



Uji Aktivitas Antidiare Ekstrak Daun Srikaya (*Annona squamosa* L.) Pada Mencit Putih Jantan (*Mus musculus*) dengan Metode Transit Intestinal

Evanisia More*, Veronika U. Banggut, Yohanes D. P. A. Embu

Fakultas Ilmu Kesehatan, Program Studi Farmasi, Universitas Citra Bangsa, Kupang

Email Penulis Korespondensi: evanisiamore@yahoo.co.id

Abstrak—Diare merupakan gangguan saluran pencernaan yang ditandai dengan meningkatnya frekuensi buang air besar yang tidak normal, lebih dari tiga kali dalam satu hari, disertai perubahan konsistensi tinja yang lebih cair, dengan atau tanpa darah atau lendir. Daun srikaya (*Annona squamosa* L.) merupakan salah satu tanaman obat yang digunakan sebagai antidiare didasari pada kandungan metabolit sekundernya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antidiare ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa* L.) serta mengetahui dosis yang paling optimal sebagai antidiare dengan melihat motilitas usus. Metode yang digunakan adalah metode transit intestinal, dimana parameter yang diamati yaitu panjang usus yang dilalui marker dibandingkan dengan panjang usus keseluruhan. Sebanyak 25 ekor mencit putih jantan dibagi menjadi 5 kelompok, tiap kelompok terdiri dari 5 ekor mencit, yaitu kelompok kontrol negatif diberikan Na-CMC 0,5%, kelompok kontrol positif diberikan loperamide HCl, kelompok uji I, II, III diberikan ekstrak daun srikaya dengan dosis masing-masing 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB dan 600 mg/kgBB. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji One Way ANOVA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa* L.) memiliki aktivitas antidiare dengan dosis yang paling optimal 600 mg/kgBB. Presentase antimotilitas sebesar 54,76%.

Kata Kunci: Antidiare; Ekstrak Daun Srikaya; Loperamide HCl; Metode Transit Intestinal

Abstract—Diarrhea is a gastrointestinal disorder characterized by an abnormal increase in the frequency of bowel movements, more than three times a day, accompanied by a change in stool consistency to a more liquid state, with or without blood or mucus. Srikaya leaves (*Annona squamosa* L.) are one of the medicinal plants used as an antidiarrheal based on their secondary metabolite content. This study aims to determine the antidiarrheal activity of srikaya leaf extract (*Annona squamosa* L.) and to find the most optimal dose as an antidiarrheal by observing intestinal motility. The method used is the intestinal transit method, where the parameter observed is the length of the intestine passed by the marker compared to the total length of the intestine. A total of 25 male white mice were divided into 5 groups, each consisting of 5 mice, namely the negative control group given 0,5% Na-CMC, the positive control group given loperamide HCl, and test groups I, II, and III given srikaya leaf extract at doses of 200 mg/kgBW, 400 mg/kgBW, and 600 mg/kgBW, respectively. The data obtained were analyzed using One Way ANOVA. The results showed that srikaya leaf extract (*Annona squamosa* L.) had antidiarrheal activity with the most optimal dose being 600 mg/KgBW. The antimotility percentage was 54,76%.

Keywords: Antidiarrheal; Srikaya Leaf Extract; Loperamide HCl; Intestinal Transit Method

1. PENDAHULUAN

Diare merupakan penyakit yang ditandai dengan peningkatan frekuensi buang air besar yang tidak normal (lebih dari tiga kali dalam satu hari) serta perubahan konsistensi tinja yang menjadi lebih cair, dengan atau tanpa darah atau lendir (Nurlaila & Susilawati, 2022). Diare masih menjadi salah satu penyebab utama morbiditas dan mortalitas diseluruh dunia yang dapat menyerang semua kelompok usia, namun angka kejadian dan tingkat kematian tertinggi ditemukan pada balita dan anak-anak (Ramadhina *et al.*, 2023). Hal tersebut dilaporkan dalam *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2024, terdapat hampir 1,7 miliar kasus diare diseluruh dunia yang mengakibatkan balita mengalami kematian sebanyak 443.832 kasus setiap tahunnya serta tambahan sebanyak 50.851 anak usia 9 tahun dan merupakan penyebab kematian ketiga pada balita (WHO, 2024).

Di Indonesia, diare merupakan penyakit endemis yang berpotensi menimbulkan Kejadian Luar Biasa (KLB) serta menjadi penyumbang angka kematian pada balita. Berdasarkan data profil kesehatan Indonesia tahun 2023, prevalensi diare pada semua kelompok umur sebesar 2%, pada balita sebesar 4,9% dan pada bayi sebesar 3,9%. Sedangkan cakupan pelayanan penderita diare pada semua umur sebesar 41,5% dan pada balita sebesar 31,7% dari sasaran yang ditetapkan (Kemenkes RI, 2024). Seiring dengan meningkatnya kesadaran masyarakat akan kesehatan, penggunaan obat herbal yang berasal dari tumbuhan dengan cara tradisional dan alami juga semakin berkembang. Hal ini dikarenakan khasiatnya telah terbukti dalam mengobati penyakit, lebih murah, dan efek samping yang lebih kecil (Kumontoy *et al.*, 2023).

