

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk menilai efektivitas diuretik fraksi etil asetat daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) berdasarkan parameter volume urin, kadar natrium dan kalium urin, serta pH urin. Sampel daun sirih hutan diperoleh dari Kampus Universitas Andalas, Kota Padang, Sumatera Barat, dan telah diidentifikasi di Herbarium Universitas Andalas (ANDA). Surat hasil identifikasi No: 346/K-ID/ANDA/VII/2025 membuktikan bahwa sampel yang digunakan merupakan *Piper aduncum* L. dari famili *Piperaceae* (Lampiran 1. b.).

Tahap awal penelitian diawali dengan proses ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol destilat 70%. Metode maserasi dipilih karena tidak melibatkan proses pemanasan sehingga dapat mencegah dan meminimalkan kerusakan senyawa atau metabolit yang bersifat termolabil (67). Penggunaan etanol 70% pada proses maserasi dikarenakan sampel berupa simplisia kering dengan kandungan air yang rendah. Keberadaan 30% air dalam pelarut tersebut dapat membantu proses penetrasi pelarut dengan mempermudah pemecahan dinding sel sehingga ekstraksi senyawa aktif menjadi lebih optimal (68). Simplisia kering yang telah dihaluskan ditimbang sebanyak 500 g lalu dilakukan maserasi dalam botol kaca gelap selama tiga hari dan diulang sebanyak tiga siklus untuk memaksimalkan perolehan senyawa terlarut. Maserat kemudian disaring dan diuapkan menggunakan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental.

Dari proses maserasi diperoleh ekstrak kental daun sirih hutan sebanyak 116,88 g, dengan rendemen ekstrak sebesar 23,38% dari berat simplisia awal. Penentuan rendemen dilakukan untuk menilai efektivitas proses ekstraksi, dimana nilai rendemen yang tinggi menunjukkan bahwa pelarut mampu mengekstraksi sejumlah besar komponen terlarut, termasuk senyawa aktif potensial dari jaringan tumbuhan (69). Ekstrak kental daun sirih hutan yang diperoleh selanjutnya dilakukan fraksinasi bertingkat untuk menghasilkan fraksi etil asetat. Proses fraksinasi bertujuan memisahkan komponen senyawa dalam ekstrak berdasarkan perbedaan tingkat kepolaran pelarut (24).

Dalam penelitian ini digunakan fraksi etil asetat karena senyawa yang diduga memiliki aktivitas diuretik merupakan senyawa golongan flavonoid yang bersifat semi polar (70). Ekstrak kental dilarutkan terlebih dahulu dalam aquadest, kemudian dilakukan partisi bertingkat menggunakan pelarut n-heksana untuk memisahkan senyawa nonpolar, dilanjutkan dengan etil asetat untuk menarik senyawa semi polar. Proses fraksinasi dilakukan hingga tiga kali pengulangan sampai fase pelarut terlihat jernih sebagai indikator pemisahan yang optimal. Selanjutnya, fraksi etil asetat diuapkan dengan rotary evaporator hingga diperoleh fraksi kental etil asetat.

Ekstrak daun sirih hutan yang digunakan pada proses fraksinasi sebanyak 100 gram dan diperoleh hasil fraksi etil asetat daun sirih hutan sebanyak 2,3 gram. Rendemen fraksi dihitung dengan membandingkan jumlah fraksi yang diperoleh dengan ekstrak yang digunakan sehingga didapat persentase rendemen fraksi etil asetat adalah 2,3% (Lampiran 3.a.). Setelah fraksi kental etil asetat didapatkan, maka selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas diuretik.

Sebanyak 25 ekor tikus putih jantan digunakan sebagai hewan uji dalam penelitian ini. Tikus diaklimatisasi selama 7 hari sebelum pengujian untuk menyesuaikan kondisi hewan dengan lingkungan yang baru. Hasil aklimatisasi menunjukkan seluruh hewan berada dalam kondisi sehat dan stabil secara fisiologis yang ditunjukkan oleh perubahan berat badan yang tidak melebihi 10% selama periode aklimatisasi. Tikus dibagi ke dalam lima kelompok perlakuan, yaitu kontrol normal, kontrol pembanding, serta kelompok fraksi dengan dosis 25 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, dan 100 mg/kgBB. Sebelum perlakuan, tikus dipuaskan selama 18 jam namun tetap diberikan air minum. Selanjutnya tikus diberikan larutan NaCl fisiologis 0,9% secara oral dengan dosis 15 mL/kgBB, 30 menit sebelum pengujian. Pemberian NaCl bertujuan untuk memberikan beban air dan garam yang seragam pada hewan uji (64).

