

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Determinasi Bahan dan Penyiapan Bahan Uji

Determinasi perlu dilakukan untuk memastikan bahwa tumbuhan yang akan digunakan benar merupakan tumbuhan sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L. Rendle) dan menghindari terjadinya kesalahan pengambilan sampel. Determinasi dilakukan di Herbarium Jatinangor, Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Jurusan Biologi FMIPA UNPAD. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel tersebut dinyatakan sebagai *Cymbopogon nardus* L. Rendle. dengan nama umum sereh wangi yang termasuk suku Poaceae (**Lampiran 1**).

Akar sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L. Rendle) yang digunakan dalam penelitian ini didapat dari Kampung Cikancung, Desa Mekar Hurip, Kabupaten Garut, Jawa Barat. Akar sereh wangi segar terlebih dahulu dibersihkan dibawah air mengalir untuk menghilangkan tanah yang masih melekat pada akar, kemudian akar dijemur dibawah sinar matahari selama tiga hari hingga kadar air berkurang hingga tersisa 10%. Setelah akar sereh kering, lalu akar sereh wangi dilakukan pengecilan ukuran dengan dirajang.

Sebelum dilakukan ekstraksi secara maserasi, simplisia akar sereh wangi sebanyak 1 kg di blender dengan tujuan memperkecil ukuran akar sereh wangi sehingga memperluas permukaan yang akan bersentuhan dengan pelarut dan akan masuk ke dalam sel-sel untuk kemudian terjadi perpindahan massa zat aktif dari dalam buah ke luar atau ke dalam pelarut.

Pelarut yang digunakan adalah etanol 70% karena merupakan larutan universal yang dapat melarutkan senyawa bersifat polar, semi polar, dan non polar. Seluruh akar sereh wangi yang telah di blender kemudian dimaserasi dengan etanol 70%. Maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam pada hari berikutnya pelarut diganti sambil sesekali dilakukan pengadukan, untuk mencegah terjadinya kejenuhan dan pada hari berikutnya pelarut diganti setiap hari. maserator ditutup, dibiarkan di tempat sejuk, terlindung dari cahaya. Setelah tiga hari kemudian maserat disaring sehingga diperoleh ampas dan filtrate (ekstrak cair) sehingga diperoleh seluruh. selanjutnya dilakukan pemekatan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 40-50°C. Proses evaporasi dilakukan selama 4 hari hingga ekstrak agar pekat. Lalu dilanjutkan dengan pemekatan dalam penangas air sampai memperoleh ekstrak pekat etanol akar sereh wangi sebanyak 118 g sehingga rendemen yang didapat adalah 11,8% (**Lampiran 2**). Selanjutnya ekstrak pekat akar sereh wangi disimpan didalam wadah kedap udara dan disimpan di dalam lemari pendingin agar tidak mudah rusak.

5.2 Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan untuk mengetahui metabolit sekunder yang terkandung dalam simplisia akar sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L. Rendle) dan ekstrak etanol akar sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L. Rendle). Hasil penapisan fitokimia dari simplisia dan ekstrak etanol akar sereh wangi dapat dilihat pada **Tabel V.1**.

Tabel V.1. Hasil penapisan fitokimia dari simplisia dan ekstrak etanol akar serih wangi (*Cymbopogon nardus* L. Rendle)

Golongan Senyawa	Identifikasi	
	Simplisia	Ekstrak
Alkaloid	√	√
Flavonoid	√	√
Saponin	-	-
Tanin	√	√
Kuinon	√	√
Polifenolat	√	√
Steroid dan Triterpenoid	-	-
Monoterpen dan Sesquiterpen	√	√

Keterangan :

(√) = Terdeteksi

(-) = Tidak Terdeteksi

Dari data hasil penapisan fitokimia di atas menunjukkan bahwa pada simplisia dan ekstrak etanol akar serih wangi mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, kuinon, polifenolat, monoterpen/sesquiterpen. Hal ini menunjukkan bahwa ekstraksi dengan metode maserasi yang menggunakan pelarut etanol tidak menyebabkan kerusakan pada senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam simplisia sehingga hasil penapisan fitokimia antara simplisia dan ekstrak tetap sama. Dalam pengujian diuretik akar serih wangi yang dapat menimbulkan diuretik adalah senyawa flavonoid serta yang dapat menjadi senyawa penurun hipertensi adalah senyawa alkaloid.

