

DIURETIC ACTIVITY TEST OF RED BETEL LEAF ETHANOL EXTRACT (PIPER CROCATUM RUIZ & PAV) AGAINST MALE WHITE RATS (RATTUS NOVERGICUS)

Rizka Hasmi Nasution¹, Jefri Naldi², Sri Handayani³, Efrita Lestari⁴

Fakultas Farmasi dan Kesehatan Umum, Institut Kesehatan Helvetia Medan

E-mail: rizkahasminasution@helvetia.ac.id¹, jefrinaldi@gmail.com²

Abstract: Background: According to the World Health Organization (WHO), the prevalence of hypertension in the world reached over 1.13 billion people in 2015, implying that one out of every three persons was diagnosed with hypertension. Flavonoids found in red betel leaves (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) serve as antifungals, diuretics, antihistamines, antihypertensives, insecticides, bactericidal, antiviral, and enzyme inhibitors. The study aimed to find the best dose of red betel leaves extract as a diuretic in male white rats.

The study was experimental laboratory. Alkaloids, flavonoids, saponins, tannins, and steroids/triterpenoids are among the phytochemicals tested. A total of 25 male white rats were separated into five groups. Red betel leaves extract was administered to groups 1, 2, and 3 at dosages of 250mg/kg, 350 mg/kg, and 650mg/kg, respectively. Group 4 received a 0.5% Na CMC suspension as a negative control, while Group 5 received a furosemide suspension as a positive control. The average urine volume at 1-6 hours and the buildup of urine were used to calculate the rat urine volume.

The results showed the accumulation of urine volume for 6 hours. The treatment group of red betel leaf ethanol extract at a dose of 250mg/kgBW obtained 0.57mL, a dose of 350mg/kgBW obtained 2.38mL, and a dose of 650mg/kgBW obtained 4.29mL, negative control (CMC 0.5%) obtained 0.2mL, positive control obtained 27.52mL.

The study concluded that red betel leaves extract has diuretic action and that the ethanol extract of red betel leaves at a dosage of 650 mg/kgBW is the most effective dose.

Keywords: Diuretics, red betel leaves (*Piper crocatum Ruiz & Pav*), Male White Rats (*Rattus norvegicus*).

PENDAHULUAN

Hipertensi merupakan salah satu penyebab terbesar morbiditas di dunia, sering disebut sebagai pembunuh diam-diam atau *silent killer*. Data *World Health Organization* (WHO) tahun 2015 menunjukkan bahwa prevalensi hipertensi di dunia mencapai sekitar 1,13 miliar individu, artinya 1 dari 3 orang di dunia terdiagnosis hipertensi. Jumlah penderita hipertensi diperkirakan akan terus meningkat mencapai 1,5 miliar individu pada tahun 2025 mendatang, dengan kematian mencapai 9,4 juta individu. Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2013 menghasilkan prevalensi hipertensi pada usia 18 tahun di Indonesia mencapai 25,8%, yang terdiagnosis oleh tenaga

kesehatan dan/atau memiliki riwayat minum obat hanya 9,5%, menunjukkan bahwa sebagian besar kasus hipertensi di masyarakat belum terdiagnosis dan terjangkau oleh tim pelayanan kesehatan (Adrian,2019).

Penanganan Hipertensi dapat dilakukan secara farmakologis dan nonfarmakologis. Pengobatan farmakologis adalah pengobatan hipertensi dengan menggunakan obat-obatan kimiawi, seperti Diuretik, Antagonis kalsium, penghambat Enzim konversi angiotensin (penghambat ACE), dan lain-lain, Nonfarmakologis seperti herbal (Depkes,2006). Adapun solusi pada pengobatan hipertensi yang alternatif dapat dilakukan secara alami (Nonfarmakologis) menggunakan bahan alami atau herbal yang mengandung senyawa bioaktif, yaitu senyawa yang mempunyai efek fisiologis dalam tubuh yang berpengaruh positif terhadap kesehatan manusia (Widyaningsih,2018).

