

Uji Aktivitas Antidiabetes Infusa Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) Terhadap Kadar Glukosa Darah Mencit Putih (*Mus Musculus* L.) Jantan Yang Diinduksi Glukosa

Novia Sinata ^{a, 1*}, Indah Denni Pratiwi ^{b, 2}, Wildan Khairi Muhtadi^{c, 3}

^a Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau, Jalan Kamboja, Simpang Baru-Panam-Pekanbaru, 28293

¹ noviasinata@stifar-riau.ac.id*

*korespondensi penulis

INFO ARTIKEL	ABSTRAK
<p>Sejarah artikel: Diterima : 25-06-2022 Direvisi : 04-07-2022 Disetujui : 05-12-2022</p> <p>Kata kunci: Daun salam; Infusa; Antidiabetes; Flavonoid.</p>	<p>Daun salam (<i>Syzygium polyanthum</i> (Wight) Walp.) merupakan salah satu tanaman yang dimanfaatkan secara tradisional oleh masyarakat untuk mengobati penyakit diabetes melitus. Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh infusa daun salam (<i>Syzygium polyanthum</i> (Wight) Walp.) terhadap penurunan kadar glukosa mencit putih (<i>Mus musculus</i> L.) jantan yang diinduksi glukosa. Penelitian ini menggunakan metode Tes Toleransi Glukosa Oral (TTGO). Hewan percobaan dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok kontrol positif diberi glibenklamid dengan dosis 0,013 mg/20gBB, kelompok kontrol negatif hanya diberi suspensi Na CMC 1%, kelompok perlakuan diberi sediaan infusa daun salam (<i>Syzygium polyanthum</i> (Wight) Walp.) dengan konsentrasi 10%, 20% dan 40%. Pengukuran kadar glukosa darah mencit pada menit ke 30, 60, 90 dan 120. Berdasarkan hasil pengujian infusa daun salam (<i>Syzygium polyanthum</i> (Wight) Walp.) menunjukkan bahwa konsentrasi 10%, 20% dan 40% berpengaruh terhadap penurunan kadar glukosa darah mencit yang diinduksi glukosa.</p>
<p>Key word: Bay leave; Infusion; Antidiabetics; Flavonoid.</p>	<p>ABSTRACT</p> <p>Bay leaf (<i>Syzygium polyanthum</i> (Wight) Walp.) is one of the plants that is traditionally used by the community to treat diabetes mellitus. This study aimed to examine the effect of bay leaf infusion (<i>Syzygium polyanthum</i> (Wight) Walp.) on glucose-induced reduction in glucose levels in male white mice (<i>Mus musculus</i> L.). This study used the Oral Glucose Tolerance Test (OGTT). Experimental animals were divided into 5 groups. The positive control group was given glibenclamide at a dose of 0.013 mg/20gBB, the negative control group was only given 1% Na CMC suspension, the treatment group was given bay leaf infusion (<i>Syzygium polyanthum</i> (Wight) Walp.) with a concentration of 10%, 20% and 40%. Measurement of blood glucose levels in mice at 30, 60, 90 and 120 minutes. Based on the test results of bay leaf infusion (<i>Syzygium polyanthum</i> (Wight) Walp.) showed that concentrations of 10%, 20% and 40% had an effect on reducing glucose-induced mice blood glucose levels.</p> <p>This is an open access article under the CC-BY-SA license.</p> 

Pendahuluan

Diabetes melitus masih menjadi permasalahan global. Penyakit ini merupakan salah satu penyebab kematian terbanyak ketiga setelah penyakit kanker dan kardiovaskular pada penduduk dengan rentang usia 30-70 tahun (*World Health Statistic*, 2022). Berbagai penelitian epidemiologi menunjukkan bahwa angka insidensi dan prevalensi DM tipe 2 diberbagai penjuru dunia akan cenderung

meningkat. Di Indonesia, berdasarkan data riskesdas tahun 2018 memperlihatkan peningkatan angka prevalensi diabetes yang cukup signifikan, yaitu dari 6,9% ditahun 2013 menjadi 8,5% ditahun 2018 sehingga estimasi jumlah penderita di Indonesia mencapai lebih dari 16 juta orang. Hal ini kemungkinan diakibatkan oleh pola hidup yang tidak sehat (Riskesdas, 2018).

Pengobatan secara tradisional dapat dilakukan dengan menggunakan tanaman obat yang memiliki senyawa-senyawa berkhasiat sebagai antidiabetes. Tanaman yang berkhasiat sebagai obat diabetes melitus merupakan tanaman yang mengandung senyawa yang dapat merangsang kelenjar endokrin sehingga mempengaruhi produksi hormon dan mengubah proses fisiologi organ tubuh (Anjelina, 2018). Banyak jenis tanaman yang selama ini dipercaya dapat mengobati diabetes melitus secara tradisional salah satunya yaitu daun salam.

Daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) merupakan salah satu tanaman yang banyak digunakan sebagai pelengkap bumbu masakan. Selain dimanfaatkan untuk pelengkap bumbu masakan, juga diketahui memiliki khasiat menyembuhkan sakit diare dan magh, menurunkan kadar kolesterol, mengobati hipertensi dan menurunkan kadar gula darah pada penderita diabetes melitus (Dafriani, 2016).

Kandungan kimia pada daun salam yaitu tanin, minyak atsiri, sitral, eugenol, zat warna dan flavonoid (Widyawati *et al.*, 2014). Senyawa flavonoid yang terkandung di dalam daun salam merupakan salah satu golongan senyawa yang dapat menurunkan kadar glukosa darah (Lelono, 2013). Senyawa flavonoid di dalam daun salam mempunyai efek sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidan mampu menangkap radikal bebas penyebab kerusakan sel β pankreas dan menghambat kerusakan sel β pankreas, sehingga sel β yang tersisa masih tetap berfungsi. Antioksidan tersebut diperkirakan mampu melindungi sejumlah sel-sel β yang tetap normal, sehingga memungkinkan terjadinya regenerasi sel-sel β yang masih ada melalui proses mitosis (Suryani *et al.*, 2013).

Penelitian yang dilakukan oleh Widyawati pada tahun 2015 mengenai uji efektivitas ekstrak metanol daun salam pada kadar gula darah tikus yang diinduksi menjadi hiperglikemia. Hasil yang didapatkan bahwa ekstrak metanol daun salam dengan pemberian berulang metformin dan tiga dosis ekstrak metanol yaitu 250 mg, 500 mg dan 1000 mg/kgBB selama enam hari menyebabkan penurunan yang signifikan pada tikus diabetes yang diinduksi STZ (Widyawati *et al.*, 2015). Kemudian pada tahun 2017, Sri Wahjuni dan Wita melakukan penelitian uji efek hipoglikemik dan antioksidan ekstrak etanol daun salam pada tikus yang diinduksi aloksan. Hasil yang didapatkan bahwa ekstrak etanol daun salam

dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus yang diinduksi aloksan pada dosis 5 mg/kgBB (Wahjuni dan Wita, 2017).

Di Indonesia daun salam sering dimanfaatkan secara tradisional oleh masyarakat untuk mengobati penyakit diabetes melitus dengan cara merebus beberapa lembar daun salam dengan dua gelas air, kemudian dijadikan hingga satu gelas. Pada masyarakat, pemakaian daun salam dengan cara perebusan ini hampir sama dengan metode infusa yang peneliti lakukan. Selain itu, keuntungan dari metode infusa ini adalah peralatan yang digunakan mudah didapat, sederhana dalam proses pembuatannya dan biaya yang murah. Oleh karena itu peneliti tertarik untuk melakukan pengujian apakah infusa daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) dapat menurunkan kadar glukosa darah mencit putih jantan yang diinduksi glukosa dengan menggunakan metode TTGO (Tes Toleransi Glukosa Oral).

Metode

I. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah panci infusa, termometer raksa, corong (Herma®), cawan penguap, gelas ukur (Iwaki®), beker gelas (Pyrex®), tabung reaksi (Iwaki®), batang pengaduk, pipet tetes, plat tetes, penjepit buaya, kain flanel, kapas, gunting, lumpang dan alu, api bunsen, kompor gas, timbangan hewan (Tanita®), timbangan analitik (Shimadzu®), stopwatch, kandang pemeliharaan hewan uji, alat suntik, sonde oral (Onemed®), vial, masker, *handscoon*, alat pengukur kadar gula darah (Easy Touch® GCU), dan *strip test* (Easy Touch®).

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun salam segar, *aquadest*, asam sulfat 2N (Sigma-Aldrich), asam klorida pekat (Sigma-Aldrich), asam klorida 2%, asam asetat anhidrat, kloroform (Merck), kloroform amoniak 0,05N, etanol, pereaksi Mayer, logam magnesium (Sigma-Aldrich), FeCl₃ 1%, glukosa, Na CMC 1% dan tablet glibenklamid

2. Jalannya Penelitian

2.1. Pengambilan Sampel Daun

Salam

Sampel daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) diperoleh dari budidaya tanaman yang beralamat di Jalan M. Ali, Desa Perawang Barat, Kecamatan Tualang, Kabupaten

Siak, Provinsi Riau. Daun salam yang digunakan yaitu daun yang masih segar.

2.2. Identifikasi Daun Salam

Sampel tanaman daun salam dalam keadaan lengkap diidentifikasi di Laboratorium Botani jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Riau, Pekanbaru.