5.3 Penetapan Kadar Air

Penetapan kadar air pada penelitian ini dilakukan pada simplisia akar serih wangi dengan menggunakan metode destilasi azeotrop. Metode destilasi digunakan untuk menetapkan kadar air bahan pangan yang mudah menguap, memiliki kandungan air tinggi, dan mudah teroksidasi.

Azeotrop adalah campuran dari dua atau lebih komponen yang memiliki titik didih konstan. Azeotrop dapat didestilasi dengan menggunakan tambahan pelarut tertentu, misalnya penambahan benzene atau toluene untuk memisahkan air. Hasil

pengamatan menunjukkan kadar air dalam simplisia akar sereh wangi adalah 1,7 mL, artinya dalam 20 g simplisia terdapat 1,7 mL air. Setelah dilakukan perhitungan, simplisia akar sereh wangi yang diuji memiliki kadar air 8,5 % (**Lampiran 3**). Menurut persyaratan obat tradisional pengeringan dilakukan sampai kadar air tidak lebih dari 10%.

5.4 Uji Aktivitas Diuretik

Hewan coba pada penelitian ini memiliki berat badan antara 130-200 g, umur \pm 2 bulan, diberi makanan dan minuman yang sama dan dalam kondisi sehat, dikarenakan untuk memperkecil variabilitas antar hewan yang digunakan harus mempunyai keseragaman. Pengelompokan hewan uji dilakukan secara acak, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Pada penelitian ini hewan yang digunakan adalah tikus jantan galur wistar karena tikus merupakan hewan dengan model yang sesuai untuk evaluasi obat-obat yang dapat mempengaruhi ginjal dan digunakan tikus jantan karena memiliki kondisi biologis yang lebih stabil bila dibandingkan dengan tikus betina.

Hewan uji dari setiap kelompok harus diadaptasikan terlebih dahulu dengan kondisi laboratorium selama 7 hari dan diadaptasikan selama 1 jam sebelum perlakuan di dalam kandang metabolisme. Hal ini dilakukan untuk menghindari stress pada saat perlakuan sehingga tidak mempengaruhi hasil dari uji efek diuretiknya. Sebelum hewan uji mengalami perlakuan, pada hari terakhir hewan dipuasakan terlebih dahulu selama 12-18 jam dengan hanya diberi minum (akuades). Tujuan dipuasakan, agar kondisi hewan uji sama dan mengurangi pengaruh makanan yang dikonsumsi terhadap absorpsi sampel yang diberikan. Sesudah dipuasakan, semua

tikus yang akan diuji merupakan perwakilan dari setiap kelompok dan setiap harinya bobot tikus ditimbang.

Uji efek diuretik pada penelitian ini dimulai dengan pemberian air hangat sebanyak 15 mL/kg BB pada setiap perlakuan kelompok tikus. Pemberian air hangat pada hewan percobaan dimaksudkan sebagai induktor untuk memperjelas efek diuretik yang terjadi. Volume urin tikus tanpa pemberian sejumlah air sangat kecil yaitu 1 mL per jam (Nurhayati, 1980: 29). Berdasarkan pernyataan tersebut diduga volume urin tikus normal pun kurang dari 1 mL per jam. Disamping itu, kerja suatu diuretic tanpa pemberian asupan air ekstra dapat menyebabkan dehidrasi (Nurhayati, 1980: 29). Pemberian air hangat juga akan menyebabkan terjadinya vasodilatasi arterioler aferen. Apabila darah yang masuk ke glomerulus melalui arterioler aferen yang melebar meningkat maka tekanan darah kapiler glomerulus bertambah sehingga laju filtrasi glomerulus (LFG) meningkat (Sherwood, 2007: 565-567).

Pengujian dilakukan pada 5 kelompok tikus yang diberikan akuades sebagai kontrol, hidroklorotiazid sebagai pembanding dengan dosis 2,25 mg/kg BB dan ekstrak etanol akar sereh wangi dengan dosis 14,75 mg/kg BB, 33,2 mg/kg BB dan 62,5 mg/kg BB. Pemberian hidroklorotiazid sebagai pembanding, merupakan diuretik golongan tiazid yang menjadi pilihan pertama untuk hipertensi ringan sampai sedang. Kelompok obat diuretik tiazid merupakan senyawa sulfoamil yang bekerja dibagian tubuli distal, dan efek diuretiknya ringan dari diuretik *Loop* tetapi bertahan lebih lama, 6-12 jam. Daya hipotensifnya lebih kuat (pada jangka panjang) (Tjay dan Rahardja, 2002: 519-524). Setelah semua kelompok diberikan sediaan secara peroral, tikus dimasukkan ke dalam alat uji diuretik yaitu kandang metabolisme (**Lampiran 4**).