Daun srikaya (*Annona squamosa* L.) merupakan salah satu tanaman herbal yang digunakan sebagai obat tradisional. Secara empiris, daun srikaya digunakan sebagai obat diare, dengan cara merebus, dan meminum air hasil rebusan daun srikaya untuk mengatasi diare (Bhattacharya, 2016). Golongan kelompok senyawa aktif yang terkandung dalam daun srikaya antara lain alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid dan terpenoid (Ramonah & Pratiwi, 2022).

Menurut penelitian yang dilakukan Hemamalini *et al.* (2024) menunjukkan bahwa ekstrak metanol tanaman srikaya (*Annona squamosa* L.) dosis 400 mg/kgBB memiliki aktivitas antidiare yang sama dengan obat loperamide hidroklorida. Sementara menurut penelitian Rianto *et al.* (2015) menunjukan ekstrak etanol biji srikaya memiliki aktivitas antidiare terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*, yang merupakan salah satu patogen penyebab diare, dengan hasil diameter zona hambat yang paling optimal sebesar 11,49 mm pada konsentrasi 15%. Hasil skrining fitokimia, mengindikasikan kandungan yang terdapat pada biji srikaya meliputi senyawa alkaloid dan flavonoid. Berdasarkan latar belakang diatas, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antidiare ekstrak daun srikaya dengan



menggunakan metode transit intestinal yang diberikan pada mencit putih jantan. Metode ini merupakan pengukuran gerakan peristaltik usus dengan bantuan *marker*.

2. METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu gelas ukur, mortir dan stamper, *stopwatch*, sonde oral, pisau bedah, pinset bedah, penggaris, *styrofoam*, timbangan mencit, *thermometer*, ayakan mesh nomor 40, pipet tetes, gunting bedah, spuit p.o, spidol, tabung reaksi, *moisture balance*, cawan porselin, corong kaca, *rotary evaporator*, kandang mencit, batang pengaduk, *water bath*, jarum pentul, timbangan analitik, labu ukur, *aluminium foil*, *beaker glass*, sarung tangan.

2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun srikaya yang diperoleh dari Kelurahan Oesao, Kecamatan Kupang Timur, Kabupaten Kupang, Nusa Tenggara Timur, etanol 96%, aquadest, loperamide HCl, Na-CMC 0,5%, oleum ricini, FeCl₃, HCl 2N, pereaksi mayer, pereaksi dragendrof, amil alkohol, serbuk magnesium (Mg), gom arab 20%, karbon adsorben 5%, kloroform.

2.3 Prosedur Penelitian

2.3.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui atau membuktikan kebenaran identitas dari tanaman tersebut, apakah tanaman tersebut benar-benar tanaman yang diinginkan. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Jurusan Biologi, FMIP, Universitas Padjadjaran.

2.3.2 Pembuatan Simplisia

Daun srikaya yang telah dikumpulkan, akan dilakukan sortasi basa yang bertujuan membersihkan sampel dari bahan asing yang tidak dibutuhkan. Dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada daun hingga bersih. Selanjutnya dirajang dan dikeringkan dengan diangin-anginkan tanpa terkena sinar matahari. Setelah kering sampel dibuat serbuk, menggunakan mesin penggiling dan diayak menggunakan ayakan mesh nomor 40 sampai halus merata.

2.3.3 Pembuatan Ekstrak Daun Srikaya

Serbuk simplisia sebanyak 250 gr, dimasukan kedalam botol kaca gelap. Tambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 2,5 liter pada botol kaca yang berisi serbuk simplisia daun srikaya sambil diaduk hingga homogen (perbandingan bahan: pelarut = 1:10). Selanjutnya tutup rapat dengan aluminium foil, tutup lagi dengan penutup botol kaca gelap dan diamankan selama 3 × 24 jam. Pada hari ke tiga, dilakukan penyaringan menggunakan kain flannel dan kertas saring untuk memisahkan filtrat dan residu. Filtrat yang didapat, diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C sehingga menghasilkan ekstrak kental. Selanjutnya dilakukan perhitungan rendemen dengan rumus:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak kental (gr)}}{\text{berat simplisia (gr)}} \times 100\% \quad (1)$$

2.3.4 Uji Bebas Pelarut

Uji bebas pelarut etanol pada ekstrak daun srikaya dapat dilakukan dengan dua metode, yaitu metode esterifikasi dan alkoholmeter.

a. Esterifikasi

Minyak goreng sebanyak 4 ml dimasukkan kedalam kaca arloji. Tambahkan ekstrak daun srikaya sebanyak 0,01 gram pada minyak goreng. Selanjutnya di tambahkan asam sulfat 98% sebanyak 3 tetes, apabila tercium wangi maka ekstrak tersebut masih mengandung pelarut etanol, jika tidak ada aroma harum yang dihasilkan maka ekstrak tidak mengandung etanol dan merupakan ekstrak murni.

b. Alkoholmeter

Ekstrak daun srikaya sebanyak 0,01 gram dilarutkan dengan aquadest 250 ml dalam gelas ukur. Selanjutnya masukan alkoholmeter kedalam gelas ukur tersebut. Alat tersebut dibiarkan mengapung dan amati angka pada alat alkoholmeter.