Pada kelompok I (kontrol normal) diberikan suspensi Na CMC 0,5%, sedangkan kelompok II (kontrol pembanding) diberikan furosemid dengan dosis 3,6 mg/kgBB. Furosemid dipilih sebagai kontrol pembanding karena merupakan diuretik kuat dengan onset kerja yang cepat yaitu sekitar 30-60 menit setelah pemberian secara peroral, serta mencapai efek diuretik maksimal dalam rentang

waktu 1-2 jam (71). Furosemid bekerja dengan menghambat proses reabsorpsi natrium dan klorida pada segmen asenden tebal ansa Henle di tubulus ginjal. Segmen ini memiliki kemampuan reabsorpsi NaCl yang tinggi sehingga penghambatan tersebut menyebabkan efek diuretik furosemid lebih kuat dibandingkan dengan diuretik lainnya (1). Pada kelompok III, IV, dan V masing-masing diberikan fraksi daun sirih dengan variasi dosis 25 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, dan 100 mg/kgBB. Setelah pemberian sediaan uji, tikus ditempatkan dalam kandang metabolik. Selanjutnya, volume urin diukur setiap jam selama 5 jam menggunakan gelas ukur dan *disposable syringe*. Urin total yang terkumpul kemudian dianalisis untuk menentukan pH urin serta kadar natrium dan kalium pada urin.

4.1 Pengaruh Pemberian Variasi Dosis Fraksi Etil Asetat Daun sirih hutan (*Piper aduncum L.*) terhadap Volume Urin

Data hasil pengukuran volume urin total selama 5 jam pengamatan dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 4. 1 Hasil Rata-rata Volume Urin Total 5 Jam

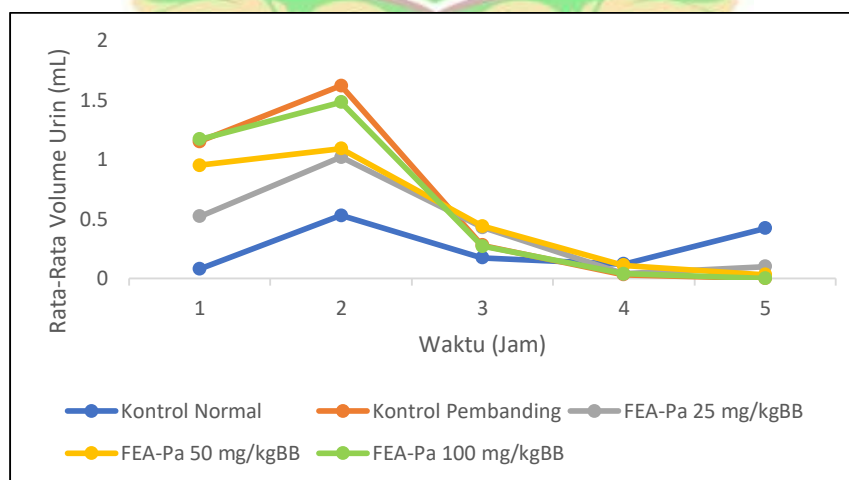
Kelompok	Volume Urin Total (mL) ± SD
Kontrol Normal (Na CMC 0,5%)	1,32 ± 0,09 ^a
Kontrol Pembanding (Furosemid)	3,08 ± 0,07 ^b
FEA-Pa Dosis 25 mg/kgBB	2,05 ± 0,20 ^c
FEA-Pa Dosis 50 mg/kgBB	2,62 ± 0,13 ^d
FEA-Pa Dosis 100 mg/kgBB	2,97 ± 0,18 ^d

Keterangan: (FEA-Pa): Fraksi Etil Asetat *P. aduncum*, (*) hasil uji ANOVA satu arah ($p < 0,05$), (^{a b c d}): data dengan superscript yang berbeda menunjukkan perbedaan signifikan hasil uji lanjut Duncan ($p < 0,05$).

