

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi Daun Cincau Hijau

1. Determinasi Tanaman

1.1 Determinasi Daun Cincau Hijau

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun cincau hijau (*Cyclea barbata* Miers) yang telah dilakukan determinasi di unit Laboratorium morfologi sistematika tumbuhan Universitas Setia Budi Surakarta. Tujuan dilakukan determinasi adalah untuk mencocokkan ciri morfologis yang ada pada tanaman, menghindari terjadinya kesalahan dalam pengambilan bahan serta menghindari tercampurnya bahan dengan bahan yang lain.

Hasil determinasi tanaman cincau hijau berdasarkan *Backer : Flora of java* 1b – 2b – 3b – 4b – 12b – 13b – 14b – 17b – 18b – 19b – 20b – 21b – 22b – 23b – 24b – 25b – 26b – 27a – 28b – 29b – 30b – 31b – 403b – 404b – 405c – 414b – 757b – 758b – 766b – 767b – 768b – 771a. familia 19. Menispermae. 1b – 2a – 3a – 4a.16. *Cyclea. Cyclea barbata* Miers

1.2 Hasil deskripsi determinasi tanaman sebagai berikut :

Habitus : Semak. Batang : lunak, merambat, panjang 4-5 m. Daun : bangun jantung sampai membulat, ujung meruncing, tepi rata, panjang 6 -12 cm, hijau, berbulu halus. Bunga : majemuk. Bunga jantan aktinomorf, danu kelopak 4 -5, daun mahkota 4 – 5 kuning kehijauan atau hijau muda, stamen 1. Bunga betina zigomorf, daun kelopak 1 – 2, daun mahkota 1 panjang 1k 1mm.

2. Hasil Pengeringan dan Pembuatan Serbuk Daun Cincau Hijau

Tanaman daun cincau hijau (*Cyclea barbata* Miers) diambil di Tawamangu, propinsi Jawa Tengah dengan memilih daun yang segar.

Sampel didapatkan pada bulan Januari – Februari 2019. Daun cincau hijau dibersihkan dari kotoran dengan cara di cuci dengan air bersih mengalir kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 50° C sampai diperoleh daun cincau hijau yang kering. Pengeringan dimaksud untuk mengurangi kadar air sehingga mencegah timbulnya jamur yang dapat menyebabkan terjadinya perubahan kimia dan dapat menurunkan mutu maupun khasiat daun cincau hijau. Setelah daun cincau hijau dikeringkan, kemudian dihaluskan dan dibuat serbuk dengan menggunakan mesin penggiling dan diayak dengan pengayak mesh 40 untuk memperoleh serbuk yang halus.

Tabel 1. Persentase bobot kering terhadap bobot basah daun cincau hijau

Bobot basah (g)	Bobot serbuk (g)	Persentase % (b/b)
5.000	1.200	24 %

Persentase hasil penyerbukan daun cincau hijau adalah 24 % b/b. Hasil perhitungan dapat dilihat pada lampiran 6.

1. Hasil Penetapan Kadar Kelembaban

Penetapan kadar kelembaban serbuk daun cincau hijau (*Cyclea barbata* Miers.) menggunakan alat *moisture balance*. Hasil penetapan kadar kelembaban serbuk daun cincau hijau dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil persentase kadar kelembaban serbuk daun cincau hijau

Sampel	Berat awal (gram)	Kadar Kelembaban (%)
Serbuk daun cincau hijau	2	7,5
	2	7,8
	2	8,8
Rata-rata		8,03

Berdasarkan tabel 3 hasil perhitungan kadar kelembaban serbuk daun cincau hijau yang dilakukan 3 kali replikasi, didapatkan rata-rata persentase kadar kelembaban 8,03%. Penetapan kadar kelembaban tidak boleh lebih dari 10%, dapat disimpulkan kadar kelembaban daun cincau hijau memenuhi syarat < 10%. Perhitungan dapat dilihat pada lampiran 7.