Masing-masing kandang berisikan 1 ekor tikus. Kandang metabolisme bertujuan untuk dapat memisahkan antara urin yang akan diukur dengan kotoran tikus sehingga kotoran tikus tidak mengganggu pengukuran volume urin tikus tersebut. Kemudian dilihat volume urin yang ditampung selang waktu satu sampai enam jam dan pada jam ke 24. Enam jam setelah perlakuan, semua tikus dilihat volume urin kumulatif selama 6 jam dan pada jam ke 24, persen potensi diuretik dengan menghitung volume total urin terhadap pemberian air hangat 15 mL/kg BB yang diberikan secara peroral.

Pengukuran volume urin kumulatif dimaksudkan untuk melihat ada tidaknya perbedaan volume urin kumulatif kontrol dengan pembanding. Hasil pengukuran volume urin dapat dilihat pada **Tabel V.2.** dan pada **Tabel V.3.**

Tabel V.2. Hasil Volume Urin Kumulatif Pada Jam ke-6

Kelompok	Rata-rata Volume Urin Kumulatif (mL) ± Standar Deviasi	P
Kontrol n = 5	0,88 ± 0,87	-
EEASW dosis 0,00295 g/200 g BB n = 5	1,56 ± 0,83	0,657
EEASW dosis 0,0064 g/200 g BB n = 5	0,94 ± 1,29	1,000
EEASW dosis 0,0125 g/200 g BB n = 5	2,58 ± 1,35	0,070
Hidroklorotiazid n = 5	2,06 ± 1,53	0,172

Keterangan:

P = signifikansi perbedaan volume urin dibandingkan kelompok kontrol

* = perbedaan volume urin signifikan terhadap kontrol (P<0,05)

Tabel V.3. Hasil Volume Urin Kumulatif Pada Jam ke-24

Kelompok	Rata-rata Volume Urin Kumulatif (mL) ± Standar Deviasi	P
Kontrol n = 5	1,70 ± 1,28	-
EEASW dosis 0,00295 g/200 g BB n = 5	5,18 ± 2,98	0,271
EEASW dosis 0,0064 g/200 g BB n = 5	4,98 ± 2,81	0,313
EEASW dosis 0,0125 g/200 g BB n = 5	7,36 ± 5,14*	0,043
Hidroklorotiazid n = 5	5,62 ± 3,65*	0,054

Keterangan:

P = signifikansi perbedaan volume urin dibandingkan kelompok kontrol

* = perbedaan volume urin signifikan terhadap kontrol (P<0,05)

EEASW = Ekstrak Etanol Akar Sereh Wangi

Validasi metode kelompok pembanding dengan kontrol dapat dilihat pada nilai signifikan perbedaan volume urin. Nilai signifikan didapat dari uji analisis data dengan menggunakan uji statistika analisis variansi (ANOVA) dengan selang waktu kepercayaan 95% dengan menggunakan perangkat lunak *SPSS for Statistics 20*. Pada perlakuan tersebut menunjukkan bahwa kelompok pembanding hidroklorotiazid dengan kelompok kontrol tidak berbeda bermakna pada pengamatan jam ke-6 (**Lampiran 5**).

Volume urin kumulatif kelompok uji terhadap kelompok kontrol dapat dilihat pada Lampiran 6, perlakuan tersebut menunjukkan nilai volume urin bahwa kelompok uji terhadap kontrol tidak berbeda bermakna secara statistik dan tidak menghasilkan efek diuretik secara signifikan dikarenakan beberapa faktor yang mempengaruhi. Namun secara grafik, pada ekstrak akar sereh wangi dosis 62,5 mg/kg BB menunjukkan hasil yang signifikan dan menunjukkan volume urin yang lebih dibandingkan dengan volume urin kontrol pada jam pengamatan jam ke-6.