2.3.5 Analisis Kandungan Fitokimia

a. Uji Alkaloid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak daun srikaya dimasukkan kedalam tabung reaksi, tambahkan dengan 1 ml HCl 2N dan 9 ml aquadest. Selanjutnya panaskan selama 2 menit, didinginkan dan disaring. Filtrat diuji dengan pereaksi mayer dan wagner. Tabung pertama ditambahkan 2 tetes pereaksi mayer yang akan memberikan hasil positif dengan terbentuknya endapan putih kekuningan dan tabung kedua ditambahkan 2 tetes pereaksi wagner yang akan memberikan hasil positif dengan terbentuknya endapan coklat kemerahan (Hanifa *et al.*, 2021).



b. Uji Flavonoid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak daun srikaya dimasukkan kedalam tabung reaksi, tambahkan dengan 10 ml aquadest. Setelah itu panaskan selama 5 menit dan disaring. Filtrat yang diperoleh selanjutnya diambil 5 ml, tambahkan 0,1 gram serbuk Mg dan 1 ml HCl pekat, dikocok hingga memisah. Flavonoid ditunjukkan jika terjadi warna merah, kuning, dan jingga (Hasibuan *et al.*, 2020).

c. Uji Tanin

Sebanyak 0,5 gram ekstrak daun srikaya dimasukkan kedalam tabung reaksi, dilarutkan dengan 10 ml aquadest. 2. Saring menggunakan kertas saring. Filtrat yang diperoleh diambil sebanyak 2 ml. 3. Tambahkan 2 tetes FeCl₃ 1%. Jika terbentuk warna biru atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin (Hasibuan *et al.*, 2020).

d. Uji Saponin

Sebanyak 0,5 gram ekstrak daun srikaya dimasukan kedalam tabung reaksi, tambahkan 10 ml aquadest yang telah dipanaskan. Dinginkan lalu dikocok kuat selama 10 detik. 2. Jika terbentuk busa tidak kurang dari 10 menit setinggi 1 cm, ditambahkan 1 tetes HCl 2N busa tidak hilang menunjukkan adanya saponin (Hasibuan *et al.*, 2020).

2.3.5 Prosedur Uji Antidiare

- Sebanyak 25 ekor mencit dengan berat badan 20-30 gr, dibagi secara acak dalam 5 kelompok dan diberi penomoran, setiap kelompok terdiri dari 5 ekor mencit.
- Sebelum pengujian, mencit diaklimatisasikan selama 7 hari dan dipuasakan terlebih dahulu selama 16-18 jam, namun tetap diberikan air minum.
- Setelah dipuasakan, mencit diinduksi dengan 0,5 ml *oleum ricini* yang dapat menyebabkan diare.
- Satu jam setelah induksi dengan *oleum ricini*, tiap kelompok mencit diberi perlakuan secara peroral, dimana kelompok pertama sebagai kontrol negatif diberi Na-CMC 0,5%, kelompok kedua sebagai kontrol positif diberi loperamide HCl 0,52 mg/kgBB, kelompok ketiga, keempat, dan kelima masing-masing diberi ekstrak daun srikaya dengan dosis 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB dan dosis 600 mg/kgBB.
- Empat puluh lima menit kemudian, semua hewan uji diberikan suspensi *marker* karbon adsorben 5% sebanyak 0,2 ml/20 grBB secara oral.
- Pada menit ke-65, mencit dikorbankan secara eutanasia dan dibedah. Usus dikeluarkan dengan hati-hati, dan rentangkan usus mencit sampai teregang.
- Ukur panjang usus yang dilalui *marker* mulai dari pylorus sampai ujung akhir (bewarna hitam) dan juga panjang seluruh usus dari pylorus sampai rectum dari masing-masing hewan uji, dan dihitung rasio lintasan *marker* dengan rumus (Juliastini *et al.*, 2023):

$$\text{Rasio lintasan marker(\%)} = \frac{\text{panjang usus yang dilewati marker}}{\text{panjang usus keseluruhan}} \times 100\% \quad (2)$$

Rasio antara jarak yang dilalui *marker* terhadap panjang usus keseluruhan, dihitung rata-ratanya untuk setiap kelompok (Ramadhani *et al.*, 2024).

- Hitung efektivitas antidiare dalam menghambat motilitas usus untuk memberikan penilaian pada efektivitas obat antidiare sebagai antimotilitas, dengan menggunakan rumus (Pramitaningastuti & Advistasari, 2019):

$$\text{Penghambatan (\%)} = \frac{\text{Rasio kontrol negatif} - \text{Rasio kelompok perlakuan}}{\text{Rasio kontrol negatif}} \times 100\% \quad (3)$$

2.3.6 Analisis Data

Data hasil penelitian nilai rasio (%) dianalisis secara statistik dengan menggunakan program SPSS. Analisis dimulai dengan uji normalitas yaitu *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas *Levene*, apabila data terdistribusi normal dan homogen, analisis dilanjutkan dengan uji *One Way ANOVA* pada taraf kepercayaan 95% dan dilanjutkan uji *Tukey HSD* untuk mengetahui perbedaan rerata antar kelompok perlakuan.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Determinasi Tanaman

Hasil determinasi tanaman yang dilakukan di Herbarium Jatinangor, Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Jurusan Biologi FMIPA Universitas Padjadjaran menunjukkan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman srikaya (*Annona squamosa* L.). Hasil proses dari ekstraksi daun srikaya dengan berat simplisia sebanyak 250 gram, menghasilkan ekstrak kental sebanyak 42,54 gram dengan nilai rendemen sebesar 17,01%.

