

Bab VI. Hasil dan Pembahasan

VI.1 Penyiapan Tanaman

Uji antidiare yang dilakukan dalam penelitian ini menggunakan ekstrak etanol dari daun kratom (*Mitragyna speciosa*). Daun kratom yang digunakan diperoleh dari Desa Muara Baruh Kecamatan Amuntai Utara Kabupaten Hulu Sungai Utara Provinsi Kalimantan Selatan. Untuk memastikan kebenaran tanaman tersebut maka dilakukan determinasi di Fakultas MIPA Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru. Hasil determinasi dengan nomor 164c/LB.LABDASAR/XII/2018 menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah benar daun sepat dengan nama latin yaitu *Mitragyna speciosa*. Hasil determinasi dapat dilihat pada Lampiran 1.

VI.2 Ekstraksi

Sebanyak 700 gram simplisia kering diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 96% dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* kemudian dipekatkan menggunakan cawan penguap sehingga didapatkan ekstrak kental sebanyak 200 gram dengan % rendemen yaitu 28,57%. Pada penelitian Novandriana (2014) ekstrak kental yang didapat dengan % rendemen yaitu 31,14%.

Perhitungan rendemen:

$$\begin{aligned}\text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak kental yang diperoleh}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\% \\ &= \frac{200 \text{ gram}}{700 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 28,57\%\end{aligned}$$

VI.3 Karakterisasi Daun Kratom (*Mitragyna speciosa*)

Proses karakterisasi simplisia bertujuan untuk mengetahui kualitas dari simplisia apakah memenuhi standar mutu simplisia atau belum.

Hasil karakterisasi dapat dilihat pada Tabel VI.1.

Tabel VI.1 Hasil Karakterisasi Simplisia Daun Kratom

Karakterisasi	Kadar (%)
Kadar Abu Total	5
Kadar Air	8
Susut Pengeringan	15,11
Kadar Sari Larut Air	10
Kadar Sari Larut Etanol	16

Ada lima pengujian yang dilakukan dalam proses karakterisasi simplisia. Penetapan kadar air dilakukan untuk mengetahui besarnya kandungan air yang terdapat dalam serbuk simplisia. Menurut *Materia Medika Indonesia* (1995), syarat kadar air yang baik tidak lebih dari 10%. Kadar air terkait dengan stabilitas suatu sediaan, biasanya kadar air yang cukup beresiko adalah lebih dari 10%, jika melebihi persyaratan maka akan mengakibatkan berkembang biaknya bakteri, kapang, dan khamir. Metode penentuan kadar sari larut air maupun larut etanol bertujuan untuk menentukan jumlah senyawa aktif yang terekstraksi dalam pelarut dari sejumlah serbuk simplisia (Rivai, dkk., 2013). Hasil pengujian menunjukkan kadar sari larut air dari serbuk simplisia daun kratom yang digunakan memiliki nilai 10 %, sedangkan kadar sari larut etanol sebesar 15 %. Hal ini menunjukkan bahwa jumlah senyawa polar yang terlarut dalam air lebih kecil daripada jumlah senyawa kurang polar (semi polar maupun non polar) yang terlarut dalam etanol, selain itu sebagai indikator banyaknya zat berkhasiat yang dapat tersari oleh

pelarut air dan etanol. Pada pengujian susut pengeringan diperoleh 15,11%, susut pengeringan menunjukkan hilangnya kadar senyawa pada suhu 105 °C pada saat proses pengeringan. Pada pengujian kadar sari etanol dan air bertujuan untuk mengetahui gambaran awal senyawa yang terdapat simplisia tersebut lebih banyak larut pada pelarut air atau etanol (Rismawati, 2015). Hasil pengujian menunjukkan kadar sari etanol lebih besar dibandingkan air, hal ini menunjukkan senyawa pada daun kratom lebih banyak terlarut pada pelarut etanol dibandingkan air. Maka pemilihan pelarut etanol pada penelitian ini sudah tepat.

VI.4 Skrining Fitokimia Daun kratom (*Mitragyna speciosa*)

Penapisan fitokimia dilakukan untuk mengetahui golongan kandungan metabolit sekunder yang terkandung dalam simplisia. Senyawa utama dalam tanaman dengan genus *Mitragyna* adalah alkaloid, triterpenoid dan flavonoid. Selain alkaloid, pada daun kratom juga terdapat senyawa flavonoid, saponin, triterpenoid dan derivat glikosida. Tujuan dilakukannya skrining fitokimia yaitu untuk memastikan senyawa apa saja yang terkandung di dalam simplisia serta mengetahui senyawa yang memberikan efek antidiare dalam simplisia ataupun ekstrak yang digunakan dalam pengujian. Hasil skrining fitokimia dapat dilihat pada Tabel VI.2.