2. Hasil pembuatan ekstrak daun cincau hijau

Pembuatan ekstrak daun cincau hijau dilakukan dengan cara maserasi, metode ini dipilih karena mudah dalam proses pengerjaannya dan peralatan yang digunakan sederhana. Pelarut yang digunakan dalam pembuatan ekstrak daun cincau hijau ini adalah etanol 96% karena dapat melarutkan zat aktif yang dibutuhkan dalam penelitian ini seperti alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin. Etanol 96% digunakan sebagai penyari karena sifat etanol yang tidak beracun dan mudah menarik keluar senyawa aktif dari dalam sel.

Proses maserasi dilakukan dalam wadah botol kaca tertutup dan gelap agar terhindar dari sinar matahari langsung. Hasil pembuatan ekstrak daun cincau hijau dapat dilihat pada tabel 3. Perhitungan rendemen ekstrak dapat dilihat pada lampiran 8.

Tabel 3. Hasil persentase serbuk daun cincau hijau ke dalam ekstrak etanol daun cincau

Bobot serbuk (g)	Bobot ekstrak (g)	Persentase % (b/b)
500	48	6,2

3. Hasil Identifikasi Kandungan Senyawa

Identifikasi kandungan kimia dilakukan terhadap ekstrak etanol daun cincau hijau untuk melihat kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin masing-masing sampel. Foto hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun cincau hijau dapat dilihat pada lampiran 5. Hasil identifikasi dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak

Uji	Hasil	Pustaka
Flavonoid	Terbentuk warna merah (+)	Timbul warna merah, kuning, atau jingga (Lathifah, 2008)
Saponin	Terbentuk busa yang stabil (+)	Timbul busa yang tetap stabil selama 10 menit (Lathifah, 2008)
Tanin	Terbentuk warna cokelat kehitaman (+)	Timbul warna cokelat kehitaman (Lathifah, 2008)
Alkaloid	Terbentuk kekeruhan atau endapan cokelat (+)	Timbul kekeruhan atau endapan cokelat (Harbone, 1987)

Berdasarkan pada tabel 4, terbukti bahwa ekstrak daun cincau hijau mengandung senyawa golongan flavonoid, saponin, tanin dan alkaloid.

B. Hasil uji aktivias diuretik

Data yang diambil pada penelitian ini adalah data onset dan volume urin tiap waktu pengamatan dari masing – masing hewan uji. Pengambilan dan pengukuran dilakukan tiap jam sampai ke 6 dan dilanjutkan pada jam ke 24. Data onset adalah waktu hewan uji mulai berkemih. Data onset digunakan untuk membandingkan kecepatan pengeluaran urin dari kelompok ekstrak terhadap kelompok kontrol.

Tabel 5. Data onset dari masing-masing kelompok perlakuan

No	Kelompok perlakuan	rata-rata (menit)
1	Ekstrak daun cincau hijau 60 mg/kg BB	32,4±5,02 ^b
2	Ekstrak daun cincau hijau 120 mg/kg BB	45,8±6,87 ^a
3	Ekstrak daun cincau hijau 240 mg/kg BB	36,2±20,63 ^b
4	Kontrol negatif CMC 0,5 %	70,4±21,68 ^a
5	Kontrol positif furosemide 3,6 mg/kg BB	34,8±2,77 ^b

Keterangan : a. berbeda signifikan terhadap furosemid
b. berbeda signifikan terhadap CMC

Berdasarkan tabel diatas, hasil data onset dari tiap kelompok perlakuan ekstrak daun cincau hijau dosis 120 mg/kg BB, dan CMC berbeda signifikan dengan furosemid, artinya ekstrak daun cincau hijau dosis 120 mg/kg BB dan CMC belum bisa memberikan onset yang sebanding terhadap furosemid. Ekstrak daun cincau hijau dosis 60 mg/kg BB dan ekstrak daun cincau hijau 240 mg/kg BB tidak berbeda signifikan dengan furosemid tetapi berbeda bermakna dengan CMC, artinya ekstrak daun cincau hijau dosis 60 mg/kg BB dan ekstrakdaun cincau hijau 240 mg/kg BB mampu memberikan onset yang sebanding dengan furosemid dan berbeda dengan CMC. Kontrol positif furosemid secara teoritis memiliki onset 30-60 menit dan kontrol positif furosemid pada data tabel 5 memberikan onset 34,8 menit. Berdasarkan kelompok uji ekstrak daun cincau hijau dosis 60 mg/kg BB memberikan onset 32,4 menit, ekstrak daun cincau hijau dosis 120 mg/kg BB 45,8 menit dan ekstrak daun cincau hijau dengan dosis 240 mg/kg BB 36,2 menit. Sehingga dapat ditarik kesimpulan dosis yang memberikan

onset yang sebanding terhadap furosemid adalah kelompok ekstrak daun cincau hijau dosis 60 mg/kg BB dan ekstrak daun cincau hijau 240 mg/kg BB.