Daun sirih merah secara empiris telah digunakan sebagai pengobatan alternatif, pengobatan tersebut kebanyakan diperoleh berdasarkan pengetahuan masyarakat turun-temurun. Senyawa antosianin dalam daun sirih merah mampu melancarkan peredaran darah dengan mengurangi viskositas darah.

kandungan asam ferulik juga berperan sebagai pengangkal radikal bebas dan bersifat diuretik. Kandungan kaempferol, luteolin, myricetin, quercetin yang ada pada daun sirih merah berperan sebagai zat pembentuk diuretik pada tubuh (Depkes,2006). Berdasarkan uji fitokimia ekstrak etanol daun sirih merah (*P. croatum*) mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, steroid, saponin, triterpenoid dan tanin (Widyaningsih,2018). Senyawa yang terkandung pada sirih merah (*Piper croatum* Ruiz & Pav) ini merupakan metabolit sekunder yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat (Ulfah,2017). Senyawa tanin yang memiliki efek diuretik yang dapat mengurangi jumlah air dalam plasma darah dengan membuangnya melalui urin (Arjani,2016). Tumbuhan yang mengandung flavonoid memiliki berbagai macam aktivitas seperti antifungi, diuretik, antihistamin, antihipertensi, insektisida, bakterisida, antivirus, dan menghambat kerja enzim. Mekanisme kerja flavanoid sebagai diuretik dengan cara meningkatkan laju kecepatan glomerulus dan menghambat reabsorpsi Na^+ dan Cl^- sehingga menyebabkan peningkatan Na^+ dan air dalam tubulus (Warouw,2020). Sedangkan pengujian farmakologi menunjukkan bahwa tanaman ini mempunyai aktivitas antiinflamasi, antimikroba, antifungi, antihiperglikemik, antiproliferasi, dan antioksidan (White,2020).

Penelitian yang sejalan dengan penelitian ini juga dilakukan oleh Tandi dkk, "Uji Potensi Nefropati Diabetes Daun Sirih Merah (*Piper croatum* Ruiz & Pav) pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*)". Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol daun sirih merah dosis 150 mg/kgBB merupakan dosis yang efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah dengan nilai rata-rata penurunan kadar glukosa darah 238,25 mg/dL, dan memberikan efek terhadap kreatinin dan ureum, dengan rata-rata yaitu dosis 350 mg/kgBB dengan nilai rerata kreatinin 0,64 mg/dL dan rerata ureum 39,68

mg/dL (White,2020).

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental laboratorium, penelitian eksperimental dimaksudkan untuk mengetahui pengaruh atau hubungan antara variabel bebas dengan variabel terikat. dalam penelitian ini yang termasuk variabel bebas adalah EEDSM. Sedangkan variabel terikat adalah aktivitas diuretik menggunakan hewan uji tikus putih jantan (*Rattus novergicus*)

Tempat dan Waktu Penelitian

Tempat penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmasi Institut Kesehatan Helvetia. Penelitian dilaksanakan setelah mendapat persetujuan dari komisi Etik Penelitian dari Fakultas Matematik dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Sumatera Utara. Penelitian ini dilakukan terhitung pada bulan Juli sampai September 2022.

Alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi alat-alat gelas laboratorium (seperti beaker glass, erlenmeyer dan sebagainya), blender, *rotary evaporator*, kertas saring, toples maserasi, alumunium foil, mortar dan stamper, oral sonde, spuit (ukuran 1 ml dan 3 ml), batang pengaduk, pipet tetes, penangas air, sarung tangan, spidol, kandang dan wadah penampungan urin.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah, adapun untuk bahan kimia yaitu kloroform, amonia, asam sulfat, methanol, etanol 96%, aquadest, asam asetat glasial dan untuk preaksi yang akan digunakan seperti besi (III) klorida, dragendrof, mayer, liberman buchard, serbuk Mg, amil alkohol. Simplisia daun sirih merah, tikus putih jantan dengan bobot 140-300gram. Furosemide , ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav), dan CMC 0,5%.