Tabel VI.2 Hasil Skrining Fitokimia Daun Sepat

Golongan Senyawa	Simplisia	Ekstrak
Alkaloid	(+)	(+)
Flavonoid	(+)	(+)
Kuinon	(+)	(+)
Fenol	(+)	(+)
Saponin	(+)	(+)
Steroid/Triterpenoid	(+)	(+)

Keterangan:

(-) : Menunjukkan tidak adanya senyawa

(+) : Menunjukkan adanya senyawa

Hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa pada simplisia daun kratom terdapat senyawa kimia golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, kuinon dan triterpenoid. Pemeriksaan golongan senyawa alkaloida dengan penambahan pereaksi Mayer, Bouchardat, dan Dragendorff, yang menghasilkan endapan yang menunjukkan adanya golongan senyawa alkaloida. Pemeriksaan golongan senyawa flavonoida dengan penambahan serbuk magnesium dan asam klorida pekat menghasilkan larutan yang berwarna merah. Penambahan FeCl_3 memberikan warna hijau kecoklatan yang menunjukkan adanya golongan senyawa tanin. Serbuk simplisia dengan penambahan akuades panas dan dikocok kuat menghasilkan busa yang stabil setelah ditambahkan HCl 2 N, menunjukkan adanya golongan senyawa saponin. Pemeriksaan golongan senyawa glikosida dengan penambahan pereaksi Molisch dan asam sulfat pekat membentuk cincin ungu. Pemeriksaan golongan senyawa triterpenoida/steroida dengan penambahan beberapa tetes pereaksi Liebermann-Burchard menghasilkan warna jingga atau ungu.

VI.5 Pengujian Aktivitas Antidiare

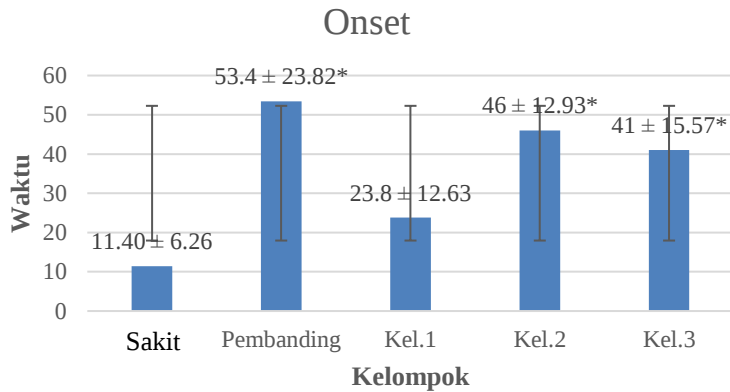
Diare merupakan suatu keadaan yang ditandai meningkatnya frekuensi pengeluaran feses (lebih dari 3 kali sehari) dengan peningkatan konsistensi feses yang disebabkan oleh peningkatan motilitas usus. Oleh sebab itu parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah konsistensi feses, frekuensi defekasi, berat feses onset dan durasi atau lama terjadinya diare dengan menggunakan metode proteksi terhadap senyawa penginduksi diare (oleum ricini). Selain itu juga dilakukan pengamatan terhadap kemampuan ekstrak dalam menurunkan atau relaksasi gerak peristaltik usus karena hal ini secara langsung mempengaruhi frekuensi diare dan tentunya juga konsistensi feses menggunakan metode uji transit intestinal dengan penanda/*marker* tinta cina.

VI.5.1 Uji Proteksi Oleum ricini

Pengujian aktivitas antidiare dengan metode proteksi oleum ricini dilakukan dengan membagi hewan percobaan menjadi lima kelompok, setiap kelompok terdiri lima ekor hewan percobaan. Setelah dipuasakan satu jam, pada kelompok normal diberikan NaCMC 0,5% sebanyak 1 mL/20g bb dan pembanding diberikan loperamid HCl 0,26 mg/kg bb. Kelompok sediaan uji dosis I, II dan III diberi sediaan ekstrak daun kratom berturut-turut dengan dosis 50; 100 dan 200 mg/kg bb. Setelah 30 menit perlakuan, hewan percobaan diberi oleum ricini sebagai penginduksi sebanyak 0,75 mL/ 20g bb secara oral. Kemudian diamati waktu mulai diare, lama diare, frekuensi diare, konsistensi feses dan bobot feses selang 30 menit selama 5 jam.