Tabel 6. Data rata-rata volume urin pada jam ke 1 sampai jam ke 24

No.	Kelompok	Rata-rata volume urin (ml) jam ke-						
		1	2	3	4	5	6	24
1	Ekstrak daun cincau hijau 60 mg/kg BB	0,28±0,63	0,42±0,13	0,26±0,58	0,66±0,30	0,90±0,35	1,22±0,59	5,14±2,39
2	Ekstrak daun cincau hijau 120 mg/kg BB	0,52±0,60	0,72±0,55	0,72±0,55	0,76±0,67	1,22±0,60	1,10±0,50	5,32±1,51
3	Ekstrak daun cincau hijau 240 mg/kg BB	0,66±0,60	0,88±0,30	0,94±0,29	1,16±0,51	1,36±0,38	2,12±0,48	5,36±4,13
4	Kontrol negatif CMC 0,5 %	0,48±0,66	0,40±0,38	0,32±0,31	0,52±0,33	0,70±0,25	1,34±0,59	4,16±1,44
5	Kontrol positif furosemide 3,6 mg/kg BB	1,12±0,76	1,18±0,88	1,22±0,26	1,84±1,80	2,68±1,61	1,76±0,74	5,40±3,28

Keterangan :

Kelompok I : Ekstrak daun cincau hijau 60 mg/kg BB

Kelompok II : Ekstrak daun cincau hijau 120 mg/kg BB

Kelompok III : Ekstrak daun cincau hijau 240 mg/kg BB

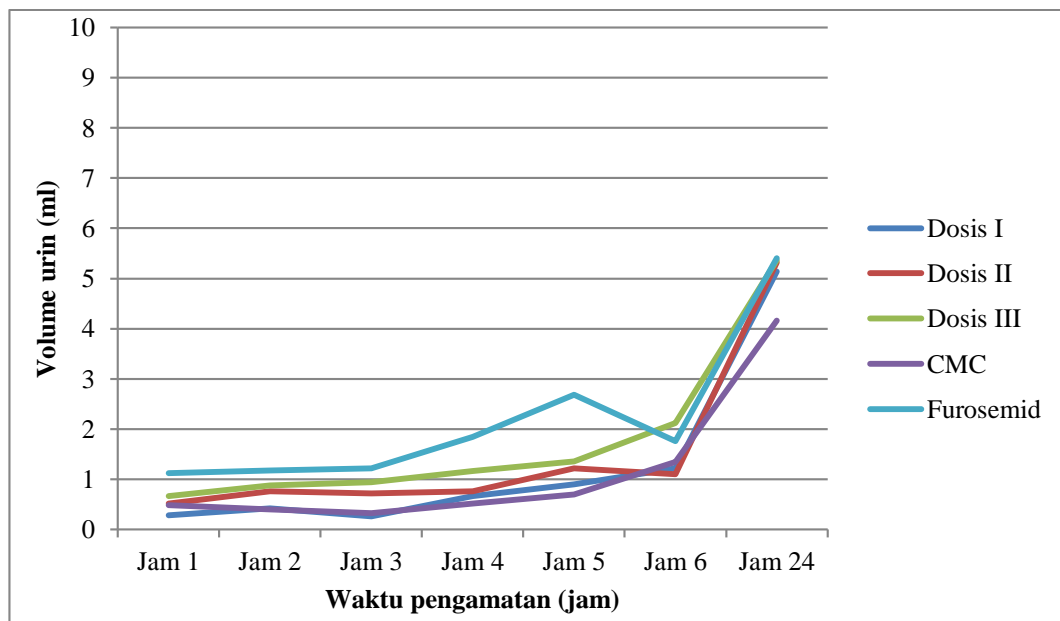
Kelompok IV : Kontrol negatif 0,5 %

Kelompok V : Kontrol positif furosemid 3,6 mg/kg BB

Setelah melakukan pengamatan dan data jumlah volume urin didapatkan.