2.3. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia sampel segar dan infusa daun salam dilakukan untuk mengetahui dan mengidentifikasi kandungan kimia yang terdapat pada sampel segar dan infusa daun salam.

2.4. Persiapan Hewan Percobaan

Hewan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit putih (*Mus musculus* L.) jantan dewasa yang sehat sebanyak 25 ekor. Umur mencit yang digunakan berkisar antara 2-3 bulan dengan berat antara 20-30 gram. Hewan yang digunakan untuk penelitian adalah hewan yang belum pernah diperlakukan terhadap obat dan hewan yang dinyatakan sehat dengan kriteria tidak cacat secara fisik. Sebelum perlakuan hewan percobaan di aklimatisasi selama 7 hari. Mencit diaklimatisasi dalam kondisi laboratorium dengan diberi makanan dan minuman yang cukup. Selama aklimatisasi berat badan ditimbang. Mencit yang digunakan adalah mencit yang sehat yakni berat badan selama aklimatisasi tidak menunjukkan penyimpangan bobot badan lebih kurang dari 10% dan secara visual menunjukkan perilaku yang normal (BPOM, 2014).

2.5. Perencanaan Dosis

Pada penelitian ini konsentrasi infusa daun salam yang akan diberikan kepada hewan percobaan yaitu dengan membagi menjadi 3 perlakuan konsentrasi yaitu 10%, 20% dan 40%. Volume untuk pemberian secara oral digunakan 1% dari berat badan hewan, untuk kelompok kontrol positif diberikan glibenklamid dengan dosis 5 mg/tablet maka untuk berat badan mencit 20 gram, jika dikonversikan $= 5 \text{ mg} \times 0,0026 = 0,013 \text{ mg}/20\text{gBB}$. Setelah itu, glibenklamid disuspensikan dengan Na CMC 1% kemudian diberikan secara oral 1 % dari berat badan masing-masing mencit, sementara untuk kelompok negatif hanya diberikan Na CMC sebanyak 1% dari berat badan masing-masing mencit.

2.6. Pembuatan Infusa Daun Salam

Infusa dibuat dari daun salam 10% b/v (Depkes RI, 2020) dengan cara sebagai berikut, daun salam dengan berat 10 gram, 20 gram dan 40 gram rajang kecil-kecil kemudian dimasukkan ke dalam panci infusa, ditambahkan *aquadest* hingga 100 mL. Daun salam yang telah ditambahkan *aquadest* dipanaskan selama 15 menit terhitung setelah suhu mencapai 90°C di dalam panci infusa, sambil sekali-sekali diaduk. Serkai selagi dingin menggunakan kain flanel. Jika volume infusa kurang dari 100 mL dapat ditambahkan dengan air panas yang dilewatkan pada ampas daun salam hingga memperoleh 100 mL infusa daun salam. Infusa daun salam yang diberikan sebagai perlakuan pada mencit yaitu dengan 3 perlakuan konsentrasi 10%, 20% dan 40% dengan volume pemberian 1% dari berat badan mencit.

2.7. Pembuatan Suspensi Na CMC 1%

Serbuk Na CMC 0,05 gram ditaburkan di atas air panas di dalam cawan penguap, air panas yang digunakan 20 kali berat Na CMC. Diamkan selama 15 menit hingga Na CMC mengembang dan transparan lalu gerus cepat di dalam lumpang hingga terbentuk suspensi, kemudian tambahkan air hingga 5 mL.

2.8. Pembuatan Sediaan

Glibenklamid

Menurut Farmakope Indonesia edisi ke-VI glibenklamid praktis tidak larut dalam air dan eter, sukar larut dalam etanol dan dalam metanol, larut sebagian dalam kloroform (Depkes RI, 2020). Suspensi glibenklamid dibuat dengan berat X mg, pembuatannya dengan cara menaburkan 0,05 gram Na CMC ke dalam lumpang yang berisi air panas, air panas yang digunakan 20 kali berat dari Na CMC. Diamkan selama 15 menit hingga diperoleh Na CMC dengan masa yang mengembang dan transparan, digerus hingga terbentuk suspensi, taburkan glibenklamid yang telah ditimbang lalu digerus hingga homogen kemudian ditambahkan dengan *aquadest* hingga 5 mL.