Penggunaan minyak jarak atau oleum ricini karena oleum ricini bersifat emolien dan mengandung trigliserida dari asam risinoleat, suatu asam lemak tak jenuh. Di dalam usus halus sebagian zat ini diuraikan oleh enzim lipase dan menghasilkan asam risinoleat yang memiliki efek stimulasi terhadap usus sehingga waktu transit di usus semakin pendek dan penyerapan cairan tidak berlangsung efektif mengakibatkan feses mengandung air. Sementara itu penggunaan loperamid HCl (Lodia®) yang termasuk dalam golongan antidiare menekan peristaltik dengan mekanisme kerja memperlambat motilitas intestinal sehingga mampu memperpanjang waktu transit intestinal, menurunkan frekuensi defekasi, meningkatkan viskositas feses, dan mencegah kehilangan cairan elektrolit.

Pengamatan terhadap waktu mulai diare, menunjukkan bahwa kelompok pembanding (Loperamid HCL) dapat memperlambat waktu mulai diare begitu juga dengan kelompok uji yang diberi suspensi ekstrak daun kratom dengan dosis 100 dan 200 mg/kg bb berbeda bermakna terhadap kelompok NaCMC ($p < 0,05$). Sedangkan pada kelompok uji ekstrak daun kratom dosis 50 mg/kg bb mampu menghambat waktu terjadinya diare namun tidak begitu signifikan dibandingkan kelompok NaCMC. Hasil pengamatan onset diare dapat dilihat pada gambar VI.1.



Gambar VI.1. Diagram Waktu awal mula diare (Onset)

Keterangan:

*) : Ada perbedaan Berbeda bermakna terhadap kontrol pada $p < 0,05$

Sakit : diberikan suspensi Na CMC 0,5%

Pembanding : diberikan suspensi Loperamid HCL 0,26 mg/kgbb

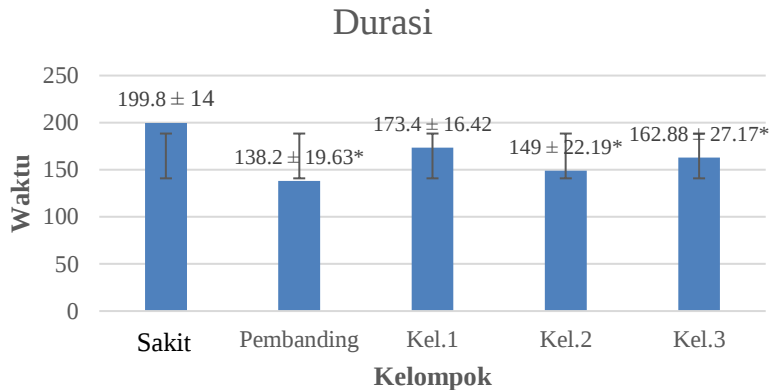
Kel.1 : diberikan suspensi ekstrak dosis 50 mg/kgbb

Kel.2 : diberikan suspensi ekstrak dosis 100 mg/kgbb

Kel.3 : diberikan suspensi ekstrak dosis 200 mg/kgbb

Pengamatan terhadap lamanya diare menunjukkan kelompok yang diberi ekstrak daun kratom dengan dosis 100 dan 200 mg/kg bb serta kelompok pembanding dapat menurunkan lamanya diare berbeda bermakna terhadap kelompok kontrol NaCMC ($p < 0,05$). Lama terjadinya diare paling pendek ditunjukkan oleh kelompok pembanding Loperamid ($138,20 \pm 19,63$ menit). Sedangkan untuk mencit yang diberikan ekstrak daun kratom mengalami diare paling pendek ditunjukkan oleh dosis 100 mg/kg bb ($149,00 \pm 22,19$ menit).

Hasil pengamatan durasi atau lama terjadinya diare dapat dilihat pada gambar VI.2.