Sampel dan Hewan Uji

Daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) sebanyak 1 kg daun yang masih segar baik daun tua maupun muda yang diperoleh dari Provinsi Aceh, Kab. Simeulue, Kec. Simeulue Timur, Desa Suakbulu. Pengambilan sampel ini dilakukan secara *purposive sampling*, yaitu tanpa membandingkan dengan tumbuhan yang sama di daerah lain.

Hewan percobaan yang digunakan adalah tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) dengan berat badan 140-300gram dan usia rata-rata berumur 2-3 bulan.

Prosedur Penelitian

Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) dilakukan di Herbarium Madanense (MEDA) Universitas Sumatra Utara. Fakultas MIPA, untuk mengetahui identitas taksonominya.

Pembuatan Simplisia

Daun sirih merah yang digunakan dalam pembuatan simplisia disortasi basah untuk dipisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya, selanjutnya lakukan pencucian menggunakan air yang mengalir untuk menghilangkan tanah dan pengotor lain yang masih melekat pada bahan simplisia. Setelah itu dilakukan proses pengeringan diserbukan menggunakan *blender*. Kemudian serbuk disimpan dalam wadah tertutup rapat agar melindungi isi dari masuknya debu maupun partikel lain dan sampel siap untuk diekstraksi

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah 96% (*Piper crocatum* Ruiz & Pav)

Pembuatan ekstrak daun sirih merah sebanyak 267 gram dimaserasi dengan cara merendam serbuk menggunakan etanol 96% sebanyak 2000 mL. Rendaman serbuk daun sirih merah kemudian didiamkan selama lima hari sambil sekali-kali diaduk, lalu disimpan pada ruangan gelap, sampai dihasilkan residu dan filtrat. filtrat yang didapat kemudian disaring, menggunakan kertas saring, dan dituangkan kedalam botol gelap, sisa residu di tambahkan etanol 96% sebanyak 1000 mL didiamkan selama dua hari pada ruangan gelap, filtrat kedua kemudian disaring. Filtrat satu dan dua dicampurkan menjadi satu dalam wadah. Kemudian filtrat diuapkan dengan alat *evaporator* pada temperature $\pm 40^{\circ}\text{C}$ kemudian dikentalkan menggunakan waterbath sampai didapatkan ekstrak kental, dan dipindahkan dalam wadah yang sesuai.

Skrining Fitokimia

Uji skrining fitokimia ekstrak etanol daun sirih merah meliputi identifikasi senyawa golongan alkaloid, flavanoid, saponin, tanin, steroid/triterpenoid

Pembuatan Suspensi Bahan Uji

Pembuatan Suspensi CMC 0,5%

Pembuataan larutan CMC 0,5%. Sebanyak 500 mg CMC dengan cara dimasukan kedalam mortar. Aquadest dipanaskaan sebanyak 10 mL, masukan aquadest kedalam mortar yang berisi CMC 500 mg didiamkan selama kurang lebih 15 menit sampai CMC mengembang. Kemudian digerus cepat dan searah sampai homogen. Setelah itu suspensi CMC dipindahkan ke beaker glass 100 mL, volumenya dicukupkan dengan aquadest hingga 100 mL. Suspensi CMC 0,5% diberikan secara oral pada tikus putih jantan berdasarkan berat badan masing-masing tikus

Pembuatan Suspensi Furosemide

Menurut *Drug Information Handbook*, dosis penggunaan furosemide pada manusia dewasa adalah 20-80mg. Pada penelitian ini digunakan dosis furosemide yaitu 40mg. Menggunakan faktor konversi dari manusia (70 kg) ke tikus dengan berat standar 200gram ialah 0,018. Furosemide sebanyak 20 tablet digerus sampai halus, lalu ditimbang sesuai dengan yang dibutuhkan untuk dilarutkan dalam CMC 0,5%.