2.9. Pengelompokkan Hewan

Percobaan

Pada penelitian ini hewan percobaan akan dibagi secara acak menjadi 5 kelompok. masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit putih jantan yang selisih berat badannya tidak lebih dari 20%. Mencit dipuasakan terlebih dahulu selama 16 jam, tiap kelompok diberi perlakuan sebagai berikut: kelompok kontrol positif mencit putih

jantan diberikan larutan Glibenklamid 0,013 mg/20gBB yang telah disuspensikan dengan Na CMC 1% secara oral. Kelompok kontrol negatif mencit putih jantan hanya diberikan Na CMC 1% secara oral dengan volume pemberian 1% berat badan hewan. Kelompok infusa 10% mencit putih jantan diberikan infusa daun salam dengan konsentrasi 10% b/v secara oral dengan volume pemberian 1% dari BB. Kelompok infusa 20% mencit putih jantan diberikan infusa daun salam dengan konsentrasi 20% b/v secara oral dengan volume pemberian 1% dari BB. Kelompok infusa 40% mencit putih jantan diberikan infusa daun salam dengan konsentrasi 40% b/v secara oral dengan volume pemberian 1% dari BB.

2.10 Uji Toleransi Glukosa Oral (TTGO)

Metode induksi yang digunakan dalam percobaan ini adalah metode Tes Toleransi Glukosa Oral (TTGO) dimana hewan percobaan diberi larutan glukosa sebanyak 9.750 mg/KgBB. Mencit yang akan diberi perlakuan dipuasakan terlebih dahulu selama 16 jam, dengan tujuan agar sistem atau saluran pencernaannya kosong sehingga tidak akan mempengaruhi absorpsi obat.

Mencit diperiksa kadar glukosa darah awal sebelum pemberian sediaan, setiap hewan percobaan dibebankan dengan larutan glukosa yang diberikan secara oral sebanyak 9.750 mg/KgBB mencit dengan volume pemberian 1% BB setelah itu diukur kadar glukosa darah dengan alat glukometer dan strip test pada selang waktu 30 menit. Untuk kelompok perlakuan 3, 4 dan 5 masing-masing diberi infusa daun salam dengan volume pemberian 1% dari berat badan hewan percobaan dengan konsentrasi masing-masing adalah 10%, 20% dan 40%, untuk kelompok kontrol positif diberikan glibenklamid dengan dosis 0,65 mg/KgBB dengan volume pemberian 1% dari berat badan hewan percobaan dan kelompok kontrol negatif hanya diberikan Na CMC 1% dengan volume 1% dari berat badan hewan percobaan. Pada penelitian ini pemberian sediaan dilakukan 30 menit sebelum diberikan beban induksi glukosa. Setelah 30 menit pemberian sediaan uji, selanjutnya setiap hewan percobaan dibebankan larutan glukosa yang diberikan secara oral dengan dosis 9.750 mg/KgBB mencit dengan volume pemberian 1% berat badan hewan. Kemudian pengukuran kadar glukosa darah dilakukan setelah pemberian beban glukosa pada menit ke 30, 60, 90 dan 120. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan alat ukur glukosa darah glukometer (*Easy Touch*).

2.II. Pengukuran Kadar Glukosa Darah Hewan Percobaan

Mencit yang telah diberikan sediaan per oral kemudian dibebankan larutan glukosa sebesar 9.750 mg/KgBB dan segera diperiksa kadar glukosa darah mencit pada menit 30, 60, 90 dan 120. Cara pengukuran kadar glukosa darah mencit menggunakan alat glukometer:

1. Sebelum pemeriksaan kadar glukosa darah, mencit dipuasakan selama 16 jam. Pemeriksaan kadar glukosa darah melalui pengambilan cuplikan darah dari vena di ekor mencit dengan cara menyayat sedikit bagian ekor mencit.
2. Tetesan darah diperiksa dengan menggunakan alat glukometer. Strip test yang telah ditetesi darah dimasukkan ke alat pemeriksa, kemudian hasilnya dibaca pada layar dalam waktu 10 detik. Nilai yang tertera pada layar merupakan konsentrasi glukosa darah dalam mg/dL.

2.12. Analisis Data

Untuk analisa data dilakukan dengan mengukur perubahan kadar glukosa darah setelah pemberian beban glukosa pada menit ke 30, 60, 90, dan 120. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan alat ukur glukosa darah Glukometer *Easy Touch* dengan metoda analisa ANOVA dua arah menggunakan *software* SPSS 25.0 *for windows*.

Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk melihat pengaruh pemberian infusa daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) terhadap penurunan kadar glukosa darah mencit putih jantan yang diinduksi glukosa. Daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) yang dijadikan sebagai sampel adalah daun salam yang masih segar, hijau dan tidak busuk. Daun salam diperoleh dari budidaya tanaman yang beralamat di Jalan M. Ali, Desa Perawang Barat, Kecamatan Tualang. Daun salam sering dimanfaatkan secara tradisional oleh masyarakat untuk mengobati penyakit diabetes. Selain itu daun salam ini juga merupakan salah satu tanaman yang mudah diperoleh karena mudah untuk dibudidayakan.

