

Optimalisasi Induksi Hiperglikemik pada *Zebrafish* dan Skrining Fitokimia Infusa Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) dengan Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) sebagai Antidiabetes

Optimization of Hyperglycemic Induction in Zebrafish and Phytochemical Screening of Bay Leaf (*Syzygium polyanthum*) with Starfruit (*Averrhoa bilimbi*) as Antidiabetic

Yusri*, Riski Sulistiarini, Hifdzur Rashif Rija'i

Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Kefarmasian "Farmaka Tropis",
Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia

*Email korespondensi: yusri2902@gmail.com

Abstrak

Salah satu penyakit degeneratif yaitu diabetes mellitus merupakan penyakit yang diakibatkan oleh kondisi kelebihan kadar glukosa darah atau hiperglikemik. Daun salam memiliki kandungan berupa senyawa flavonoid dan tanin yang diduga berkhasiat menurunkan kadar glukosa darah. Buah belimbing wuluh memiliki kandungan vitamin C, flavonoid, dan saponin yang juga berkhasiat menurunkan kadar glukosa darah. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui konsentrasi optimal aloksan untuk induksi hiperglikemik pada *zebrafish* serta untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder pada infusa daun salam dan buah belimbing wuluh sebagai antidiabetik. Optimalisasi induksi hiperglikemik dilakukan dengan membagi 5 kelompok perlakuan terdiri dari kelompok normal dan kelompok induksi aloksan (0,2%; 0,15%; 0,1%; dan 0,05%), kemudian dilakukan pengukuran kadar glukosa darah 7 hari pasca induksi. Hasil yang didapatkan yaitu terdapat perbedaan nilai kadar glukosa darah *zebrafish* antara kelompok normal dengan kelompok induksi. Konsentrasi yang paling optimal dalam meningkatkan kadar glukosa darah *zebrafish* adalah aloksan konsentrasi 0,15% dengan rata-rata kadar glukosa darah sebesar 230,25 mg/dL.

Kata Kunci: hiperglikemik, daun salam, buah belimbing wuluh, *zebrafish*

Abstract

One of the degenerative diseases, namely diabetes mellitus, is a disease caused by conditions of excess blood glucose levels or hyperglycemia. Bay leaves contain flavonoid and tannin compounds which are thought to be efficacious in lowering blood glucose levels. Wuluh star fruit contains vitamin C, flavonoids, and saponins which are also efficacious in lowering blood glucose levels. The purpose of this study was to determine the optimal concentration of alloxan for hyperglycemic induction in zebrafish and to determine the content of secondary metabolites in the infusion of bay leaves and star fruit as antidiabetic. Optimization of hyperglycemic induction was done by dividing 5 treatment groups. The treatment group was divided into a normal group and an alloxan induction group (0.2%; 0.15%; 0.1%; and 0.05%), then measured blood glucose levels 7 days post-induction. The results obtained are that there are differences in the value of zebrafish blood glucose levels between the normal group and the induction group. The most optimal concentration in increasing zebrafish blood glucose levels is 0.15% alloxan concentration with an average blood glucose level of 230.25 mg/dL.

Keywords: Hyperglycemia, bay leaves, starfruit, zebrafish

DOI: <https://doi.org/10.25026/mpc.v15i1.644>

1 Pendahuluan

Banyaknya masyarakat yang mengkonsumsi karbohidrat dalam jumlah besar dikarenakan karbohidrat merupakan salah satu sumber energi terbesar bagi tubuh dapat memicu terjadinya kondisi hiperglikemik, hal ini disebabkan oleh kerja enzim amilase yang dapat memecah karbohidrat menjadi glukosa. Hiperglikemia sendiri merupakan kondisi dimana kadar glukosa darah berada di atas kadar normal yakni 80-110 mg/dL untuk kadar glukosa darah puasa dan 95-125 mg/dL untuk kadar glukosa darah normal [1].

Buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) merupakan salah satu bahan tambahan yang sering digunakan dalam masakan tradisional. Buah belimbing wuluh memiliki beberapa kandungan seperti vitamin C, flavonoid, dan saponin yang berperan dalam menurunkan kadar glukosa darah. Flavonoid merupakan agen antidiabetik yang potensial dikarenakan bersifat insulin mimetik dan antihiperglikemik yang memiliki efek untuk memperbaiki kondisi penderita diabetes[2].