3.1.1 Uji Bebas Pelarut

Hasil uji bebas pelarut dengan cara esterifikasi dan alkoholmeter menandakan bahwa ekstrak daun srikaya tidak mengandung pelarut etanol atau diperoleh ekstrak murni.

Tabel 1. Hasil Uji Bebas Pelarut Etanol

No	Perlakuan	Reagen (mL)	Hasil Uji	Simpulan
1.	Esterifikasi	H ₂ SO ₄ + Minyak goreng	Tidak ada aroma wangi	Alkohol (-)
2.	Alkoholmeter	250 ml aquadest	Angka pada alkoholmeter menunjukkan skala 0	Alkohol (-)

3.1.2 Analisis Kandungan Fitokimia

Hasil analisis kandungan fitokimia ekstrak daun srikaya menunjukkan adanya kelompok senyawa alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin.

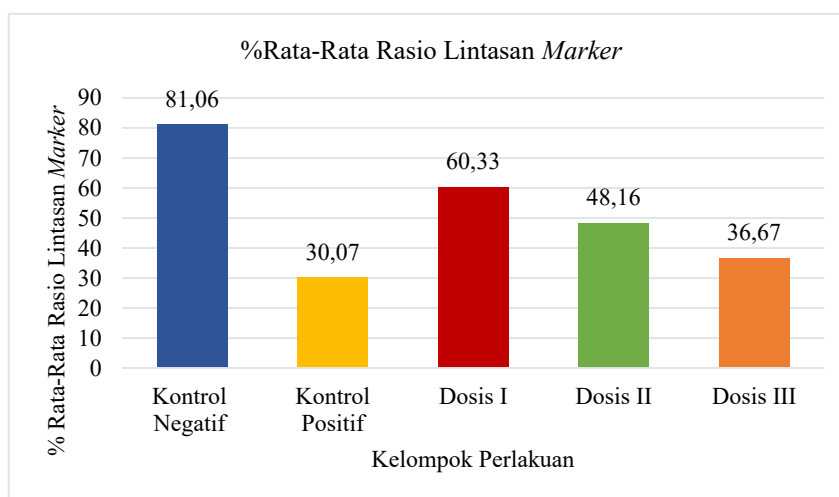
Tabel 2. Hasil Analisis Kandungan Fitokimia

Identifikasi	Pereaksi	Hasil
Alkaloid	HCl 2N + Mayer	(-)
	HCl 2N + Wagner	(+)
Flavonoid	Serbuk magnesium + HCl pekat	(+)
Tanin	FeCl ₃	(+)
Saponin	Aquadest + HCl 2N	(+)

3.1.3 Pengujian Aktivitas Antidiare

Pengujian antidiare ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa* L.) pada mencit putih jantan dilakukan dengan menggunakan metode transit intestinal. Parameter yang diamati adalah nilai rasio usus yang dilalui *marker* terhadap panjang usus keseluruhan.

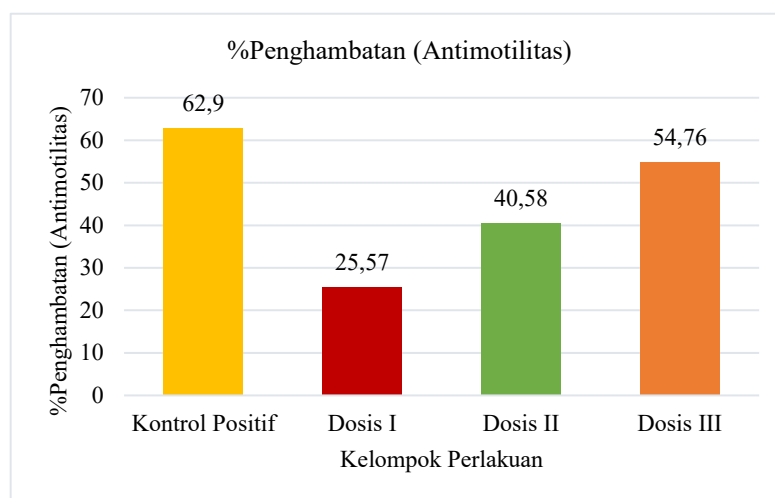
Karbon adsorben berfungsi sebagai indikator dalam mengetahui kecepatan dari motilitas usus mencit, karbon adsorben digunakan sebagai *marker* karena bersifat adsorben yang dapat menempel pada dinding usus dan tidak dapat dicerna. Karbon adsorben juga dapat terlihat dengan jelas dalam usus sehingga tingkat kontraksi usus dapat ditentukan untuk parameter pengamatan dalam metode ini (Ramadhania & Hazar, 2024). Ekstrak daun srikaya menunjukkan aktivitas antidiare jika dapat mengurangi panjang lintasan *marker* karbon adsorben terhadap usus mencit, pergerakan *marker* di dalam usus yang semakin lambat menandakan zat uji memiliki kemampuan yang baik dalam menekan gerakan peristaltik usus, yang mengarah pada tidak terjadinya gejala diare. Sebaliknya jika semakin panjang lintasan *marker* dalam usus maka, semakin kuat gerakan peristaltik usus yang berhubungan dengan diare (Pramitaningastuti & Advistasari, 2019). Hasil pengukuran nilai rasio lintasan *marker* mencit putih jantan dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Diagram rata-rata rasio aktivitas antidiare