Masyarakat biasanya meramu daun salam dengan cara perebusan. Teknik perebusan ini hampir sama dengan dengan metode infusa yang peneliti lakukan. Sehingga, peneliti tertarik untuk melakukan pengujian terhadap infusa daun salam sebagaimana dengan cara yang biasa dilakukan masyarakat untuk meramu daun salam

yang dipercaya memiliki efek sebagai antidiabetes.

Tanaman daun salam yang digunakan dalam penelitian yaitu tanaman yang telah diidentifikasi di Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Jurusan Biologi Universitas Riau. Tujuan dilakukannya identifikasi yaitu untuk memastikan bahwa tanaman yang telah diidentifikasi adalah tanaman yang sama dengan tanaman yang akan digunakan dalam penelitian. Identifikasi tanaman juga bertujuan untuk mengetahui jenis tanaman secara detail dan lengkap serta dapat dipertanggung jawabkan secara ilmiah. Berdasarkan hasil identifikasi yang diperoleh, dinyatakan bahwa tanaman yang digunakan adalah tanaman salam dengan nama spesies (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp) yang termasuk dalam marga *Syzygium*.

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Daun Segar dan Infusa Daun Salam

No.	Metabolit sekunder	Hasil	
		Daun segar	Infusa
1.	Alkaloid	-	-
2.	Flavonoid	+	+
3.	Saponin	+	+
4.	Fenolik	+	+

Keterangan: (+) menyatakan positif mengandung senyawa yang diidentifikasi

Skrining fitokimia dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam sampel daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp). Berdasarkan hasil skrining fitokimia yang dilakukan menunjukkan bahwa daun salam segar mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid, fenolik, saponin. Sedangkan hasil skrining fitokimia pada infusa daun salam juga mengandung flavonoid, fenolik dan saponin. Pada skrining infusa tidak ditemukannya steroid dan terpenoid, hal ini karena steroid dan terpenoid bersifat non polar, sehingga penggunaan pelarut *aquadest* yang bersifat polar pada pembuatan infusa tidak dapat membuat senyawa steroid dan terpenoid yang bersifat nonpolar tersari di dalam infusa daun salam yang bersifat polar (Harborne, 2006).

Senyawa flavonoid yang terkandung di dalam daun salam diketahui merupakan salah satu golongan senyawa yang dapat menurunkan kadar glukosa darah (Lelono, 2013). Senyawa flavonoid di dalam daun salam mempunyai efek sebagai antioksidan sehingga mampu menangkap radikal bebas penyebab kerusakan sel β pankreas

dan menghambat kerusakan sel β pankreas, sehingga sel β yang tersisa masih tetap berfungsi. Antioksidan tersebut diperkirakan mampu melindungi sejumlah sel-sel β yang tetap normal, sehingga memungkinkan terjadinya regenerasi sel-sel β yang masih ada melalui proses mitosis (Suryani *et al.*, 2013).

Glibenklamid sebagai obat hipoglikemik oral golongan sulfonilurea memiliki mekanisme kerja yang sama dengan flavonoid yang terkandung di dalam daun salam yaitu merangsang sekresi hormon insulin dari sel β pankreas (Akash *et al.*, 2013). Oleh karena itu peneliti menggunakan glibenklamid sebagai kelompok kontrol positif karena memiliki mekanisme kerja yang sama dengan kandungan flavonoid pada daun salam yang memiliki efek sebagai antidiabetes.

Pada penelitian ini, konsentrasi infusa daun salam yang digunakan yaitu konsentrasi 10%, 20% dan 40%. Berdasarkan farmakope Indonesia, jika tidak dinyatakan lain maka infusa yang berkhasiat sebagai obat dimulai pada konsentrasi 10%. Pada infusa daun salam ini mengandung minyak atsiri, sehingga dalam proses pembuatannya diserai selagi dingin. Menurut Farmakope Indonesia apabila infusa simplisia mengandung minyak atsiri maka diserai selagi dingin. Pada penelitian ini konsentrasi infusa yang digunakan yaitu dua kali lipat dari konsentrasi awal, dimana konsentrasi dimulai dari 10%, 20% dan 40%. Hal ini bertujuan untuk melihat pengaruh konsentrasi terhadap penurunan kadar glukosa darah mencit.