Berdasarkan Tabel 4.1 volume urin total selama 5 jam pengamatan dengan urutan dari yang tertinggi ke yang terendah sebagai berikut: kelompok kontrol pembanding yang menerima furosemid menghasilkan volume urin tertinggi sebesar 3,08 mL, diikuti oleh kelompok yang menerima fraksi daun sirih dosis 100 mg/kgBB sebesar 2,97 mL, dosis 50 mg/kgBB sebesar 2,62 mL, dosis 25 mg/kgBB sebesar 2,05 mL, dan kelompok kontrol normal (Na CMC 0,5 %) dengan volume urin terendah sebesar 1,32 mL. Produksi urin normal pada tikus berkisar 13-23 mL/24 jam (72). Kelompok kontrol negatif yang diberikan suspensi Na-CMC

menunjukkan volume urin paling rendah karena tidak mengandung zat aktif sehingga tidak memengaruhi respons diuretik. Sementara itu furosemid sebagai kontrol positif menghasilkan ekskresi urin paling tinggi yang sesuai dengan karakteristiknya sebagai diuretik kuat. Pada kelompok yang menerima fraksi etil asetat daun sirih hutan terdapat peningkatan volume urin yang diikuti kenaikan dosis yang menunjukkan adanya respons dosis terhadap aktivitas diuretik fraksi tersebut.

Pada pengujian diuretik sebelumnya yaitu pada tingkat ekstrak, volume urin yang dihasilkan pada dosis 25 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, dan 100 mg/kgBB berturut-turut adalah 1,11 mL, 1,67 mL, dan 2,23 mL (10). Pada penelitian ini, fraksi etil asetat menunjukkan respons diuretik yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak, dimana volume urin tertinggi dicapai pada dosis 100 mg/kgBB sebesar 2,97 mL. Hal ini dikarenakan fraksinasi etil asetat mampu memperkaya senyawa bioaktif tertentu, terutama flavonoid dan polifenol sehingga konsentrasi zat yang berperan dalam efek diuretik menjadi lebih besar dibandingkan ekstrak (73). Flavonoid diketahui dapat meningkatkan filtrasi glomerulus dan menghambat reabsorpsi natrium, sehingga memacu peningkatan ekskresi urin (11). Berdasarkan laporan Insanu *et al.* kadar flavonoid total yang terkandung dalam ekstrak etanol daun sirih hutan adalah sebesar 8,3 mg QE/100 mg ekstrak (19). Sedangkan kadar flavonoid total pada fraksi etil asetat daun sirih hutan dilaporkan sebesar 139,4 mg QE/g fraksi (20).



Gambar 4.1 Grafik Rata-rata Volume Urin Tiap Jam

Pengamatan volume urin setiap jam selama 5 jam dilakukan untuk mengevaluasi profil waktu efek diuretik yang meliputi onset kerja, efek puncak, serta durasi aktivitas zat uji. Berdasarkan Gambar 4.2 pada kelompok fraksi dosis 25 mg/kgBB pada jam pertama menunjukkan volume urin yang relatif rendah dan mendekati kelompok kontrol normal. Sebaliknya, kelompok kontrol pembanding serta fraksi dosis 50 mg/kgBB dan 100 mg/kgBB telah menunjukkan peningkatan volume urin sejak jam pertama dan mencapai nilai tertinggi pada jam kedua pengamatan, kemudian menurun secara bertahap hingga jam kelima. Pola ini menunjukkan bahwa efek diuretik baik dari furosemid maupun fraksi etil asetat memiliki waktu onset yang cepat dengan efek maksimal pada jam ke-2 setelah pemberian. Furosemid yang diberikan secara oral diketahui memiliki onset kerja sekitar 30-60 menit dan mencapai efek diuretik maksimum dalam rentang 1-2 jam pertama sehingga temuan puncak volume urin pada jam kedua dalam penelitian ini sejalan dengan literatur (1).