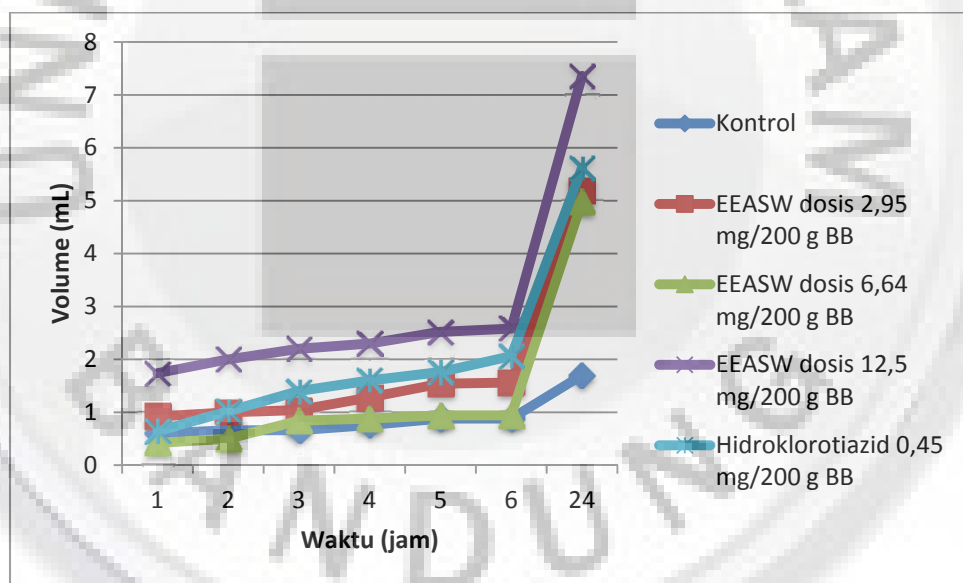
Tabel V.4. Data rerata volume urin kumulatif tiap waktu pengamatan

Perlakuan	Volume urin (mL) pada jam ke-						
	1	2	3	4	5	6	24
Kontrol	0,60	0,66	0,66	0,76	0,88	0,88	1,7
EEASW dosis 2,95 mg/200 g BB	0,92	1	1,04	1,28	1,54	1,56	5,18
EEASW dosis 6,64 mg/200 g BB	0,42	0,50	0,84	0,88	0,94	0,94	4,98
EEASW dosis 12,5 mg/200 g BB	1,74	2	2,20	2,30	2,52	2,58	7,36
Hidroklorotiazid 0,45 mg/200 g BB	0,64	1,02	1,40	1,60	1,76	2,06	5,62

Keterangan :

EEASW = Ekstrak Etanol Akar Sereh Wangi

Untuk mempermudah pengamatan, rerata hasil urin kumulatif tiap waktu pengamatan pada masing-masing kelompok rerata dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar V.1. Grafik rerata volume urin kumulatif (mL) tiap waktu pengamatan

Pada hasil grafik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara kelompok uji terhadap kelompok kontrol. Namun untuk mengetahui dan menganalisa apakah ada perbedaan yang nyata maka dilakukan uji ANOVA (*Analisis Of Varians*) pada setiap kelompok.

Sedangkan pada pengamatan jam ke-24 nilai volume urin pembanding terhadap kontrol menunjukkan nilai yang signifikan yaitu $p = 0,054$ sehingga perlakuan tersebut menunjukkan bahwa kelompok pembanding hidroklorotiazid dengan kelompok kontrol berbeda bermakna.

Pada kelompok uji EEASW 1 dosis 14,75 g/kg BB adalah 5,18 mL ($p = 0,271$), kelompok uji EEASW 2 dengan dosis 33,2 g/kg BB adalah 4,98 mL ($p = 0,313$), kelompok uji EEASW 3 dengan dosis 62,5 g/kg BB adalah 7,36 mL ($p = 0,043$) dapat dilihat pada Lampiran 6. Sedangkan volume urin kumulatif pada kelompok kontrol adalah 1,7 mL.

Nilai volume urin kumulatif kelompok uji terhadap kontrol di atas menunjukkan bahwa kelompok ekstrak dosis 3 dapat menghasilkan volume urin kumulatif yang paling besar dibandingkan kelompok ekstrak dosis 1, dosis 2 dan kelompok kontrol. Pada kelompok ekstrak dosis 3, menunjukkan nilai signifikan yaitu 0,043 ($p < 0,05$) terhadap kontrol dan dapat menimbulkan efek diuretik paling besar.