Volume urin pada masing – masing kelompok perlakuan dirata – rata kemudian hasil rata – rata tersebut dikumulatifkan dari jam pertama, kedua, ketiga, keempat, kelima, keenam dan keduapuluh empat sehingga dari data ini dapat dilihat adanya

kenaikan volume urin, dimana urin tertinggi yang didapatkan adalah pada kelompok kontrol positif 3,6 mg/kg BB tikus dan yang terendah adalah kelompok kontrol negatif CMC 0,5%



Gambar 4. Grafik rata-rata volume urin tiap jam pengamatan

Pada kurva hubungan waktu pengamatan (jam) terhadap volume urin rata-rata pada masing-masing perlakuan dari jam ke 1 sampai jam ke 24, menunjukkan semua kelompok perlakuan menunjukkan terjadi peningkatan pengeluaran urin walaupun tidak setinggi kontrol positif (furosemide).

Furosemid menghasilkan peningkatan volume urin yang lebih besar dari semua kelompok, hal ini dikarenakan furosemide merupakan obat diuretik kuat yang dapat menghambat reabsorpsi dari natrium dan kalium. Peningkatan volume urin yang terjadi sesuai dengan prinsip dari diuretik yaitu obat yang dapat meningkatkan kecepatan pembentukan urin (Foye, 1995).

Penelitian lain yang dilakukan dengan membandingkan obat diuretik terhadap ekstrak biji, kulit buah dan daun matoa yaitu penelitian Purwidyaningrum (2016) menunjukkan bahwa ekstrak biji matoa dengan dosis 100 mg/kg BB mampu menghasilkan volume urin yang tidak jauh berbeda dengan furosemid.

Data EUV dapat digunakan untuk melihat efek diuretik pada jam ke 0-24, kemudian dianalisis statistik untuk melihat adanya perbedaan secara nyata efek diuretik antar kelompok perlakuan.

Tabel 7. Presentase EUV tiap Kelompok Uji pada Pengamatan Selama 24 Jam

Jam ke-	% EUV				
	Ekstrak daun cincau hijau 60 mg/kg BB	Ekstrak daun cincau hijau 120 mg/kg BB	Ekstrak daun cincau hijau 240 mg/kg BB	Kontrol negatif CMC 0,5 %	Kontrol positif furosemide 3,6 mg/kg BB
1	0,08±0 ^a	0,19±0 ^a	0,32±0 ^b	0,07±0 ^a	0,47±0 ^b
2	0,19±0,18 ^a	0,38±0,14 ^a	0,55±0,17 ^b	0,11±0,11 ^a	0,80±0,28 ^b
3	0,26±0,35 ^a	0,57±0,25	0,80±0,18 ^b	0,17±0,18 ^a	1,13±0,36 ^b
4	0,42±0,36 ^a	0,77±0,38 ^a	1,11±0,25 ^b	0,43±0,36 ^a	1,69±0,40 ^b
5	0,68±0,40 ^a	1,09±0,51 ^a	1,46±0,32 ^a	0,69±0,40 ^a	2,36±0,99 ^b
6	0,94±0,38 ^a	1,38±0,43 ^a	2,02±0,30 ^b	1,08±0,51 ^a	2,85±0,89 ^b
24	2,60±0,66 ^a	2,94±0,39 ^a	4,21±0,58 ^a	2,25±0,77 ^a	5,02±0,74 ^b

Keterangan :
 a. Berbeda bermakna terhadap furosemide
 b. Berbeda bermakna terhadap CMC

Analisis yang dilakukan adalah *Kolmogorov Smirnov test* untuk mengetahui apabila data terdistribusi normal, dari analisis data diperoleh data terdistribusi normal dilanjutkan dengan homogenitas levene test apabila $> 0,05$ artinya data homogen, kemudian dilanjutkan dengan metode *one way anova* menunjukkan hasil ada perbedaan bermakna maka dilanjutkan dengan uji *Post hoc test LSD EUV* dan Tukey .