Berdasarkan Gambar 1, menunjukkan bahwa rasio lintasan *marker* berkaitan dengan aktivitas antidiare yang dihasilkan. Nilai rasio yang besar menunjukkan jarak lintasan *marker* lebih panjang, sehingga aktivitas antidiare semakin kecil. Sebaliknya, semakin kecil nilai rasio menunjukkan jarak lintasan *marker* lebih pendek yang menandakan aktivitas antidiarenya semakin besar (Ramadhania & Hazar, 2024). Hal ini menunjukkan bahwa kelompok uji ekstrak daun srikaya dengan dosis 200 mg/kg BB, 400 mg/kg BB dan 600 mg/kg BB mempunyai aktivitas antidiare, sehingga menghasilkan nilai persentase rata-rata rasio yang lebih kecil dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (Na-CMC

0,5%), dan pada kelompok uji yang mempunyai aktivitas antidiare paling optimal terdapat pada dosis III (600 mg/kg BB). Hasil yang diperoleh juga sesuai dengan kelompok kontrol positif dengan pemberian (loperamide HCl 0,52 mg/kg BB) dimana pada kelompok ini memiliki nilai persentase rata-rata rasio yang lebih kecil dari pada kelompok kontrol negatif. Pada kelompok uji ekstrak daun srikaya menunjukkan aktivitas antidiare dikarenakan ekstrak daun srikaya memiliki kandungan senyawa mirip dengan loperamide HCl yang berperan dalam menghambat motilitas usus. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh adanya kandungan senyawa tanin dan flavonoid yang tinggi pada daun srikaya. Flavonoid memiliki aktivitas antidiare dengan menghambat aksi asetilkolin melalui penghambatan jalur inositol trifosfat (IP3), jalur ini menyebabkan pelepasan Ca^{2+} dari retikulum endoplasmas, peningkatan Ca^{2+} intraseluler dapat menimbulkan kontraksi otot polos usus (He *et al.*, 2018). Tanin berkaitan dengan efek astringen pada protein mukosa, efek astringen tanin mengacu pada kemampuannya untuk mengendapkan protein pada permukaan mukosa usus yang mengarah pada pembentukan lapisan pelindung pada permukaan epitel yang akan menghambat eksudasi air, akibatnya dapat menormalkan hiperperistaltik (Cziple *et al.*, 2022). Hasil perhitungan persentase penghambatan pergerakan usus dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Persentase Antimotilitas

Persentase penghambatan menunjukkan bahwa kelompok kontrol positif (loperamide HCl 0,52 mg/kg BB) memiliki persentase paling besar yaitu 62,9%. Tingginya nilai tersebut disebabkan obat loperamide HCl merupakan obat kimia yang telah terbukti berkhasiat sebagai antidiare dengan mekanisme sebagai antimotilitas yaitu dapat memperlambat motilitas usus dan memperpanjang waktu transit usus untuk resorpsi air dan elektrolit oleh mukosa usus (Ramadhania & Hazar, 2024). Sementara pada kelompok uji memberikan nilai persentase penghambatan untuk dosis I (200 mg/kg BB) sebesar 25,57%, dosis II (400 mg/kg BB) menunjukkan peningkatan penghambatan sebesar 40,58%, sementara dosis III (600 mg/kg BB) diperoleh nilai penghambatan tertinggi yaitu sebesar 54,76% yang mendekati efek kontrol positif. Hal ini menunjukkan semakin besar persentase penghambatan maka semakin besar juga potensi sebagai antidiare (Pramitaningastuti *et al.*, 2019).

Analisis data dilakukan menggunakan aplikasi (*Statistical Package For The Social Sciences*) dengan dilakukan uji Shapiro-Wilk. Hasil Uji Shapiro-Wilk pada rasio aktivitas antidiare menunjukkan nilai signifikan setiap kelompok adalah $P > 0,05$ yang artinya data yang diperoleh pada setiap kelompok perlakuan terdistribusi normal. Setelah dilakukan uji Shapiro-Wilk, akan dilanjutkan dengan uji homogenitas. Uji ini dilakukan dengan tujuan mengetahui data penelitian memiliki varians yang sama atau homogenitas dan sebagai syarat untuk dilakukan uji ANOVA. Hasil uji homogenitas rasio aktivitas antidiare menunjukkan hasil 0,123 ($P > 0,05$) nilai ini menunjukkan bahwa adanya kesamaan varian dalam satu kelompok perlakuan dan memenuhi syarat untuk dilakukan uji One Way ANOVA. Uji One Way ANOVA dilakukan untuk mengetahui apakah ada perbedaan nilai rata-rata antar kelompok perlakuan. Data dikatakan memiliki perbedaan jika nilai signifikan $P < 0,05$. Hasil uji One Way ANOVA rasio aktivitas antidiare menunjukkan angka signifikan $< 0,05$. Sehingga dapat disimpulkan bahwa setiap kelompok perlakuan memiliki perbedaan bermakna. Untuk mengetahui lebih jelas adanya perbedaan yang signifikan dari masing-masing kelompok perlakuan, dilakukan uji Post hoc dengan teknik Tukey Honestly Significance Diffirence (HSD). Analisis dengan uji Tukey HSD diperoleh hasil uji kelompok kontrol negatif (Na-CMC 0,5%) memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol positif (loperamide HCl), kelompok dosis I (200 mg/kg BB), dosis II (400 mg/kg BB) dan dosis III (600 mg/kg BB). Sementara kelompok kontrol positif (loperamide HCl) memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol negatif (Na-CMC 0,5%), kelompok dosis I (200 mg/kg BB) 92 dan kelompok dosis II (400 mg/kg BB), namun tidak memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok dosis III (600 mg/kg BB). Dosis III tidak memiliki perbedaan signifikan dengan kelompok kontrol positif (loperamide HCl), sehingga dapat disimpulkan bahwa dosis III (600 mg/kg BB) memiliki aktivitas antidiare yang sama dengan kontrol positif (loperamide HCl).