Uji Aktivitas Diuretik

Tikus yang digunakan sebanyak 25 ekor dibagi menjadi 5 kelompok secara acak, setiap kelompok terdiri dari 5 hewan uji. Sebelum dilakukan perlakuan hewan uji dipuasakan terlebih dahulu selama 12 jam namun tetap diberi air dengan tujuan agar kondisi elektrolit tikus tetap stabil, 2 jam sebelum dilakukan perlakuan, pemberian air pada tikus dihentikan. Lalu diberi tanda pada ekor untuk menghindari kesalahan pengambilan pada saat pengukuran dan perlakuan. Kemudian dilakukan penimbangan sebelum dilakukan perlakuan. Setelah itu tikus diberikan air hangat menggunakan sonde sebanyak 2 ml/200kgBB secara oral dan didiamkan selama 15 menit.

Tahap selanjutnya dilakukan pengukuran volume urin, hewan uji ditempatkan dalam kandang. Kemudian pengamatan dilakukan terhadap volume urin yang dikeluarkan pada jam ke-1, 2, 3, 4, 5, 6, volume urin yang diekskresikan dicatat setiap jam dan akumulasinya selama 6 jam sebagai urin total. Urin yang akan diukur volumenya diambil menggunakan spuit 1 mL. Penentuan efek diuretik dilakukan berdasarkan hasil pengukuran volume urin.

Teknik Analisis Data

Data-data yang diperoleh dari penelitian ini dianalisis menggunakan uji normalitas dengan metode *Shapiro-Wilk Test*. Jika hasil uji normalitasnya menunjukkan data normal dan memenuhi persyaratan maka dapat dilanjutkan dengan uji homogenitas dengan *Levene test* untuk mengetahui kehomogenan varian data-data yang diperoleh. Jika data terdistribusi normal dan homogen dilanjutkan dengan uji *one-way Analysis of Variance (ANOVA)* secara umum analisis ini dilakukan dengan analisis variansi satu arah dan berfungsi untuk mengetahui apakah tiap perlakuan berpengaruh pada hasil. Apabila uji normalitas dan uji homogenitas tidak memenuhi persyaratan maka dilakukan uji *non parametric (Kruskal Wallis)* Untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan data-data dari volume urin. Ketika terdapat perbedaan yang (bermakna) dikatakan signifikan apabila nilai (Probabilitas <0,05), proses perhitungan dilakukan dengan bantuan perangkat lunak (*software*) komputer program *Microsoft Excel ver. 2019* dan *Statistical product and service solution (SPSS) ver.26*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Determinasi Tanaman

Hasil identifikasi tumbuhan yang dilakukan di Herbarium Medanese Laboratorium Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Sumatera Utara menyatakan bahwa benar bahan uji yang telah digunakan adalah daun sirih merah termasuk famili *piperacea* dan spesies *piper crocatum* Ruiz and Pav.

Hasil Pembuatan EEDSM

Tabel 1. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun sirih merah

Daun segar	Serbuk simplisia	Ekstrak daun sirih merah
1 kg	300 gram	9 gram

Hasil pemeriksaan Skrining Fitokimia

Tabel 4.2. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah

No	Golongan Senyawa	Hasil Identifikasi
1	Alkaloid	+
2	Flavonoid	+
3	Saponin	+
4	Steroid/triterpenoid	+
5	Tanin	+

Keterangan :