Pada kelompok perlakuan kontrol positif telah terbukti memberikan efek farmakologis karena sudah terbukti memiliki aktivitas diuretik dengan sedangkan pada perlakuan kontrol negatif tidak memberikan efek farmakologis diuretik karena hanya sebagai *suspending agent*.

Pada kelompok perlakuan EUV jam ke 6 dapat digunakan untuk melihat efek diuretik kemudian dianalisis statistik untuk melihat adanya perbedaan secara nyata efek diuretik antar kelompok perlakuan. Analisis yang dilakukan adalah *Kolmogorov Smirnov test* untuk mengetahui apabila data terdistribusi normal, dari analisis data diperoleh nilai signifikansi 0,164 ($p > 0,05$), artinya data terdistribusi normal, kemudian dilanjutkan dengan metode *one way anova* menunjukkan hasil 0,001 ($p < 0,05$), artinya ada perbedaan bermakna maka dilanjutkan dengan uji *Post hoc test LSD & Tukey* kelompok kontrol positif furosemid, ekstrak daun cincau hijau dosis 60 mg/kg BB, 120 mg/kg BB, dan 240 mg/kg BB ada berbeda signifikan dengan kontrol negatif 0,05%, artinya kelompok kontrol positif furosemid dan kelompok ekstrak daun cincau hijau dosis 240 mg/kg BB memberikan efek diuretik. Hal tersebut disebabkan karena senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak daun cincau hijau yang dapat meningkatkan urinasi dan mengeluarkan elektrolit melalui pengaruhnya terhadap kecepatan filtrasi glomerulus (GFR) dalam kapsula bowman . Selain itu terdapat senyawa saponin yang bekerja menurunkan reabsorpsi natrium dan air dengan cara menghambat enzim Na^+ / K^+ sehingga terjadi penurunan tekanan darah (Brunner and Suddarth, 2013).

Alkaloid bekerja sebagai diuretik dengan cara meningkatkan eksresi Na^+ dan air sehingga menyebabkan peningkatan volume urin (Jouad, 2001).

Pada kelompok kontrol perlakuan ekstrak daun cincau hijau dosis 60 mg/kg BB, 120 mg/kg BB dan 240 mg/kg BB memiliki aktivitas sebanding dengan kontrol positif furosemid dibandingkan dengan kontrol negatif yang hanya sebagai suspending agent/pembawa.

Pada kelompok perlakuan ekstrak daun cincau hijau dosis 60 mg/kg BB, 120 mg/kg BB, dan 240 mg/kg BB yang memberikan efek diuretik paling kuat adalah ekstrak daun cincau hijau dosis 240 mg/kg BB karena selain kandungan senyawa flavonoid yang memberikan aktivitas diuretik, semakin tinggi dosis ekstrak diberikan maka semakin meningkatkan efektivitas diuresisnya yang dinyatakan dengan peningkatan volume urin yang dihasilkan oleh hewan tikus .

Analisis yang dilakukan adalah *Kolmogorov Smirnov test* untuk mengetahui apabila data terdistribusi normal, dari analisis data EUV jam ke 1, 2, 3, 4, diperoleh nilai signifikansi 0,459, 0,901, 0,705, 0,248 ($p > 0,05$), artinya data terdistribusi normal, kemudian dilanjutkan dengan metode *one way anova* menunjukkan hasil 0,005 dan 0,004 ($p < 0,05$), artinya ada perbedaan bermakna maka dilanjutkan untuk melihat adanya perbedaan yang signifikan furosemid dan CMC dengan uji post hoc test LSD dan Tukey kelompok kontrol positif furosemid, kelompok ekstrak daun cincau hijau 120 mg/kg BB dan kelompok ekstrak daun cincau hijau 240 mg/kg BB ada beda signifikan dengan kontrol negatif CMC 0,5%, artinya kelompok kontrol positif furosemide, kelompok ekstrak daun cincau hijau 120 mg/kg BB dan kelompok ekstrak daun cincau hijau

240 mg/kg BB memberikan efek diuretik yang hampir sebanding pada jam ke 1 sampai jam ke 4.