Daun salam (*Syzygium polyanthum*) merupakan tanaman yang sering digunakan sebagai bumbu masakan. Selain sebagai tambahan masakan, daun salam juga sering

digunakan untuk pengobatan berbagai macam penyakit seperti diabetes, kolesterol, hipertensi dan lain-lain. Daun salam mengandung beberapa senyawa yang berfungsi sebagai agen antidiabetik diantaranya adalah flavonoid dan juga tanin yang diduga dapat menurunkan kadar glukosa darah [3].

Zebrafish telah digunakan secara efektif untuk melakukan skrining obat. Keuntungan menggunakan *zebrafish* sebagai model hewan uji dikarenakan harga yang terjangkau, kesamaan genetik dengan manusia sekitar 70%, mudah dipelihara karena ukurannya relatif kecil, serta memiliki kemiripan fisiologis yang signifikan dengan manusia [4]. Mempertimbangkan kelebihanannya, *zebrafish* dipilih sebagai model hewan uji yang ideal termasuk dalam uji berbagai penyakit termasuk diabetes, namun harus ada modifikasi induksi diabetes yang optimal dalam meningkatkan kadar glukosa darah *zebrafish*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi aloksan yang optimal untuk induksi hiperglikemik pada *zebrafish* serta untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder pada infusa daun salam dan buah belimbing wuluh sebagai antidiabetik.

2 Metode Penelitian

2.1 Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu simplisia daun salam (*Syzygium polyanthum*), simplisia buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*), aquades, pakan ikan, *glibenclamid* 5mg, strip glukosa, dan juga alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu akuarium, batang pengaduk, kertas saring, *hot plate*, panci infusa, *autocheck-Glucare*®, gelas kimia, corong kaca, kaca arloji, cawan porselen, thermometer, dan timbangan analitik

2.2 Prosedur

2.2.1 Optimalisasi kadar glukosa darah zebrafish

Optimalisasi dilakukan dengan menggunakan aloksan. *Zebrafish* akan dibagi menjadi 5 kelompok yang terdiri dari kelompok normal dan kelompok induksi aloksan dengan konsentrasi 0,2%; 0,15%; 0,1%; dan 0,05% yang terdiri dari 5 ekor *zebrafish* pada setiap kelompok.

Aloksan dilarutkan dalam NaCl 0,45% kemudian dibuat menjadi beberapa konsentrasi yaitu 0,2%; 0,15%; 0,1%; dan juga 0,05%.

Zebrafish kemudian diinduksi dengan menggunakan aloksan selama 10 menit kemudian dilanjutkan dengan perendaman dengan menggunakan larutan glukosa 2% selama 10 menit.

Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan 7 hari pasca induksi hiperglikemik untuk mengetahui konsentrasi yang paling optimal dalam meningkatkan kadar glukosa darah *zebrafish*. Pengukuran glukosa darah dilakukan dengan memotong sedikit bagian ekor *zebrafish* kemudian diambil darah yang keluar dengan menggunakan strip glukosa.

2.2.2 Penyiapan dan pembuatan infusa

Sampel daun salam dan juga buah belimbing wuluh dikumpulkan dan disortasi basah terlebih dahulu kemudian sampel telah terkumpul dirajang menjadi bagian kecil dan dikering anginkan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 3 jam untuk daun salam, dan 5 jam untuk buah belimbing wuluh. Simplisia

daun salam dan juga buah belimbing wuluh yang telah didapatkan kemudian dihaluskan.

Pembuatan infusa dilakukan dengan menimbang bahan, kemudian dimasukkan kedalam panci infusa dan ditambahkan aquades sebanyak 10× jumlah bahan kemudian dipanaskan selama 15 menit pada suhu 90°C. Selanjutnya disaring menggunakan kain flanel sehingga didapatkan infusa sampel. Pembuatan kombinasi infusa dilakukan dengan mengambil masing-masing infusa dengan perbandingan 1:1 lalu dicampurkan hingga homogen.