Gambar VI.2. Diagram lama terjadinya diare (Durasi)

Keterangan :

*) : Ada perbedaan Berbeda bermakna terhadap kontrol pada $p < 0,05$

Sakit : diberikan suspensi Na CMC 0,5%

Pembanding : diberikan suspensi Loperamid HCL 0,26 mg/kgbb

Kel.1 : diberikan suspensi ekstrak dosis 50 mg/kgbb

Kel.2 : diberikan suspensi ekstrak dosis 100 mg/kgbb

Kel.3 : diberikan suspensi ekstrak dosis 200 mg/kgbb

Pengamatan terhadap frekuensi defekasi menunjukkan bahwa kelompok pembanding Loperamid dan kelompok uji ekstrak daun kratom dosis 100 dan 200 mg/kg bb dapat menurunkan frekuensi defekasi berbeda bermakna terhadap kontrol ($p < 0,05$). Pada kelompok pembanding yang menunjukkan adanya perbedaan bermakna terhadap kontrol pada menit 0-30; 30-60 dan 180-210,

sedangkan pada kelompok ekstrak dosis 100 dan 200 mg/kg bb menunjukkan adanya aktivitas antidiare pada menit 0-30. Penurunan frekuensi defekasi kemungkinan disebabkan karena adanya penurunan motilitas usus dan adanya peningkatan absorpsi air serta elektrolit di usus yang menyebabkan volume usus menurun sehingga frekuensi defekasi pun menurun. Hasil pengamatan frekuensi defekasi dapat dilihat pada tabel VI.3.

Tabel VI.3 Hasil pengamatan frekuensi defekasi

Menit Ke-	Pengamatan Frekuensi Diare Pada waktu pengamatan				
	NaCMC	Loperamid	Dosis 50mg	Dosis 100mg	Dosis 200mg
30	3,40 ± 2,30	0,40 ± 0,54*	1,60 ± 1,81	0,20 ± 0,44*	0,60 ± 1,34*
60	2,80 ± 1,09	0,60 ± 0,89*	2,80 ± 1,09	1,60 ± 1,14	2,00 ± 1,00
90	2,20 ± 1,30	1,60 ± 0,89	2,00 ± 0,70	2,00 ± 0,70	1,80 ± 0,83
120	3,60 ± 2,19	1,80 ± 1,09	2,00 ± 1,22	2,00 ± 1,00	2,40 ± 1,67
150	3,60 ± 1,51	2,40 ± 1,34	2,60 ± 0,89	2,20 ± 1,09	2,60 ± 1,51
180	2,80 ± 0,44	2,00 ± 1,41	1,80 ± 0,83	1,60 ± 1,51	1,20 ± 0,83*
210	2,20 ± 1,78	0,60 ± 1,34*	1,20 ± 1,30	1,40 ± 0,54	0,60 ± 0,54*
240	0,80 ± 0,83	0,00 ± 0,00	0,40 ± 0,89	0,20 ± 0,44	0,20 ± 0,44

Keterangan :

*) Berbeda bermakna terhadap kontrol pada $p < 0,05$

Kontrol sakit : diberi suspensi NaCMC 0,5%

Pembanding : Loperamid HCL 0,26 mg/kg bb

Pengamatan terhadap konsistensi feses mencit kelompok yang diberi ekstrak daun kratom menunjukkan bahwa zat uji dosis 100; dan 200 mg/kg bb dapat menurunkan konsistensi feses menuju normal (skor 0) yang berbeda bermakna secara statistik dibandingkan terhadap kontrol ($p < 0,05$). Penurunan konsistensi feses ini terjadi pada mencit yang diberikan dosis 100 mg/kg bb terjadi penurunan konsistensi pada menit ke 0-30 dan menit ke 30-60. Pada mencit yang diberikan ekstrak dosis 200 mg/kg bb juga terjadi penurunan konsistensi feses tetapi hanya terjadi pada menit ke 0-30. Sedangkan

untuk kelompok pembanding loperamid HCl 0,5 terjadi penurunan konsistensi feses pada menit 0-30; 30-60 dan 210-240. Adanya perubahan konsistensi feses ini kemungkinan terjadi karena penurunan motilitas usus yang menyebabkan pergerakan isi usus menjadi lebih lambat dan absorpsi air di usus menjadi lebih lama sehingga konsistensi feses menjadi lebih padat. Hasil pengamatan uji konsistensi feses terdapat pada tabel VI.4.