Analisis statistik menggunakan uji *One Way* ANOVA menunjukkan adanya perbedaan rata-rata volume urin total yang signifikan antar kelompok perlakuan fraksi etil asetat daun sirih hutan ($p < 0,05$). Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian fraksi etil asetat berpengaruh secara signifikan terhadap peningkatan volume urin pada hewan uji. Uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa kelompok kontrol normal berada pada subset yang berbeda dengan seluruh kelompok fraksi dan kontrol pembanding, sedangkan kelompok fraksi dosis 100 mg/kgBB berada pada subset yang sama dengan kelompok kontrol pembanding. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat dosis 100 mg/kgBB memiliki efektivitas diuretik yang sebanding dengan furosemid (Lampiran 3, Tabel 10).

Tabel 4. 2 Hasil Aksi Diuretik dan Aktivitas Diuretik

Kelompok	Aksi diuretik	Aktivitas diuretik
Kontrol Normal	1,00	-
Kontrol Pembanding	2,33	1,00
FEA-Pa Dosis 25 mg/kgBB	1,56	0,67
FEA-Pa Dosis 50 mg/kgBB	1,99	0,87
FEA-Pa Dosis 100 mg/kgBB	2,25	0,98

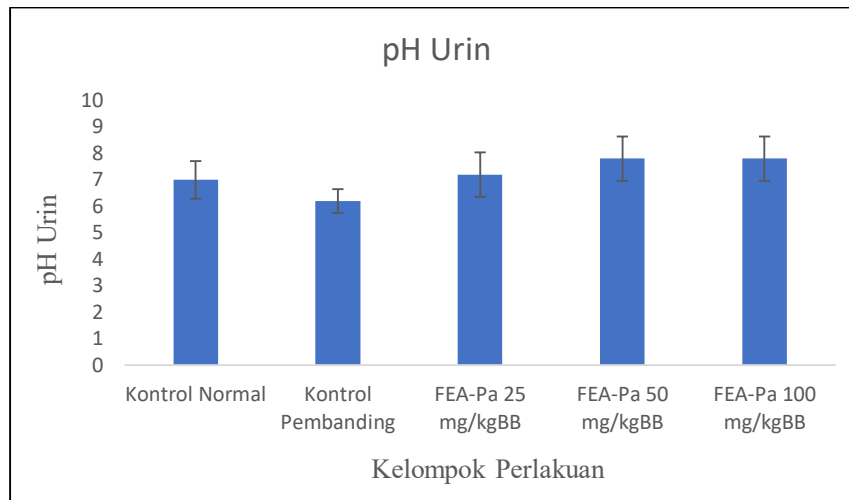
Keterangan: (FEA-Pa): Fraksi Etil Asetat *P. aduncum*

Aksi diuretik didapatkan dengan membandingkan rata-rata volume urin kelompok fraksi terhadap kelompok kontrol normal, sedangkan aktivitas diuretik diperoleh dari perbandingan antara aksi diuretik kelompok fraksi dengan aksi diuretik kelompok kontrol pembanding. Berdasarkan klasifikasi aktivitas diuretik menurut Gujral, aktivitas diuretik dengan nilai $>1,5$ dikategorikan sebagai aktivitas diuretik kuat, nilai $1-1,5$ sebagai aktivitas diuretik sedang, nilai $0,72-0,99$ sebagai aktivitas diuretik ringan, dan nilai $<0,72$ menunjukkan belum adanya aktivitas diuretik (64).

Berdasarkan hasil aktivitas diuretik pada Tabel 4.3 kelompok fraksi dengan dosis 25 mg/kgBB memiliki nilai aktivitas diuretik sebesar $0,67$ yang berarti belum menunjukkan aktivitas diuretik. Sementara itu kelompok fraksi dengan dosis 50 mg/kgBB dan 100 mg/kgBB masing-masing memiliki nilai aktivitas diuretik sebesar $0,87$ dan $0,98$. Berdasarkan klasifikasi Gujral, kedua nilai tersebut termasuk ke dalam kategori aktivitas diuretik ringan. Meskipun demikian, fraksi dengan dosis 100 mg/kgBB menunjukkan aktivitas diuretik tertinggi dengan nilai aktivitas diuretiknya mendekati kelompok kontrol pembanding yaitu 1 , sehingga dosis ini dapat dianggap sebagai dosis yang paling efektif dan menunjukkan aktivitas yang sebanding dengan kelompok kontrol pembanding.