2.2.3 Skrining Fitokimia

Uji skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui adanya metabolit sekunder yang terkandung infusa daun salam (*Syzygium polyanthum*) dan buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*). Uji skrining fitokimia meliputi alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin.

Uji alkaloid dilakukan dengan menyiapkan 5 mL sampel kemudian ditambahkan 5 mL asam sulfat 1% dan disaring filtrat. Selanjutnya filtrat yang didapatkan dibagi ke dalam 3 buah tabung reaksi. Tabung reaksi pertama ditambahkan 3 tetes pereaksi Meyer, tabung reaksi kedua ditambahkan 3 tetes pereaksi Dragendorff dan tabung reaksi ketiga ditambahkan 3 tetes pereaksi Wagner. Adanya senyawa alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih pada tabung reaksi pertama dan timbulnya endapan berwarna coklat kemerahan pada tabung reaksi kedua dan ketiga.[5]

Uji flavonoid dilakukan dengan menyiapkan 2 mL sampel kemudian ditambahkan serbuk Mg dan ditetesi HCl pekat 5 tetes. Bila hasilnya berwarna merah atau kuning atau jingga berarti positif mengandung flavonoid.[6]

Uji tanin dilakukan dengan menyiapkan 2 mL sampel ditambahkan dengan pereaksi FeCl₃. Ekstrak yang mengandung Tanin akan berwarna biru atau hijau kehitaman[6]

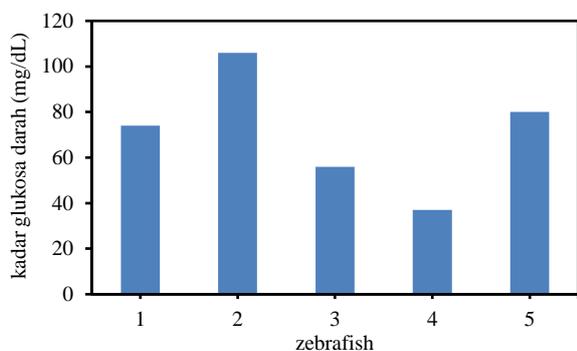
Uji saponin dilakukan dengan menyiapkan sampel 1 mL, kemudian dari masing-masing sampel ditambahkan 10 ml air suling panas dan dilarutkan terlebih dahulu sambil dipanaskan dalam penangas air kemudian dikocok kuat-kuat. Bila tidak terbentuk buih berarti negatif, namun bila tetap berbuih setelah didiamkan selama 10 menit kemudian ditambahkan HCl 2

N diperoleh buah tersebut tidak hilang, maka positif mengandung saponin[6].

3 Hasil dan Pembahasan

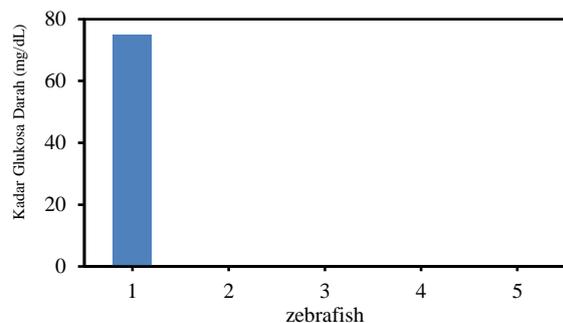
3.1 Optimalisasi kadar glukosa darah zebrafish

Optimalisasi kadar glukosa darah *zebrafish* dilakukan dengan membagi kedalam 5 kelompok yang terdiri dari 1 kelompok normal dan 4 kelompok uji dengan berbagai seri konsentrasi (0,2%; 0,15%; 0,1%; dan 0,05%). Pengukuran kadar glukosa darah *zebrafish* dilakukan 7 hari pasca induksi aloksan.