3.2 Pembahasan

3.2.1 Determinasi Tanaman Srikaya

Determinasi dilakukan di Herbarium Jatinangor, Laboratorium Taksonomi Tumbuhan FMIPA Universitas Padjajaran. Hasil No.52/HB/06/2025 menyatakan tanaman yang digunakan adalah srikaya (*Annona squamosa* L.) dengan ciri pohon tinggi 3–6 m, akar tunggang, batang berkayu silindris kasar, percabangan simpodial, daun tunggal berseling ukuran 6–7 × 2,5–7,5 cm, bunga tunggal hijau kekuningan, serta buah bundar 5–10 cm dengan biji coklat tua–hitam ±1,25 cm (Ardisson, 2022: 4–5). Determinasi bertujuan memastikan identitas tanaman sesuai pustaka dan mencegah kesalahan pengambilan sampel (Nugroho et al., 2022: 377).

3.2.2 Pengumpulan Daun Srikaya

Daun dipilih yang segar, tidak terlalu muda atau tua, sebanyak 2000 g, dipanen pukul 07.30–08.30 WITA. Waktu panen memengaruhi kandungan senyawa aktif optimal (Susilowati & Sari, 2023: 202) dan pagi hari dipilih karena metabolit sekunder lebih tinggi saat belum aktif fotosintesis (Akib et al., 2021: 396).

3.2.3 Pembuatan Simplisia Daun Srikaya

Daun disortasi basah, dicuci, dirajang untuk mempercepat pengeringan, lalu dikeringkan dengan diangin-anginkan tanpa sinar matahari langsung guna melindungi senyawa sensitif panas (Emelda, 2019: 57). Setelah sortasi kering, bahan digiling dan diayak mesh 40 agar serbuk homogen. Ukuran partikel memengaruhi ekstraksi: terlalu halus menggumpal, terlalu kasar sulit larut (Maulidah et al., 2022: 960); partikel lebih kecil meningkatkan luas permukaan dan penarikan senyawa aktif (Asworo & Widwastuti, 2023: 257).

3.2.4 Penetapan Kelembapan Serbuk Daun Srikaya

Rata-rata kadar kelembapan 6,26%, memenuhi standar simplisia <10% (Kemenkes RI, 2017). Kadar air tinggi dapat memicu jamur, mikroba, dan pembusukan ekstrak (Samodra et al., 2023: 22).

3.2.5 Pembuatan Ekstrak Daun Srikaya

Ekstraksi menggunakan maserasi karena tanpa pemanasan sehingga zat aktif tidak rusak (Sulistiani & Isworo, 2022: 69). Simplisia direndam etanol 96% rasio 1:10 agar kontak pelarut optimal (Asworo & Widwastuti, 2023: 260), dengan rasio tertentu paling efisien (Fauzan et al., 2020: 21); rasio 1:10 dianggap optimal karena keseimbangan padat-cair (Teresa et al., 2016: 3). Etanol 96% mampu menyari senyawa polar–nonpolar dan mudah menembus sel sehingga ekstrak lebih pekat (Wendersteyt et al., 2021: 709). Filtrat diuapkan dengan rotary evaporator 40°C untuk mencegah kerusakan senyawa (Putri et al., 2023: 204) karena penguapan vakum terjadi di bawah titik didih etanol (Muiz et al., 2021: 87). Diperoleh ekstrak kental 42,54 g dengan rendemen 17,01%, memenuhi syarat ≥10% menurut Farmakope Herbal Indonesia 2017 (Pawarti et al., 2023: 592).

3.2.6 Uji Bebas Pelarut Etanol Ekstrak Daun Srikaya

Uji dilakukan untuk memastikan ekstrak bebas sisa pelarut sehingga aktivitas antidiare berasal dari senyawa bioaktif (Setiyanto & Utami, 2024: 162). Metode esterifikasi menunjukkan tidak ada aroma setelah penambahan H₂SO₄, menandakan tidak ada alkohol; reaksi dipengaruhi konsentrasi ion H⁺ dan asam lemak minyak goreng (Jaya et al., 2019: 2). Metode alkoholmeter menunjukkan skala 0, berarti kadar etanol sangat rendah. Kedua hasil menegaskan ekstrak murni.

1. Analisis Alkaloid

- Reagen Mayer – Penambahan HCl mengekstraksi alkaloid basa menjadi garam alkaloid berendapan putih (Lestari et al., 2024: 59). Hasil menunjukkan ekstrak daun srikaya negatif alkaloid.
- Reagen Wagner – Terbentuk endapan coklat kemerahan menandakan positif alkaloid melalui pembentukan kompleks antara ion iodida dan senyawa reticuline akibat perbedaan keelektronegatifan atom.