Faktor yang mempengaruhi hasil uji efek diuretik kemungkinan metode ekstraksi maserasi kurang dapat menarik senyawa flavonoid sehingga metode ekstraksi dapat diganti dengan metode infusa atau maserasi dengan campuran etanol-air sehingga senyawa flavonoid yang bersifat sebagai diuretik mudah larut dalam pelarut yang mempunyai kepolaran yang tinggi. Selain itu juga tidak diperhatikannya volume air minum yang dikonsumsi hewan uji selama pengujian sehingga tidak bisa memastikan ada tidaknya pengaruh kelebihan air selain sediaan uji yang diberikan.

Nilai volume urin kumulatif kelompok uji terhadap hidroklorotiazid pada jam ke-6 menunjukkan nilai $p = 0,251$ ($p > 0,05$) dimana hasil percobaan tidak berbeda bermakna, sehingga uji menimbulkan efek yang sama dengan pembanding

hidroklorotiazid. Sedangkan pada jam ke-24 menunjukkan $p = 0,745$ ($p > 0,05$) sehingga pada penelitian kali ini jika dilihat secara statistik kelompok uji menimbulkan efek yang tidak lebih baik dibandingkan kelompok pembanding hidroklorotiazid.

Potensi diuretiknya dapat ditentukan dengan menghitung persentase volume total urin selama enam jam dan 24 jam terhadap volume awal pemberian air hangat 15 mL/kg BB yang diberikan secara peroral. Hasil penelitian dapat dilihat sebagai berikut:

Tabel V.5. Hasil Persen Daya (Potensi) Diuretik

Kelompok	Persen Daya (Potensi) Diuretik ± Standar Deviasi	
	Jam ke-6	Jam ke-24
Kontrol	29,33% ± 0,87	56,67% ± 1,28
EEASW dosis 2,95 mg/200 g BB	52% ± 0,83	172,67% ± 2,98
EEASW dosis 6,64 mg/200 g BB	31,33% ± 1,29	166% ± 2,81
EEASW dosis 12,5 mg/200 g BB	86% ± 1,35	245,33% ± 5,14
Hidroklorotiazid	68,67% ± 1,53	187,33% ± 3,65

Keterangan :

EEASW = Ekstrak Etanol Akar Sereh Wangi

Berdasarkan data di atas menunjukkan bahwa persen potensi diuretik dari setiap kelompok yang dapat memberikan efek diuretik pada jam ke-6 adalah kelompok ekstrak dosis 3 karena menunjukkan nilai persen yang lebih besar dibandingkan kontrol dan juga hidroklorotiazid. Sedangkan pada jam ke-24 kelompok yang dapat menimbulkan efek diuretik adalah kelompok ekstrak 1, 2 dan 3, karena nilai persen lebih besar dibandingkan dengan kontrol. Nilai potensi diuretik yang baik adalah 80% dan ada kelompok yang mempunyai nilai persen dibawah 80% pada jam ke-6 sedangkan kelompok lain menunjukkan nilai persen lebih dari 80%. Hal tersebut dapat disebabkan oleh faktor lingkungan, salah satunya yaitu cuaca atau suhu ruang

yang dingin yang dapat menyebabkan suhu tubuh tikus lebih rendah, sehingga bisa meningkatkan urinasi.

Pada hasil identifikasi penapisan fitokimia menunjukkan ekstrak akar sereh wangi mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, kuinon, polifenolat, dan monoterpen atau seskuiterpen. Senyawa aktif yang berkhasiat sebagai *diuresis* adalah alkaloid. Dimana alkaloid bekerja langsung pada tubulus dengan cara meningkatkan ekskresi Na^+ dan Cl^- . Dengan meningkatnya ekskresi Na^+ juga akan meningkatkan ekskresi air dan menyebabkan volume urin bertambah (Nessa, 2013).

Menurut data statistik pada kelompok uji dosis 3 terhadap kelompok pembanding hidroklorotiazid terdapat perbedaan bermakna. Sehingga pada uji dosis 3 memiliki kekuatan efek diuretik yang lebih baik jika dibandingkan dengan hidroklorotiazid sebagai pembanding. Efek diuretik dari ekstrak akar sereh wangi lebih baik dibandingkan hidroklorotiazid dilihat dari volume urin kumulatif ekstrak akar sereh wangi yang lebih besar dibandingkan hidroklorotiazid. Dimana pada dosis 3 menunjukkan volume urin kumulatif selama 24 jam sebesar 7,36 mL sedangkan volume urin kumulatif hidroklorotiazid sebesar 5,62 mL.