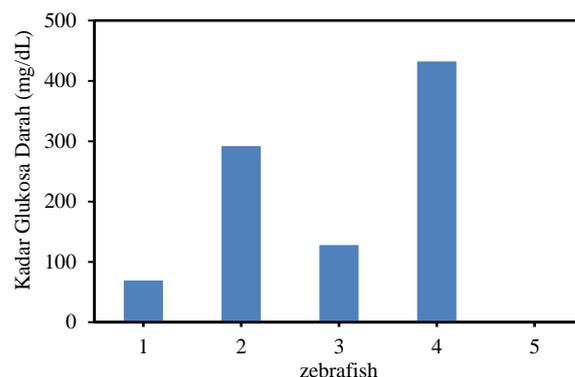
Gambar 1 Hasil pengecekan kadar glukosa darah zebrafish pada kelompok normal setelah 7 hari pemeliharaan

Kadar glukosa darah *zebrafish* pada kelompok normal pada masing- masing *zebrafish* yaitu sebesar 74mg/dL, 106mg/dL, 56mg/dL, 37mg/dL, dan 80mg/dL. Dengan nilai rata-rata kadar glukosa darah sebesar 70,6mg/dL.



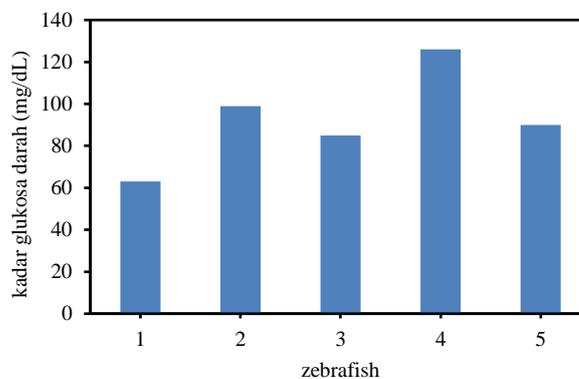
Gambar 2 Hasil pengecekan kadar glukosa darah zebrafish pada kelompok induksi aloksan dengan konsentrasi 0,2% setelah 7 hari pemeliharaan pasca induksi

Pemeriksaan kadar glukosa darah *zebrafish* pada kelompok induksi aloksan 0,2% hanya dapat dilakukan pada 1 ekor *zebrafish* dikarenakan terdapat kematian sebesar 80% dari jumlah total *zebrafish* dalam kelompok uji. Untuk nilai kadar glukosa darah *zebrafish* pada kelompok induksi aloksan 0,2% yaitu sebesar 75mg/dL.



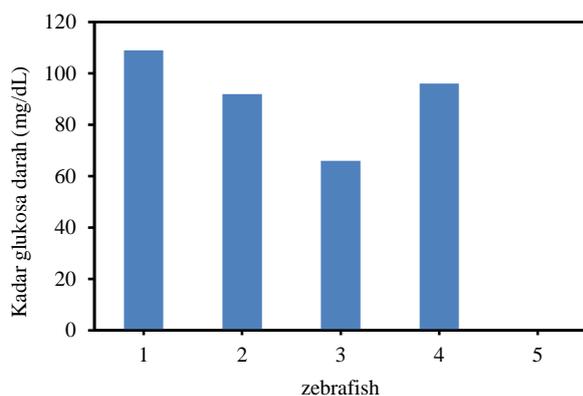
Gambar 3 Hasil pengecekan kadar glukosa darah zebrafish pada kelompok induksi aloksan dengan konsentrasi 0,15% setelah 7 hari pemeliharaan pasca induksi

Pengukuran terhadap kadar glukosa darah masing-masing *zebrafish* pada kelompok induksi aloksan 0,15% hanya dilakukan pada 4 ekor *zebrafish* dikarenakan terdapat 1 kematian *zebrafish*. Adapun kadar glukosa darah pada *zebrafish* dengan induksi aloksan 0,15% yaitu sebesar 69mg/dL, 292mg/dL, 128mg/dL, dan 432mg/dL. Dengan rata-rata kadar glukosa darah sebesar 230,25mg/dL.



Gambar 4 Grafik hasil pengecekan kadar glukosa darah zebrafish pada kelompok induksi aloksan dengan konsentrasi 0,1% setelah 7 hari pemeliharaan pasca induksi

Kadar glukosa darah pada masing-masing *zebrafish* pada kelompok induksi aloksan 0,1% yaitu sebesar 63mg/dL, 99mg/dL, 85mg/dL, 126mg/dL dan 90mg/dL. Dengan nilai kadar glukosa darah rata-rata sebesar 92,6 mg/dL.