2. Analisis Flavonoid

Uji Wilstater sianidin (Mg + HCl) menghasilkan larutan merah menandakan flavonoid positif. Reaksi terjadi karena ion Mg²⁺ berikatan dengan gugus O⁻ dari quersetin membentuk kompleks berwarna.

3. Analisis Tanin

Reagen FeCl₃ menghasilkan warna hijau kehitaman menunjukkan tanin positif. Warna terbentuk dari kompleks antara Fe³⁺ dan ion O⁻ pada asam galat (perbedaan keelektronegatifan O–H).

4. Analisis Saponin

Uji busa menunjukkan busa stabil menandakan saponin positif karena sifat amfifilik (hidrofilik–hidrofobik) (Hasibuan et al., 2020: 46; Lestari et al., 2024: 60). Mekanisme molekuler dijelaskan melalui interaksi gugus asam ursolat dengan air yang menghasilkan gas/busa.

3.2.7 Analisis Aktivitas Ekstrak Daun Srikaya

Uji antidiare dilakukan pada mencit jantan metode transit intestinal dengan parameter rasio lintasan marker karbon terhadap panjang usus. Diare diinduksi oleum ricini yang dihidrolisis menjadi asam risinoleat, meningkatkan



permeabilitas kalsium, prostaglandin, sekresi cairan, kontraksi otot polos, dan peristaltik (Shah et al., 2021: 727; Ajwang et al., 2024: 249). Aktivitas pencabar juga melalui aktivasi reseptor EP3 (Tunaru et al., 2012: 9181).

Perlakuan: kontrol negatif Na-CMC 0,5%; kontrol positif loperamide HCl 0,52 mg/kg BB; dosis ekstrak 200, 400, 600 mg/kg BB. Marker karbon 5% diberikan menit ke-45 dan mencit dieuthanasia kloroform menit ke-65 (Haryanto et al., 2025: 263). Rasio dihitung dari panjang lintasan marker dibanding panjang usus (Juliastini et al., 2023: 1466). Hasil rasio rata-rata:

- a. Kontrol negatif: 81,06%
- b. Kontrol positif: 30,07%
- c. Dosis 200 mg/kg: 60,33%
- d. Dosis 400 mg/kg: 48,16%
- e. Dosis 600 mg/kg: 36,67%

Perbandingan penelitian lain menunjukkan tren sama bahwa rasio lebih kecil = aktivitas antidiare lebih besar (Fauzia et al., 2023: 63; Ramadhania & Hazar, 2024: 72). Semua dosis ekstrak menunjukkan aktivitas antidiare dibanding kontrol negatif, dengan aktivitas optimal pada dosis 600 mg/kg BB. Kontrol negatif memiliki rasio terbesar karena tidak mengandung zat aktif. Kontrol positif efektif karena loperamide mengikat reseptor μ -opioid usus, mengaktifkan protein Gi/o, menghambat adenilat siklase, menurunkan cAMP, membuka kanal K^+ , menurunkan Ca^{2+} intraseluler, menghambat neurotransmitter, dan memperlambat motilitas usus (Bosco et al., 2008: 331; Sobczak et al., 2014: 32).

Ekstrak daun srikaya menunjukkan aktivitas antidiare karena mengandung senyawa bioaktif mirip mekanisme loperamide HCl, yaitu alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin. Alkaloid bekerja melalui aktivasi reseptor μ - dan δ -opioid yang memicu jalur protein G (Gi/Go), menghambat adenilat siklase, menurunkan cAMP, serta menghambat pelepasan asetilkolin dan VIP sehingga sekresi cairan dan kontraksi otot polos usus menurun (Galligan & Sternini, 2017: 3–4). Reticuline sebagai alkaloid berinteraksi dengan gugus $-COOH$ reseptor opioid dan efeknya meningkat seiring dosis.

Flavonoid (quersetin) menghambat kontraksi otot polos usus dengan menekan jalur IP_3 sehingga pelepasan Ca^{2+} berkurang (He et al., 2018: 8); gugus $-OH$ dan $-CO$ berikatan dengan gugus fosfat IP_3 dan efek meningkat dengan dosis. Tanin (asam galat) menghasilkan efek astringen melalui ikatan hidrogen dengan protein mukosa, membentuk lapisan pelindung epitel yang menekan kehilangan cairan dan menormalkan peristaltik (Cziple et al., 2022: 17–18). Saponin (asam ursolat) bekerja dengan menghambat histamin dan jalur NF- κ B sehingga inflamasi usus menurun (Husein et al., 2024: 463; Cao et al., 2024: 10); efek meningkat dengan jumlah gugus $-COOH$ aktif.

Persentase penghambatan motilitas usus menunjukkan kontrol positif loperamide HCl tertinggi (62,9%) karena mekanisme antimotilitas yang memperlambat transit usus dan meningkatkan absorpsi cairan (Ramadhania & Hazar, 2024: 72). Kelompok uji menunjukkan peningkatan efek seiring dosis: 200 mg/kg (25,57%), 400 mg/kg (40,58%), dan 600 mg/kg (54,76%), dengan dosis tertinggi mendekati kontrol positif (Pramitaningastuti et al., 2019: 8). Hasil penelitian pembandingan menunjukkan pola serupa dengan nilai penghambatan meningkat sesuai dosis.