Data EUV jam ke 5 dan ke 6 diperoleh nilai signifikansi 0,119 dan 0,164 ($p>0,05$), artinya data terdistribusi normal, kemudian dilanjutkan dengan metode *one way anova* menunjukkan hasil 0,003 dan 0,001 ($p<0,05$), artinya ada perbedaan bermakna maka dilanjutkan untuk melihat adanya perbedaan yang signifikan furosemid dan CMC dengan uji post hoc test LSD dan Tukey kelompok kontrol positif furosemid dan kelompok ekstrak daun cincau hijau 240 mg/kg BB menunjukkan ada beda signifikan dengan kontrol negatif CMC 0,5%, artinya kelompok kontrol positif furosemide, dan kelompok ekstrak daun cincau hijau 240 mg/kg BB memberikan efek diuretik yang sebanding pada jam ke 5 dan 6.

Data EUV jam ke 24 diperoleh nilai signifikansi 0,122 ($p>0,05$), artinya data terdistribusi normal, kemudian dilanjutkan dengan metode *one way anova* menunjukkan hasil 0,001 ($p<0,05$), artinya ada perbedaan bermakna maka dilanjutkan untuk melihat perbedaan yang signifikan furosemid dan CMC dengan uji post hoc test LSD dan Tukey kelompok kontrol positif furosemid ada beda signifikan dengan kelompok ekstrak daun cincau hijau 60 mg/kg BB, ekstrak daun cincau hijau 120 mg/kg BB, ekstrak daun cincau hijau 240 mg/kg BB dan kontrol negatif CMC 0,5%, artinya kelompok ekstrak daun cincau hijau 60 mg/kg BB, ekstrak daun cincau hijau 120 mg/kg BB dan ekstrak daun cincau hijau 240 mg/kg BB tidak memberikan efek diuretik yang sebanding terhadap kontrol positifnya (furosemid) pada jam ke 24.

Berdasarkan data dari analisis SPSS, kelompok ekstrak yang mempunyai aktivitas diuretik sebanding terhadap kontrol positif (furosemid) adalah ekstrak daun cincau hijau 240 mg/kg BB yang terlihat pada saat EUV jam 5 dan 6 tetapi secara perhitungan EUV kelompok ekstrak daun cincau hijau 60mg/kg BB dan ekstrak daun cincau hijau 120 mg/kg BB sudah memiliki persen diuretik yang tinggi walaupun tidak sebanding terhadap kontrol positif (furosemid).

Daun cincau hijau mengandung senyawa alkaloid, saponin, tanin, dan flavonoid, senyawa ini dapat larut dalam air. Bobby dan Widyaningsih (2014), menjelaskan senyawa flavonoid dalam daun cincau hijau dapat meningkatkan urinasi dan mengeluarkan elektrolit melalui pengaruhnya terhadap kecepatan filtrasi glomerulus (GFR) dalam kapsula bowman.

Penelitian lain yang juga menggunakan parameter EUV adalah penelitian Purwidyaningrum (2016) yang menggunakan ekstrak biji, kulit buah dan daun matao sebagai diuretik dengan kontrol positifnya adalah furosemide. Hasil EUV yang paling baik menurut penelitian ini adalah EUV dari ekstrak biji buah matao dengan dosis 100 mg/ kg BB.

Mekanisme dari ekstrak daun cincau hijau diduga hampir sama seperti diuretik yaitu dengan menghambat reabsorpsi ion klorida yang biasanya terikat dengan natrium dan kalium. Dengan penghambatan reabsorpsi garam-garam tersebut, maka reabsorpsi air pun dihambat sehingga volume urin bertambah. Penelitian ini menunjukkan bahwa semakin banyak dosis ekstrak yang diberikan maka semakin banyak mempengaruhi pengeluaran volume urin dan ekskresi kalium.

Berdasarkan hasil penelitian dengan parameter onset, rata-rata volume urin, dan % EUV maka dapat disimpulkan bahwa dosis efektif sebagai diuretik adalah ekstrak daun cincau hijau 240 mg / kg BB tikus.