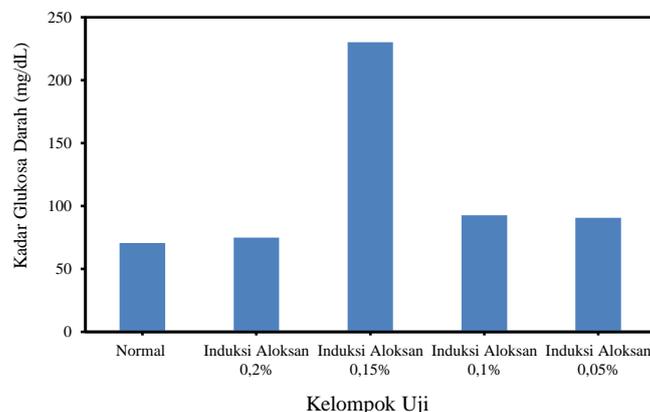
Gambar 5 Hasil pengecekan kadar glukosa darah *zebrafish* pada kelompok induksi aloksan dengan konsentrasi 0,05% setelah 7 hari pemeliharaan pasca induksi

Kadar glukosa darah pada kelompok induksi aloksan 0,05% pada masing-masing *zebrafish* yaitu sebesar 109mg/dL, 92mg/dL, 66mg/dL, dan 96mg/dL, serta terdapat 1 kematian *zebrafish*. Adapun untuk nilai kadar glukosa rata-rata *zebrafish* yaitu sebesar 90,75mg/dL.

Rata-rata kadar glukosa darah *zebrafish* dari setiap kelompok kemudian dibandingkan untuk mengetahui perbedaan peningkatan kadar glukosa darah pada kelompok normal dengan kelompok uji yang telah diinduksi aloksan. Adapun untuk hasil pengukuran kadar glukosa darah *zebrafish* disajikan pada Gambar 6.

Berdasarkan gambar 6 dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan kadar glukosa darah dari setiap setiap kelompok. Kadar glukosa darah paling tinggi terdapat pada kelompok dengan induksi aloksan 0,15% yaitu sebesar 230,25 mg/dL, sedangkan kelompok induksi aloksan 0,1% dan 0,05% memiliki rata-rata kadar glukosa darah sebesar 92,6 mg/dL dan 90,75 mg/dL yang menandakan bahwa induksi aloksan dengan konsentrasi 0,1% dan 0,05% belum optimal dalam meningkatkan kadar glukosa darah *zebrafish*. Sedangkan pada kelompok 0,2% terdapat kematian sebesar 80%

dari total populasi sehingga dianggap toksik. Sedangkan pada kelompok normal didapatkan hasil pengecekan kadar glukosa darah *zebrafish* sebesar 70,6 mg/dL.



Gambar 6 Grafik nilai rata-rata hasil pengecekan kadar glukosa darah *zebrafish* setelah 7 hari pemeliharaan pasca induksi aloksan

3.2 Pembuatan Infusa Sampel

Infusa sampel daun salam yang dihasilkan dalam penelitian kali ini berwarna oranye kecoklatan dengan aroma khas daun salam. Untuk infusa sampel buah belimbing wuluh memiliki warna kuning kecoklatan dengan aroma khas buah belimbing wuluh yang cukup pekat.

3.3 Skrining Fitokimia

Pada infusa daun salam dan juga buah belimbing wuluh dilakukan uji metabolit sekunder dan mendapatkan hasil berupa teridentifikasi senyawa flavonoid dan tanin pada sampel infusa daun salam dan senyawa flavonoid dan saponin. Sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Silalahi pada tahun 2017 bahwa daun salam mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, triterpenoid, dan juga *essential oil* [7]. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Surialaga pada tahun 2013 menyatakan bahwa terdapat senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin, tanin, kuinon, dan triterpenoid pada jus buah belimbing wuluh[8]. Adapun hasil skrining fitokimia infusa daun

salam dan buah belimbing wuluh disajikan dalam tabel 1.