Jika dibandingkan dengan penelitian pada ekstrak etanol daun sirih hutan, aktivitas diuretik fraksi etil asetat tidak menunjukkan peningkatan yang jauh lebih tinggi dalam skala Gujral. Pada ekstrak, dosis 100 mg/kgBB dilaporkan memiliki aktivitas diuretik ringan ($0,95$), sedangkan dosis 25 mg/kgBB dan 50 mg/kgBB belum menunjukkan aktivitas diuretik. Hasil yang mirip juga terlihat pada fraksi etil asetat dimana dosis 50 mg/kgBB dan 100 mg/kgBB hanya menunjukkan aktivitas diuretik ringan. Hal ini dapat disebabkan oleh efek diuretik tanaman yang bersifat sinergis, sehingga pemisahan menjadi fraksi tertentu dapat menghilangkan kontribusi metabolit lain yang mendukung efek diuretik secara keseluruhan (74). Fenomena serupa dilaporkan pada tanaman *Solidago canadensis* L. dimana pemberian fraksi menunjukkan aktivitas diuretik yang tidak lebih tinggi dibandingkan ekstrak utuh, mengindikasikan adanya efek sinergis antar metabolit (75).

4.2 Pengaruh Pemberian Variasi Dosis Fraksi Etil Asetat Daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) terhadap pH Urin



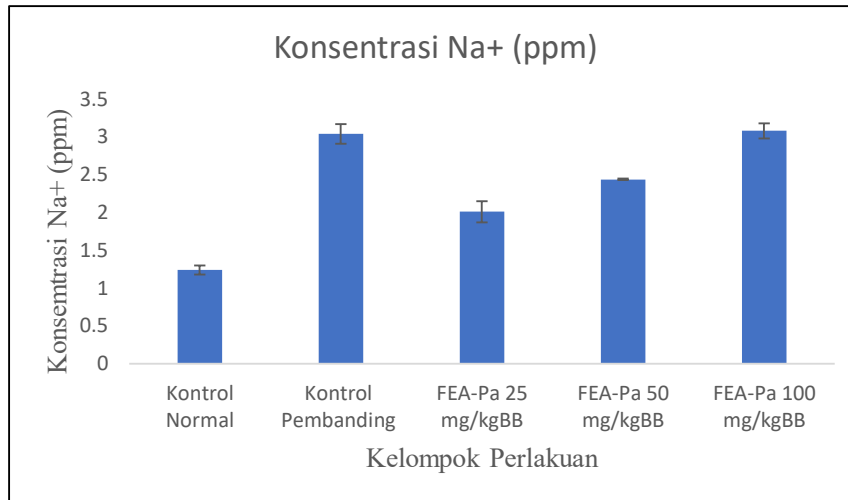
Gambar 4.2 Grafik pH Urin

Nilai pH urin ditentukan oleh pengaturan asam-basa di ginjal. Peningkatan ekskresi ion bikarbonat (HCO_3^-) ke dalam urin akan mengarah pada kondisi urin yang bersifat basa, sedangkan peningkatan ekskresi ion hidrogen (H^+) akan menyebabkan urin menjadi lebih asam (76). Berdasarkan Tabel 4.4, rata-rata pH urin semua kelompok berada pada kisaran 6,2-7,8 dan rentang pH normal untuk tikus yaitu 5,0-7,0 (72). Hasil uji statistik menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan pada pH urin antar kelompok dengan nilai signifikansi 0,230 ($p > 0,05$) (Lampiran 3, Tabel 12). Pada pengujian diuretik tingkat ekstrak juga dilaporkan bahwa pemberian ekstrak daun sirih hutan tidak mempengaruhi pH urin secara signifikan (10).