Pada penelitian ini menggunakan hewan percobaan mencit putih (*Mus musculus* L.) jantan, dimana mencit yang digunakan untuk penelitian adalah mencit yang belum pernah diberi perlakuan terhadap obat dan mencit yang dinyatakan sehat dengan kriteria tidak cacat secara fisik dan secara visual memperlihatkan perilaku yang normal. Mencit yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit jantan. Pemilihan jenis kelamin mencit didasarkan pada pertimbangan bahwa mencit jantan memiliki kondisi hormonal yang lebih stabil dibandingkan dengan mencit betina, hal ini karena mencit betina mengalami perubahan kondisi hormonal pada masa tertentu seperti pada masa siklus estrus, kehamilan dan menyusui sehingga dapat mempengaruhi kondisi psikologis hewan uji yang dikhawatirkan berpengaruh terhadap hasil pengujian. Selain itu tingkat stres pada mencit betina lebih tinggi dibandingkan dengan mencit

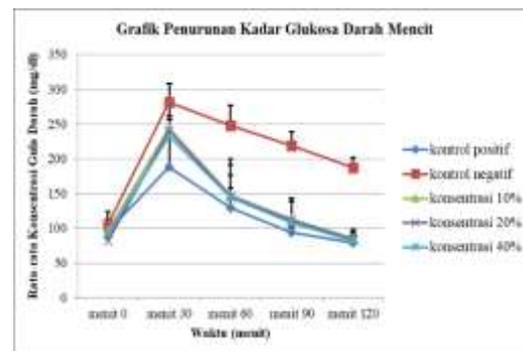
jantan yang mungkin dapat mengganggu saat penelitian (Nugroho, 2006).

Sebelum dilakukannya pengujian mencit diaklimatisasi terlebih dahulu selama 7 hari. Tujuan dari aklimatisasi ini yaitu untuk menyesuaikan mencit dengan lingkungannya, untuk mengetahui secara visual bahwa mencit yang akan digunakan dalam penelitian dalam keadaan sehat. Selama aklimatisasi berat badan mencit ditimbang dan tidak menunjukkan penyimpangan berat badan lebih kurang 10%. Mencit dikelompokkan menjadi 5 kelompok, dimana dalam I kelompoknya terdiri dari 5 ekor mencit dan penyimpangan berat badan mencit dalam I kelompoknya tidak boleh lebih dari 20%. Kelompok I sebagai kontrol positif diberikan glibenklamid, kelompok 2 sebagai kontrol negatif diberikan Na CMC 1%, kelompok 3, 4 dan 5 sebagai kelompok perlakuan diberikan infusa daun salam dengan konsentrasi 10%, 20% dan 40%. Setelah dilakukannya aklimatisasi selama 7 hari dan telah memenuhi persyaratan, kemudian mencit dipuasakan dahulu selama 16 jam namun, air minum tetap diberikan. Hal ini bertujuan agar saluran pencernaan mencit kosong sehingga tidak akan mempengaruhi absorpsi obat. Selain itu, tujuan mencit dipuasakan yaitu untuk menghindari kemungkinan adanya faktor yang dapat mempengaruhi hasil pengujian yang timbul akibat makanan yang diberikan pada mencit.

Sebelum mencit diberikan sediaan uji, kadar glukosa darah mencit diukur terlebih dahulu tujuannya untuk mengetahui kadar glukosa awal mencit, kemudian mencit diberikan sediaan uji secara oral dengan volume pemberian 1% dari berat badan mencit. Setelah 30 menit pemberian sediaan uji, mencit diberi larutan glukosa dengan dosis 9.750 mg/KgBB secara oral dengan volume pemberian 1% dari berat badan mencit. Metode ini merupakan metode Tes Toleransi Glukosa Oral (TTGO). TTGO adalah tes mengukur kadar glukosa darah sesudah mengkonsumsi glukosa. Pemberiansediaan uji dilakukan terlebih dahulu bertujuan untuk melihat mekanisme kerja dari sediaan uji dalam memberikan efek penurunan kadar glukosa darah.

Pada penelitian ini penginduksi yang digunakan yaitu glukosa. Alasan pemilihan glukosa sebagai penginduksi mencit dikarenakan glukosa merupakan salah satu senyawa yang dapat meningkatkan kadar glukosa darah. Hal ini disesuaikan dengan kondisi masyarakat yang apabila mengalami kondisi kelebihan glukosa di dalam tubuhnya. Penginduksian glukosa pada

mencit secara oral telah berhasil menaikkan kadar glukosa darah mencit. Hasil yang didapatkan dari penginduksian glukosa ini yaitu kadar glukosa darah melebihi atau sama dengan 126 mg/dL (kadar glukosa darah puasa) yang dianggap telah diabetes (Soemardji, 2004). Pengukuran kadar glukosa darah pada mencit dilakukan selama 2 jam, dimulai setelah mencit diinduksi glukosa secara oral pada menit ke 30, 60, 90 dan 120. Hal ini bertujuan untuk mengetahui dan melihat pengaruh waktu terhadap penurunan kadar glukosa darah mencit. Hasil Pengukuran dapat dilihat pada Gambar I.