+ Mengandung golongan senyawa

- Tidak mengandung golongan senyawa

Hasil Uji Aktivitas Diuretik

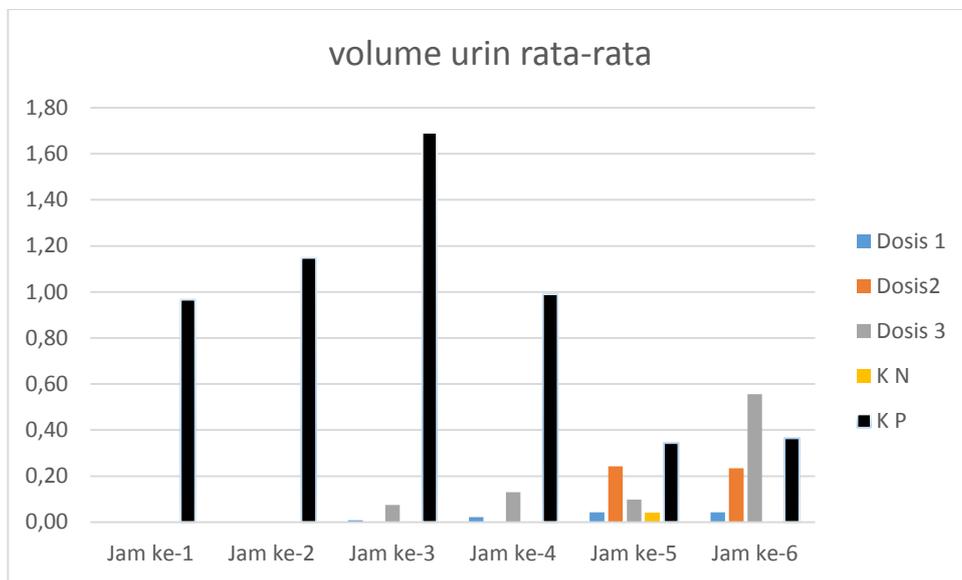
Pengukuran volume urin tikus dilakukan dengan mengukur volume urin rata-rata pada jam ke- 1, 2, 3, 4, 6 dan mengukur volume urin total. Hasil pengukuran volume urin rata-rata dan Akumulasi selama 6 jam (mL) dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Data Rata-rata Volume Urin Tiap Waktu Pengamatan

Kelompok perlakuan	Volume Urin (ml) Rata-rata pada Kelompok (\pm SD)						Akumulasi selama 6 jam (mL)
	Jam ke-1	Jam ke-2	Jam ke-3	Jam ke-4	Jam ke-5	Jam ke-6	
Dosis I	0,00 \pm	0,00 \pm	0,01 \pm	0,02 \pm	0,04 \pm	0,04 \pm	0,57
	0,000	0,000	0,178	0,491	0,046	0,093	
Dosis II	0,00 \pm	0,00 \pm	0,00 \pm	0,00 \pm	0,24 \pm	0,23 \pm	2,38
	0,000	0,000	0,000	0,000	0,367	0,330	
Dosis III	0,00 \pm	0,00 \pm	0,07 \pm	0,13 \pm	0,10 \pm	0,56 \pm	4,29

	0,000	0,000	0,129	0,171	0,219	0,498	
Kontrol Negatif	0,00±	0,00±	0,00±	0,00±	0,04±	0,00±	0,2
Kontrol Positif	0,97±	1,15±	1,69±	0,99±	0,34±	0,36±	27,52
	0,983	0,893	1,510	1,018	0,327	0,579	

Untuk mempermudah pengamatan, hasil volume urin rata-rata tiap waktu pengamatan dapat dilihat pada gambar 1. dan 2.



Gambar 1. Diagram Perbandingan Rata-rata Kenaikan Volume Urin Tiap Waktu Pengamatan

Keterangan :

Dosis 1 = 250mg/kg BB

Dosis 2 = 350mg/kg BB

Dosis 3 = 650mg/kg BB

K N = Kontrol Negatif

K P = Kontrol Positif

Analisis Data

Pada penelitian ini, data yang telah diperoleh dianalisis secara statistik. Pengujian statistik yang dilakukan yaitu *One way anova* dipilih karena hanya ada satu variabel yang akan diuji. Sebelum melakukan uji anova, ada 2 syarat yang harus dipenuhi yakni data yang diuji harus terdistribusi normal dengan $p > 0,05$ serta data mempunyai variasi data yang sama (homogen). Hasil data dibawah menunjukkan pengujian *one way anova* tidak dapat dilanjutkan dimana uji normalitas tidak memenuhi syarat ditunjukkan dengan nilai $\text{sig } p < 0,05$, maka pengujian dilanjutkan dengan uji *non parametric (Kruskal wallis test)*.