Data dianalisis dengan SPSS 22. Uji Shapiro-Wilk menunjukkan distribusi normal ($P>0,05$). Uji homogenitas menghasilkan 0,123 ($P>0,05$) sehingga varians homogen dan memenuhi syarat ANOVA. Uji One Way ANOVA menunjukkan perbedaan signifikan antar kelompok ($P<0,05$). Uji lanjut Tukey HSD menunjukkan kontrol negatif berbeda signifikan dengan semua kelompok, kontrol positif berbeda signifikan dengan kontrol negatif serta dosis I dan II tetapi tidak dengan dosis III. Artinya, dosis 600 mg/kg BB memiliki aktivitas antidiare setara kontrol positif loperamide HCl.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa* L.) memiliki aktivitas antidiare pada mencit putih jantan dengan dosis ekstrak daun srikaya (*Annona squamosa* L.) yang memberikan efek antidiare paling baik terdapat pada dosis III yaitu 600 mg/kg BB dengan nilai persentase rasio lintasan marker 36,67% dan persentase penghambatan sebesar 54,75%.

REFERENCES

- Bhattacharya, A., & Chakraverty, R. (2016). The pharmacological properties of *Annona squamosa* Linn: A Review. *International Journal of Pharmacy and Engineering* [A.Bhattacharja. et. Al, 4(2), 692–699.
- Cziple, S., Bittner Fialova, S., Toth, J., Mucaji, P., Nagy, M., & Oemonom. (2022). Treatment of gastrointestinal disorders Plants and potential mechanisms of action of their constituents. *Molecules*, 27(9), 2881.
- Hasibuan, A. S., Edrianto, V., & Purba, N. (2020). Skrining fitokimia ekstrak etanol umbi bawang merah (*Allium cepa* L.). *Jurnal Farmasimed (JFM)*, 2(2), 45–49.
- He, W., Li, Y., Liu, M., Yu, H., Chen, Q., Chen, Y., & Wang, T. (2018). Citrus aurantium L. and its flavonoids regulate TNBS-induced inflammatory bowel disease through anti-inflammation and suppressing isolated jejunum contraction. *International journal of molecular sciences*, 19(10), 3057.



- Hemamalini, D. K., Palle, D. S., Pavithra, A., Pallavi, P., Navadeep, M., & Harshavardan, E. (2024). Anti-Diarrheal Activity of Whole Plant of *Annona Squamosa*. *Futuristic Trends in Pharmacy & Nursing* Volume 3 Book 5, 3, 45-49.
- Juliastini, R., Saputri, G. A. R., & Feladita, N. (2023). Uji Efek Antidiare Ekstrak Etanol Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) Metode Transit Intestinal Dengan Metode Proteksi. *Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan*, 10(2), 1464-1470.
- Kemkes RI. (2024). *Profil Kesehatan Indonesia 2023*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Kumontoy, G. D., Deeng, K., & Mulianti, T. (2023). Pemanfaatan Tanaman Herbal Sebagai Obat Tradisional Untuk Kesehatan Masyarakat Di Desa Guaan Kecamatan Mooat Kabupaten Bolaang Mongondow Timur. *HOLISTIK, Jurnal Sosial dan Budaya*. 16(3),1-16.
- Nurlaila & Susilawati. (2022). Pengaruh kesehatan lingkungan terhadap kejadian diare pada balita di Kota Medan. *Nautical: Jurnal Ilmiah Multidisiplin Indonesia*, 1(7), 463–466.
- Pramitaningastuti, A. S., & Advistasari, Y. D. P. (2019). Uji Aktivitas Antidiare Ekstrak Etanol Kulit Buah Mlinjo (*Gnetum Gnemon* L.) pada Mencit Jantan Galur Swiss. *Jurnal Farmasi & Sains Indonesia*, 2(1), 6-10.
- Ramadhania, S., Lestari, F., & Hazar, S. (2024). Uji Aktivitas Antidiare Ekstrak Etanol Daun Jambu Bol terhadap Mencit Swiss Webster Jantan. *Jurnal Riset Farmasi*, 67-74.
- Ramadhina, F. M., Immawati, I., & Fitri, N. L. (2023). Penerapan Pendidikan Kesehatan Penatalaksanaan Diare Pada Anak Prasekolah (3-6 Tahun) Di Wilayah Kerja UPTD Puskesmas Rawat Inap Banjarsari Metro Utara. *Jurnal Cendikia Muda*, 3(3), 347-354.
- Ramonah, D., & Pratiwi, A, D. (2022). Uji Aktivitas Antijamur Sediaan Obat Kumur Ekstrak Daun Srikaya (*Annona Squamosa* L.) Terhadap Pertumbuhan *Candida Albicans*. *Media Farmasi Indonesia*, 17(2), 56–61.
- Rianto, L., Handayani, I. A., & Septiyani, A. (2015). Uji aktivitas ekstrak etanol 96% biji srikaya (*annona squamosa* l.) Sebagai antidiare yang disebabkan oleh bakteri *Shigella dysenteriae* dengan metode difusi cakram. *Jurnal Ilmiah Manuntung: Sains Farmasi Dan Kesehatan*, 1(2), 181-186.