Tabel 1 Hasil Skrining Fitokimia Infusa Sampel Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Dan Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*)

Senyawa	Sampel	
	Daun Salam	Buah Belimbing Wuluh
Alkaloid	(-)	(-)
Flavonoid	(+)	(+)
Saponin	(-)	(+)
Tanin	(+)	(-)

Flavonoid dan juga saponin merupakan senyawa antioksidan yang memiliki sifat melepaskan elektron sehingga menghentikan rantai senyawa radikal ROS, dengan menyumbangkan atom hidrogennya kepada radikal bebas ROS [2]. Senyawa tanin pada daun salam merupakan salah satu senyawa yang berperan dalam menurunkan kadar glukosa darah[8].

4 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa konsentrasi induksi aloksan yang paling optimal dalam meningkatkan kadar glukosa darah *zebrafish* adalah konsentrasi 0,15% dengan nilai kadar glukosa darah rata-rata sebesar 230,25 mg/dL. Daun salam dan juga buah belimbing wuluh memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, saponin, dan juga tanin yang dapat berperan dalam menurunkan kadar glukosa darah sehingga kedua bahan ini dapat dijadikan salah satu alternatif dalam menurunkan kadar glukosa darah khususnya pada penderita diabetes mellitus dan diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efektivitas kombinasi kedua bahan ini sebagai antidiabetik.

5 Etik

Penelitian telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman No.21/KEPK-FFUNMUL/EC/EXE/03/2022

6 Kontribusi Penulis

Kontribusi penulis dalam penelitian ini terdiri dari peneliti utama dan peneliti pendamping. Yusri sebagai peneliti utama, serta Riski Sulistiarini dan Hifdzur Rashif Rija'i sebagai peneliti pendamping.

7 Konflik Kepentingan

Para penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan baik dalam desain, pelaksanaan, interpretasi, atau penulisan penelitian.

8 Daftar Pustaka

- [1] Suarsana, I. N., Utama, I. H., Agung, I. G., & Suartini, A. (2011). Pengaruh Hiperglikemia dan Vitamin E pada Kadar Malonaldehid dan Enzim Antioksidan Intrasel Jaringan Pankreas Tikus. *Majalah Kedokteran Bandung*, 43(2), 72–76. <https://doi.org/10.15395/mkb.v43n2.46>
- [2] Jaya, I. M. M. (2019). *Potensi Sari Buah Belimbing Wuluh Averrhoa Bilimbi. L Sebagai Terapi Adjuvan Retinopati Diabetes*. 10(2), 4
- [3] Parisa, N. (2016). Efek Ekstrak Daun Salam pada Kadar Glukosa Darah. *JK Unila*, 1, 404–408.
- [4] Benchoula, K., Khatib, A., Quzwain, F. M. C., Che Mohamad, C. A., Wan Sulaiman, W. M. A., Abdul Wahab, R., Ahmed, Q. U., Abdul Ghaffar, M., Saiman, M. Z., Alajmi, M. F., & El-Seedi, H. (2019). Optimization of Hyperglycemic Induction in Zebrafish and Evaluation of Its Blood Glucose Level and Metabolite Fingerprint Treated with Psychotria malayana Jack Leaf Extract. *Molecules*, 24(8), 1506. <https://doi.org/10.3390/molecules24081506>
- [5] Astarina, dkk. 2013. Skrining fitokimia ekstrak metanol rimpang bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.). *jurnal farmasi udaya*
- [6] Arifuddin, M., dan Mahfuzun bone. 2018. Skrining Fitokimia dan Profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Tumbuhan Antimalaria Asal Indonesia.. *J. Sains Kes. 2020. Vol 2. No 3. p-ISSN: 2303-0267*
- [7] Silalahi, M. (2017). *Syzygium polyanthum(Wight) Walp. (Botani, Metabolit Sekunder dan Pemanfaatan)*. 10, 16.
- [8] Dafriani, P., Herlina, A., & Yatni, H. (2018). Pengaruh Rebusan Daun Salam Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Pada Pasien Diabetes Mellitus Tipe Ii Di Wilayah Kerja Puskesmas Alai Padang Tahun 2018. *Jurnal Kesehatan Sainika Meditory*, 1(1).