Tabel VI.4 Hasil pengamatan uji konsistensi feses

Menit Ke-	Skor Konsistensi feses Pada waktu pengamatan				
	NaCMC	Loperamid	Dosis 50mg	Dosis 100mg	Dosis 200mg
30	3,20 ± 1,09	0,80 ± 1,09*	1,80 ± 1,78	0,20 ± 0,44*	0,60 ± 1,34*
60	2,60 ± 0,89	0,40 ± 0,54*	2,60 ± 1,14	1,40 ± 0,89*	2,20 ± 0,83
90	2,60 ± 0,54	2,00 ± 0,70	2,20 ± 0,83	2,20 ± 0,83	2,40 ± 0,89
120	3,80 ± 0,44	3,20 ± 1,78	2,40 ± 1,14	3,00 ± 1,00	2,60 ± 1,67
150	3,20 ± 0,83	3,00 ± 1,00	3,00 ± 1,00	2,60 ± 0,89	3,00 ± 1,73
180	3,40 ± 0,54	2,40 ± 1,51	2,60 ± 1,51	2,40 ± 1,67	1,80 ± 1,09
210	1,40 ± 1,14	0,60 ± 1,34	1,20 ± 1,78	2,00 ± 0,00	1,00 ± 1,00
240	0,60 ± 0,54	0,00 ± 0,00*	0,20 ± 0,44	0,20 ± 0,44	0,20 ± 0,44

Keterangan :

*) Berbeda bermakna terhadap kontrol pada $p < 0,05$

Kontrol sakit : diberi suspensi NaCMC 0,5%

Pembanding : Loperamid HCL 0,26 mg/kg bb

Skor : 0= normal, 1= lembek, 2= lembek cair, 3= cair

Kemudian Pengamatan terhadap bobot feses mencit kelompok yang diberi ekstrak daun kratom menunjukkan bahwa zat uji dosis 100 dan 200 mg/kg bb serta pembanding dapat menurunkan bobot feses berbeda bermakna terhadap kelompok kontrol ($p < 0,05$). Penurunan bobot feses pada mencit yang diberikan ekstrak dosis 100 mg/kg bb terjadi pada menit 0-30 dan menit 30-60. Pada ekstrak dosis 200 mg/kg bb juga terjadi penurunan bobot feses pada menit ke 0-30; 30-60 dan menit ke 120-150. Sedangkan untuk kelompok pembanding

terjadi penurunan bobot feses pada menit ke 0-30 dan 30-60. Penurunan bobot feses ini terjadi seiring penurunan kadar air di dalam feses yang mengalami waktu transit lebih panjang di dalam usus akibat motilitas usus menurun, sehingga kadar air di dalam feses berkurang begitupula bobotnya yang mengalami penurunan. Hasil pengamatan bobot feses terdapat pada tabel VI.5.

Tabel VI.5 Hasil pengamatan bobot feses

Menit Ke-	Pengamatan Bobot feses Pada waktu pengamatan				
	NaCMC	Loperamid	Dosis 50mg	Dosis 100mg	Dosis 200mg
30	0,17 ± 0,11	0,01 ± 0,01*	0,11 ± 0,13	0,00 ± 0,00*	0,03 ± 0,08*
60	0,19 ± 0,06	0,02 ± 0,03*	0,14 ± 0,07	0,04 ± 0,04*	0,09 ± 0,06*
90	0,09 ± 0,05	0,07 ± 0,05	0,06 ± 0,04	0,09 ± 0,02	0,08 ± 0,04
120	0,16 ± 0,16	0,09 ± 0,06	0,08 ± 0,08	0,12 ± 0,05	0,07 ± 0,05
150	0,16 ± 0,08	0,10 ± 0,07	0,13 ± 0,05	0,08 ± 0,05	0,07 ± 0,04*
180	0,09 ± 0,02	0,06 ± 0,04	0,06 ± 0,03	0,05 ± 0,06	0,04 ± 0,03
210	0,05 ± 0,05	0,02 ± 0,05	0,03 ± 0,05	0,06 ± 0,03	0,02 ± 0,02
240	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,01

Keterangan :

*) Berbeda bermakna terhadap kontrol pada $p < 0,05$

Kontrol sakit : diberi suspensi NaCMC 0,5%

Pembanding : Loperamid HCL 0,26 mg/kg bb

VI.5.2 Metode Uji Transit Intestinal

Sama halnya pada metode uji proteksi oleum ricini, mencit yang digunakan dibagi menjadi 5 kelompok yang terdiri dari 5 ekor mencit tiap kelompoknya. Pada kelompok pertama diberikan perlakuan sebagai kontrol normal (NaCMC 0,5%), pada kelompok kedua diberikan perlakuan kontrol pembanding (Loperamid HCL 0,26 mg/kg bb) kemudian kelompok ekstrak dengan dosis berturut-turut 50; 100 dan 200 mg/kg bb. 18 jam sebelum pengujian semua kelompok dipuasakan dengan tujuan pengosongan usus agar tidak mengganggu pengamatan dan menghambat laju tinta cina yang

diberikan. Penggunaan tinta cina adalah sebagai *marker* atau penanda karena tinta cina tidak dapat diserap oleh usus dan warnanya yang kontras sehingga memudahkan dalam pengamatan.