Gambar I. Grafik Penurunan Glukosa Darah Mencit (mg/dl)

Pada penelitian ini, kelompok kontrol positif yang diberi glibenklamid setelah 30 menit dilakukan penginduksian glukosa, kemudian diukur kadar glukosa darah mencit. Pengukuran kadar glukosa darah pada menit ke-30 (t30) setelah penginduksian menunjukkan bahwa kadar glukosa darah mencit masih tinggi namun, tidak setinggi kadar glukosa darah mencit pada kelompok lainnya, yang artinya pada menit ke-30 tersebut glibenklamid sudah mulai bekerja. Penurunan kadar glukosa darah mulai terlihat pada menit ke 60, 90 dan 120 setelah diinduksi. Pada menit ke 90 dan 120 terlihat bahwa kadar glukosa darah mencit yang diberi glibenklamid sudah kembali ke normal. Adapun mekanisme kerja glibenklamid dalam menurunkan kadar glukosa darah yaitu merangsang sekresi hormon insulin dari grandula sel-sel β pulau langerhans pankreas. Interaksinya dengan ATP-sensitive K channel pada membran sel-sel β menimbulkan depolarisasi membran dan keadaan ini akan membuka kanal Ca. setelah terbukanya kanal Ca, maka ion Ca^{2+} akan masuk ke dalam sel β kemudian merangsang grandula yang berisi insulin sehingga akan terjadi sekresi insulin (Suherman, 2007). Sedangkan pada kelompok kontrol negatif yang diberi Na CMC 1%, pada

menit ke 30, 60, 90 dan 120 setelah diinduksikan glukosa secara oral pada mencit, mencit masih mengalami diabetes melitus, hal ini karena mencit tidak diberikan sediaan uji, mencit hanya diberikan suspensi Na CMC 1% yang tidak memiliki efek untuk menurunkan kadar glukosa darah.

Selanjutnya pada kelompok perlakuan infusa daun salam konsentrasi 10%, 20% dan 40% pada menit ke-30 setelah diinduksi glukosa secara oral, kadar glukosa darah mencit masih dalam kondisi diabetes melitus. Penurunan kadar glukosa darah terjadi pada menit ke 60, 90 dan 120. Hal ini menunjukkan bahwa pada kelompok ini infusa daun salam mampu bekerja menurunkan kadar glukosa darah mencit tetapi penurunan kadar glukosa darah mencit masih normal dan tidak terjadi hipoglikemik. Penurunan kadar glukosa darah mencit oleh infusa daun salam ini berkaitan dengan senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada infusa daun salam tersebut. Berdasarkan hasil skrining fitokimia, infusa daun salam mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid yang dipercaya dapat menurunkan kadar glukosa darah. Adapun mekanisme kerja dari flavonoid yaitu senyawa flavonoid di dalam daun salam mempunyai efek sebagai antioksidan sehingga mampu menangkap radikal bebas penyebab kerusakan sel β pankreas dan menghambat kerusakan sel β pankreas, sehingga sel β yang tersisa masih tetap berfungsi. Antioksidan tersebut diperkirakan mampu melindungi sejumlah sel-sel β yang tetap normal, sehingga memungkinkan terjadinya regenerasi sel-sel β yang masih ada melalui proses mitosis (Suryani *et al.*, 2013).

Analisa pada penelitian ini menggunakan *Two Way* ANOVA atau Anova dua arah karena pengujian ini dilakukan untuk melihat pengaruh kelompok perlakuan dan waktu terhadap kadar glukosa darah mencit. Pengujian ini menggunakan nilai signifikan $p=0,05$, apabila nilai $p>0,05$ tidak dilanjutkan uji *Post Hoc Tukey* dan apabila nilai $p<0,05$ dilanjutkan uji *Post Hoc Tukey* untuk melihat kelompok mana yang berbeda secara signifikan.

Hasil analisa deskriptif *Two Way* ANOVA diketahui nilai $p<0,05$ yaitu 0,00 yang menandakan bahwa pada kelompok perlakuan ada yang memiliki hasil berbeda secara signifikan diantara 5 kelompok tersebut, sehingga dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tukey* untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan.

Dari hasil uji *Post Hoc Tukey* diketahui bahwa kelompok kontrol negatif yang diberi suspensi Na CMC 1% berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif, kelompok perlakuan infusa 10%, 20% dan 40%, ditandai dengan kelompok negatif berada dalam subset yang berbeda dengan kelompok lainnya. Sedangkan kelompok kontrol positif yang diberikan glibenklamid dengan kelompok perlakuan infusa 10%, 20% dan 40% tidak berbeda signifikan, hal ini ditandai dengan kelompok kontrol positif berada dalam subset yang sama dengan kelompok perlakuan infusa 10%, 20% dan 40%, yang berarti bahwa pada konsentrasi tersebut infusa daun salam dapat menurunkan kadar glukosa darah mencit yang sama efektifnya dengan kelompok kontrol.