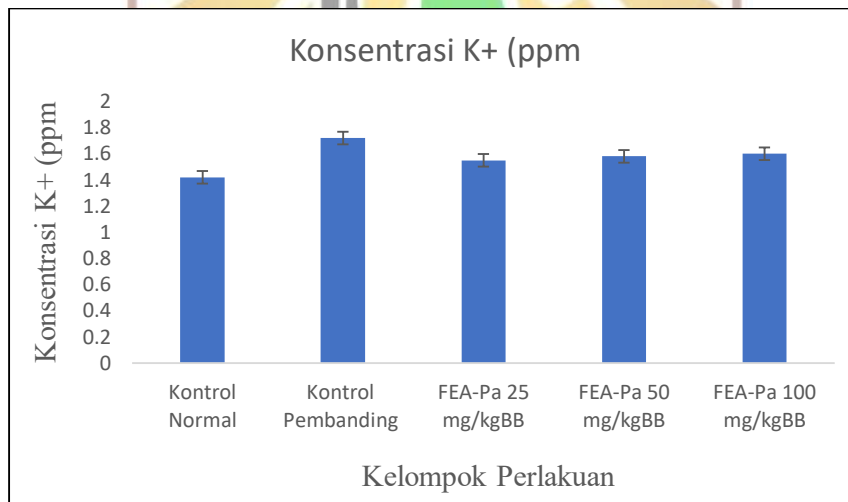
Pada kelompok fraksi etil asetat, pemberian fraksi etil asetat daun sirih hutan menunjukkan adanya pengaruh terhadap fungsi ginjal secara fisiologis yang ditandai dengan peningkatan diuresis, namun keseimbangan asam-basa urin tetap terjaga. Perubahan pH urin yang diamati pada kelompok fraksi etil asetat diduga merupakan respons fisiologis ginjal terhadap peningkatan produksi urin akibat efek diuretik. Peningkatan ekskresi cairan dapat memengaruhi komposisi urin, namun karena tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan secara statistik, hal tersebut

mengindikasikan bahwa mekanisme pengaturan keseimbangan asam-basa tubuh masih berlangsung normal dan tidak mengalami gangguan yang bermakna.

4.3 Pengaruh Pemberian Variasi Dosis Fraksi Etil Asetat Daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) terhadap Kadar Natrium dan Kalium



Gambar 4.3 Grafik Konsentrasi Natrium Urin



Gambar 4.4 Grafik Konsentrasi Kalium Urin

Pengukuran konsentrasi natrium dan kalium urin dilakukan untuk menilai pengaruh fraksi etil asetat daun sirih hutan terhadap ekskresi elektrolit sebagai indikator aktivitas diuretik. Secara fisiologis, diuresis terjadi akibat penghambatan

reabsorpsi natrium di tubulus ginjal, sehingga natrium tertahan di lumen tubulus dan menarik air secara osmotik, yang selanjutnya meningkatkan volume urin (77). Oleh karena itu, peningkatan ekskresi natrium merupakan parameter utama dalam penilaian efek diuretik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi natrium tertinggi terdapat pada kelompok fraksi dengan dosis 100 mg/kgBB yang diikuti oleh kelompok pembanding, fraksi dosis 50 mg/kgBB, fraksi dosis 25 mg/kgBB, dan terakhir kelompok normal. Hal ini mengindikasikan bahwa fraksi etil asetat mampu meningkatkan ekskresi natrium melalui penghambatan reabsorpsi natrium di ginjal. Mekanisme ini sejalan dengan literatur yang menyebutkan bahwa peningkatan volume urin umumnya diikuti oleh peningkatan ekskresi natrium sebagai ion utama yang menentukan pergerakan air di ginjal (78).

Konsentrasi kalium urin pada kelompok fraksi juga mengalami peningkatan dibandingkan kontrol normal meskipun peningkatannya lebih kecil dibandingkan natrium. Peningkatan ekskresi kalium dalam urin umumnya merupakan efek sekunder yang terjadi selama proses diuresis. Kondisi ini dipengaruhi oleh meningkatnya aliran filtrat serta perubahan gradien ion di bagian tubulus distal ginjal. Ketika natrium yang mencapai segmen distal meningkat (natriuresis), mekanisme pertukaran ion natrium-kalium pada sel tubulus akan mendorong keluarnya kalium ke dalam urin (79). Meskipun demikian, tubuh tetap berupaya menjaga keseimbangan kalium, sehingga peningkatan ekskresinya biasanya tidak sebesar peningkatan ekskresi natrium.