Kemudian 45 menit setelah semua kelompok diberikan perlakuan, semua mencit kemudian diberi senyawa *marker* tinta cina secara oral, baru setelah 20 menit kemudian semua hewan dikorbankan dengan dislokasi tulang leher. Usus dikeluarkan secara hati-hati sampai terenggang. Panjang usus yang dilalui *marker* mulai dari pilorus sampai ujung akhir (yang berwarna hitam) diukur dan dibandingkan, dengan panjang seluruh usus dari pilorus sampai sekum (usus halus), kemudian dihitung nilai rasio panjang usus yang dilalui tinta cina dan panjang usus seluruhnya.

Pada uji transit intestinal, kelompok pembanding dan ekstrak dengan dosis 100 dan 200 mg/kg bb dapat menurunkan rasio lintas usus *marker* berbeda bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol, sedangkan pada kelompok uji ekstrak dosis 50 mg/kg bb juga mampu menurunkan kecepatan laju *marker* namun hasilnya tidak begitu signifikan terhadap kelompok kontrol. Dari hasil pengamatan dapat dilihat bahwa Peningkatan dosis menunjukkan penurunan rasio lintas usus oleh *marker*.

Tabel VI.6 Hasil uji transit intestinal

Perlakuan	Kadar (%)
NaCMC	78,37 ± 14,59
Loperamid	35,72 ± 8,14*
Ekstrak 50mg/kgbb	69,72 ± 13,37
Ekstrak 100mg/kgbb	47,90 ± 6,64*
Ekstrak 200mg/kgbb	38,12 ± 11,74*

Keterangan :

*) Berbeda bermakna terhadap kontrol pada $p < 0,05$

Kontrol sakit : diberi suspensi NaCMC 0,5%

Pembanding : Loperamid HCL 0,26 mg/kg bb

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antidiare dari ekstrak etanol daun kratom yang dilakukan, diketahui bahwa kandungan senyawa aktif dalam tumbuhan kratom memiliki aktivitas yang dapat mempengaruhi sistem pencernaan dalam mengurangi atau menghambat gejala diare. Daun kratom dapat digunakan sebagai antidiare karena mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin, tanin, dan triterpenoid/steroid.

Senyawa steroida sebagai antidiare dapat meningkatkan absorpsi air dan elektrolit dalam usus, sehingga mengakibatkan absorpsi air dan elektrolit dalam usus normal kembali (Anas dkk., 2016).

Tanin diketahui mempunyai aktivitas antiinflamasi, adstringen, antidiare, diuretik dan antiseptik, selain itu tanin berfungsi memperlancar sistem pencernaan, dan sirkulasi darah (Fratiwi, 2015). Sifat pengelat tanin mempunyai efek spasmolitik, dimana dapat mempunyai efek spasmolitik, dimana dapat mengerutkan usus

sehingga gerak peristaltik usus berkurang, dan dapat mengendapkan protein pada permukaan usus. Sifat adstringen tanin akan membuat usus halus lebih tahan terhadap rangsangan senyawa kimia yang mengakibatkan diare (Anas dkk., 2016).

Mekanisme flavonoida sebagai antidiare dapat menghambat motilitas usus, mengurangi sekresi air dan elektrolit, serta memperlama waktu transit usus (Anas dkk., 2016). Flavonoid, terpen dan gula juga menunjukkan aktivitas sebagai antidiare. Kandungan senyawa aktif yang diduga berkontribusi besar terhadap efek antidiare adalah steroida, tanin, flavonoida, dan saponin (Anas dkk., 2016). Menurut Njinga dkk., (2013), sifat antidiare tanaman obat disebabkan oleh tanin, saponin, flavonoida dan sterol. Senyawa aktif golongan saponin memiliki efek antidiare dengan menghambat pelepasan histamin secara *in vitro* (Anas dkk., 2016).