Tabel 3. Hasil Analisis Data

	Uji Normalitas Data Shapiro- Wilk (sig.)	Uji Kruskal Wallis Test (sig)
Jam ke-1	,000	,000
Jam ke-2	,000	,000
Jam ke-3	,000	,002
Jam ke-4	,000	,011
Jam ke-5	,000	,107
Jam ke-6	,000	,079

Kemudian dilakukan uji beda lanjut untuk melihat perbedaan antar kelompok data.

Tabel 4. Hasil Uji Beda Lanjut Kruskal Wallis Test

No	Hubungan antar Kelompok	signifikan
Jam 1	kontrol negatif- kontrol positif	,001
	dosis1 - kontrol positif	,001
	dosis2 - kontrol positif	,001
	dosis 3 – kontrol positif	,001
Jam 2	kontrol negatif- kontrol positif	,001
	dosis1 - kontrol positif	,001
	dosis2 - kontrol positif	,001
	dosis 3 – kontrol positif	,001
Jam 3	kontrol negatif- kontrol positif	,005
	dosis2 - kontrol positif	,005
	dosis1 - kontrol positif	,026
Jam 4	kontrol negatif- kontrol positif	,031
	dosis2 - kontrol positif	,031

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahawa Ekstrak etanol daun sirih merah memiliki aktivitas diuretik terhadap tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) dan Ekstak etanol daun sirih merah yang paling optimal meningkatkan volume urin yang dihasilkan selama 1 hari dalam 6 jam pada tikus putih jantan (*rattus norvegicus*) pada dosis 650mg/kgBB sebanyak 0,56 ml pada jam ke-6.

DAFTAR REFERENSI

- Abiyoga I, Mukaromah AH, Dewi SS. Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Etanol Daun Sirih MeraH (*Piper Crocatum* L.) Terhadap Pertumbuhan *Aspergillus flavus*. al-Kimiya. 2021;8(2):75–9.
- Adrian SJ. Diagnosis dan tatalaksana terbaru pada dewasa. Cdk-274 [Internet]. 2019;46(3):172–8. Available from: <http://www.cdkjournal.com/index.php/CDK/article/view/503%0A> diakses pada tanggal 28 oktober 2020
- Arjani IAMS. Kadar Tanin Pada Air Rebusan Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*). Vol. 4, Meditorty the Journal of Medical Laboratory. 2016. p. 39–41.
- Depkes. Pharmaceutical Care Untuk Penyakit Hipertensi, Direktorat Bina Farmasi Komunitas dan Klinik DITJEN Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. Buku. 2006;73.
- Ulfah MA, Primadhamanti A, Novitasari H. Analisis Senyawa Fenolik Pada Ekstrak Segar Daun Sirih Merah(*Piper crocatum* Ruiz & Pav). J Kebidanan. 2017;3(2):57–63.
- Warouw VYD, Pareta DN, Mongie J, Paat V. Uji Efektivitas Diuretik Ekstrak Daun Afrika *Vernonia amygdalina* pada Tikus Putih Jantan *Rattus norvegicus*. Biofarmasetikal Trop. 2020;3(1):122–7.
- White M, Rattus R, Tandj J, Lalu R, Nuraisyah S, Kenta YS. Uji Potensi Nefropati Diabetes Daun Sirih Merah (*Piper croatum* Ruiz & Pav) pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) [Potential Test of Diabetes Nefropative of Red Betel Leaf (*Piper croatum* Ruiz &. 2020;6(3):239–51.
- Widyaningsih TD, Wijayanti NW, Syafrilia RM. Anti Hipertensi Minuman Serbuk Instan Campuran Ekstrak Buah Delima Merah (*Punica granatum* Linn.) dan Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) pada Tikus Hipertensi. Foodscitech. 2018;1(2):11.