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa perbedaan waktu juga mempengaruhi proses peningkatan atau penurunan kadar glukosa darah pada mencit. Dari hasil penelitian, diketahui pada menit ke-30 berbeda signifikan dengan menit ke 60, 90 dan 120, yang berarti pada menit ke-30 terjadi peningkatan kadar glukosa darah mencit akibat diberikannya larutan glukosa sebagai penginduksi secara oral. Pada menit ke 60 dan 90 berbeda signifikan dengan menit ke-30, yang artinya pada menit tersebut sudah mulai menunjukkan penurunan kadar glukosa darah. Selain itu menit ke 60 dan 90 juga berbeda signifikan dengan menit awal dan menit ke-120, yang artinya pada menit ke 60 dan 90 tersebut penurunan kadar glukosa darah mencit belum mencapai penurunan kadar glukosa darah seperti pada menit awal. Kemudian, pada menit ke-120 tidak berbeda signifikan dengan menit awal, yang artinya pada menit ke-120 tersebut infusa yang diberikan sudah menunjukkan efek penurunan kadar glukosa darah mencit yang hampir sama dengan kadar glukosa darah pada menit awal.

Simpulan dan Saran

Berdasarkan penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa pemberian infusa daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) berpengaruh terhadap penurunan kadar glukosa darah yang diujikan terhadap mencit putih (*Mus musculus* L.) jantan yang diinduksi glukosa secara oral. Pada konsentrasi 10%, 20% dan 40% merupakan konsentrasi infusa daun salam yang dapat menurunkan kadar glukosa darah pada mencit yang diinduksi glukosa secara oral.

Daftar Pustaka

- Akash MSH, Rehman K, Chen S. 2013. Role of Inflammatory Mechanisms Inpathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus. *J Cell Biochem.* 2013;114: 525-531.
- Anjelina, H. S. 2018. Pemanfaatan Tumbuhan Obat Diabetes mellitus di Masyarakat Etnis Simalungun provinsi Sumatera Utara.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan, 2014. *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2014 tentang Pedoman Uji Toksisitas Non Klinik Secara in Vivo.* Jakarta: Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Dafriani, P. 2016. Pengaruh Rebusan Daun Salam (*Syzygium Polyanthum* (Wight) Walp.) terhadap Tekanan Darah Pasien Hipertensi di Sungai Bungkal, Kerinci 2016. *Jurnal Kesehatan Medika Saintika*, 7(2), 25–34.
- Depkes RI 2020. Farmakope Indonesia. *Edisi VI ed.* Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Harborne, J.B. 2006. *Metode Kimia Cara Modern Menganalisis Tumbuhan.* Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Lelono R. A. A, Tachibana S. 2013. Preliminary Studies Of Indonesian Eugenia Polyantha Leaf Extracts As Inhibitors Of Key Enzymes For Type 2 Diabetes. *J.Med.Sci.* 13(2): 103-10.
- Nugroho, A.E. 2006. Animal Models of Diabetes Mellitus: Pathology and Mechanism of Some Diabetogenics, Biodiversitas. *Journal of Biological Diversity*, 7(4): 378–382.
- Riset Kesehatan Dasar. 2018. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Soemardji, A. A. 2004. Penentuan Kadar Glukosa Darah Mencit Secara Cepat: Untuk Diterapkan dalam Penapisan Aktivitas Antidiabetes In Vivo. *Acta Pharmaceutica Indonesia*, 29(3): 9–11.
- Suryani, N., Endang, E.H. dan Aulanni'am, A. 2013. Pengaruh Ekstrak Biji Metanol Terhadap Peningkatan Kadar Insulin, Penurunan Ekspresi TNF- α dan Perbaikan Jaringan Pankreas Tikus Diabetes, *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 27(3), 137-145
- Wahjuni, S. dan Wita, I. W. 2017. Hypoglycemic and Antioxidant Effects of *Syzygium polyanthum* Leaves Extract on Alloxan Induced Hyperglycemic Wistar Rats. *Bali Medical Journal*, 6(3): 113.
- Widyawati P. S, Budiarta, dan FA Kusuma. 2014. Difference of Solvent Polarity to Phytochemical Content and Antioxidant Activity of *Pluchea indica* Less Leaves Extracts, *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 6(4): 850-5.
- Widyawati, T., Yusoff, N. A., Asmawi, M. Z. dan Ahmad, M. 2015. Antihyperglycemic Effect of Methanol Extract of *Syzygium polyanthum* (Wight.) Leaf in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Nutrients*, 7(9): 7764–7780.
- World Health Statistic 2022. *Wound Healing Society*. Retrieved from Wound Healing Society: <https://woundheal.org>