Selanjutnya dihitung rasio natrium terhadap kalium (Na^+/K^+) untuk menilai aktivitas natriuretik. Aktivitas natriuretik tertinggi diperoleh pada kelompok dosis 100 mg/kgBB, kemudian diikuti oleh kelompok pembanding, dosis 50 mg/kgBB, dosis 25 mg/kgBB, dan kelompok normal, dengan nilai rasio masing-masing sebesar 1,90; 1,76; 1,54; 1,30; dan 0,87. Rasio >1 menunjukkan adanya efek natriuretik, rasio >2 menunjukkan efek natriuretik yang jelas, dan rasio >10 menunjukkan efek penghematan kalium (*potassium-sparing effect*) (80). Berdasarkan nilai rasio Na^+/K^+ yang diperoleh, fraksi etil asetat daun sirih hutan menunjukkan adanya aktivitas natriuretik dengan nilai >1 pada semua kelompok fraksi, dimana efek natriuretik tertinggi terlihat pada dosis 100 mg/kgBB dan diikuti oleh dosis 50 mg/kgBB serta 25 mg/kgBB.

Pada laporan pengujian terdahulu, pemberian ekstrak daun sirih hutan pada dosis 25, 50, dan 100 mg/kgBB menghasilkan ekskresi natrium pada kisaran 1,78-2,83. Nilai tersebut tidak menunjukkan perbedaan yang jauh dibandingkan dengan kelompok fraksi etil asetat yang memiliki kisaran ekskresi natrium sebesar 2,01-3,08. Meskipun fraksi etil asetat memiliki kadar flavonoid total yang lebih tinggi, peningkatan tersebut tidak selalu diikuti oleh peningkatan ekskresi natrium yang jauh lebih besar. Hal ini disebabkan karena efek natriuretik flavonoid tidak hanya ditentukan oleh jumlah senyawa tetapi juga oleh jenis flavonoid serta adanya interaksi sinergis dengan senyawa lain dalam ekstrak dan fraksi. Selain itu, mekanisme homeostasis ginjal berperan membatasi ekskresi natrium agar keseimbangan elektrolit tetap terjaga, sehingga peningkatan ekskresi natrium tetap berada dalam batas fisiologis meskipun kandungan senyawa aktif lebih tinggi (81).

Hasil uji statistik menunjukkan adanya perbedaan konsentrasi natrium dan kalium yang bermakna antar kelompok perlakuan dengan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$) (Lampiran 3, Tabel 15). Uji lanjut Duncan pada konsentrasi natrium menunjukkan bahwa kontrol normal berbeda signifikan dengan kelompok kontrol pembanding serta seluruh kelompok fraksi. Selain itu, kelompok fraksi dosis 100 mg/kgBB tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol pembanding (Lampiran 3, Tabel 16). Namun uji lanjut Duncan pada konsentrasi kalium menunjukkan kelompok dosis 1, 2, dan 3 berada pada subset yang sama, sehingga tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna satu sama lain. Hal ini mengindikasikan bahwa peningkatan dosis tidak memberikan peningkatan efek ekskresi kalium yang signifikan secara statistik, sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian fraksi etil asetat daun sirih hutan memberikan pengaruh yang nyata terhadap peningkatan konsentrasi natrium dan kalium urin.

Penelitian ini masih memiliki beberapa keterbatasan yang perlu diperhatikan dalam interpretasi hasil. Pengamatan terhadap parameter yang terbatas menyebabkan hasil yang diperoleh belum sepenuhnya menggambarkan efek diuretik secara menyeluruh. Selain itu, mekanisme kerja serta senyawa aktif yang berperan belum dianalisis secara mendalam dalam penelitian ini, sehingga diperlukan penelitian lanjutan untuk memperkuat hasil yang diperoleh.