2018;1:255-265.
- Wang C, Yuan ZX, Liu YY, Wu QY, Sun YX. Relative Developmental Toxicities of Reclaimed Water to Zebrafish Embryos and the Relationship with Relevant Water Quality Parameters, Water Cyc, 2021;(2):85-90.
- Reshma A., Tamilanban T., Chitra V., Subramaniyan V., Gupta G., Fuloria N.K. Anti-obesity effects of olivetol in adult zebrafish model induced by short-term high fat diet. Scientific Reports, 2023; 13:18449.
- Zang, L.; Shimada, Y.; Nakayama, H.; Kim, Y.; Chu, D.-

- C.; Juneja, L.R.; Kuroyanagi, J.; Nishimura, N. RNA-seq Based Transcriptome Analysis of the Anti-Obesity Effect of Green Tea Extract Using Zebrafish Obesity Models. *Molecules*, 2019; 24:3256.
18. Zang, L.; Shimada, Y.; Nakayama, H.; Katsuzaki, H.; Kim, Y.; Chu, D.-C.; Juneja, L.R.; Kuroyanagi, J.; Nishimura, N. Preventive Effects of Green Tea Extract against Obesity Development in Zebrafish. *Molecules*, 2021; 26: 2627.
19. Aliefman Hakim, Jono Irawan, Samsul Hadi, Baiq Nunung Hidayati, Ayu Safitri Melita, Erna Ajizah; A simplification of isolation process of pinostrobbin from *Boesenbergia pandurata* (Roxb) rhizome. *AIP Conf. Proc.* 2023; 2619 (1): 040007.
20. (FHI), F. H. I. (2009) *Farmakope Herbal Indonesia*. 1st edn. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
21. San HT, Khine HEE, Sritularak B, Prompetchara E, Chaotam C, Che CT, Likhitwitayawuid K. Pinostrobin: An Adipogenic Suppressor from Fingerroot (*Boesenbergia rotunda*) and Its Possible Mechanisms, *Foods*, 2022; 11(19):3024.
22. Clifton JD, Lucumi E, Myers MC, Napper A, Hama K, Farber SA, Smith AB, Hury DM. Identificatio of Novel Inhibitors of Dietary Lipid Absorption using Zebrafish, *PLoS ONE*, 2010;5(8):e12386.
23. Wong N, Inthanon K, Saiai A, Inta A, Nimlamool W, et al. Lipogenesis inhibition and adipogenesis regulation via PPAR γ pathway in 3T3-L1 cells by *Zingiber cassumunar* Roxb. rhizome extracts, *Egypt J Basic Appl Sci.*,2018; 5(4):289-297.
24. Ojulari OV, Lee SG, Nam JO.2018. Beneficial Effects of Natural Bioactive Compounds FROM *Hibiscus sabdariffa* L. on Obesity, *Molecules*, 2019;24:2-14.