

PENGUJIAN MUTU DAN PENETAPAN KADAR FILANTIN PADA EKSTRAK ETANOL HERBA MENIRAN (*PHYLLANTHUS NIRURI* LINN)

Sukmayati Alegantina¹, Herni Asih Setyorini¹, Triwahyuni¹

Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan
Jl. Percetakan Negara No. 23 Jakarta 10560 Indonesia
email: alegantina@yahoo.com

QUALITY ASSAY AND QUANTITATIVE DETERMINATION OF PHYLLANTHIN FROM ETHANOLIC EXTRACT IN MENIRAN HERBS (*PHYLLANTHUS NIRURI* LINN)

Abstract

Meniran (Phyllanthus niruri Linn.) is one of the Indonesian medicinal plant that has long been used by generations for the treatment of various diseases. According to the results of previous research is mentioned that meniran efficacious as antimicrobial, anticancers, improves blood sugar level, lipid profile, liver and kidney function. Meniran contains alkaloids, flavonoids, phenols, coumarins, tannins, terpenoids, and lignans (phyllanthin and hypophyllanthin). To maintain the traditional medicine preparations remain standardized, it is necessary to test the quality extract and phyllanthin assay. Meniran herbs is derived from the Indonesian Spice and Medicinal Crops Research Institute (ISMCR), Bogor. The herbs were extracted by maceration using 70% ethanolic solvent. Testing was conducted on the quality testing preceded with the phytochemical screening, extract testing and phyllanthin assay by Thin Layer Chromatography (TLC) densitometry. The result of this research will be used for the next antitumor research. Phytochemical screening showed that meniran herbs contains tannins, steroids, flavonoids and alkaloids. The test results of meniran extract have met the requirements of Indonesian Herbal Pharmacopeia. The phyllanthin content in the 70% ethanolic extract of meniran herbs is 0,864%.

Keyword : Quality of extract, Phyllanthin content, Phyllanthus niruri Linn

Abstrak

Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.) merupakan salah satu tumbuhan obat Indonesia yang telah lama digunakan secara turun-temurun untuk pengobatan berbagai penyakit. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya disebutkan meniran berkhasiat sebagai antimikroba, antikanker, memperbaiki kadar gula darah, profil lipid, fungsi hati dan ginjal. Meniran mengandung alkaloid, flavonoid, fenol, kumarin, tanin, terpenoid, dan lignan (*filantin* dan *hipofilantin*). Untuk menjaga sediaan obat tradisional tetap terstandar, maka perlu dilakukan pengujian ekstrak dan penetapan kadar filantin. Simplisia herba meniran yang digunakan berasal dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro), Bogor. Simplisia diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Pengujian yang dilakukan meliputi pengujian mutu yang didahului dengan skrining fitokimia, pengujian ekstrak dan penetapan kadar filantin secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT) densitometri. Hasil dari penelitian ini akan digunakan untuk penelitian antitumor selanjutnya. Skrining fitokimia menunjukkan bahwa herba meniran mengandung tanin, steroid, flavonoid dan alkaloid. Hasil pengujian ekstrak meniran telah memenuhi persyaratan Farmakope Herbal Indonesia. Kadar filantin dalam ekstrak etanol 70% herba meniran adalah 0,864%.

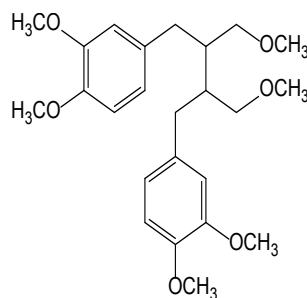
Kata kunci : Mutu ekstrak, kadar filantin, *Phyllanthus niruri* Linn

PENDAHULUAN

Meniran termasuk genus *Phyllanthus* (*Euphorbiaceae*) mengandung 750-800 spesies yang ditemukan didaerah tropis dan subtropis diseluruh dunia. Sejumlah spesies telah dilaporkan memiliki sejarah panjang dalam dunia kedokteran. Salah satu spesies *P. niruri* genus *phyllanthus* yaitu meniran (*Phyllanthus niruri* Linn).¹ Meniran merupakan salah satu tumbuhan obat Indonesia yang telah lama digunakan secara turun-temurun untuk pengobatan berbagai penyakit. Ekstrak etanol herba meniran dapat digunakan sebagai antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan terhadap *Candida albicans* ATCC 10231.² Selain itu ekstrak meniran juga dapat memperbaiki kadar gula darah, profil lipid, fungsi hepar dan ginjal akibat diabetes melitus yang dibuat dengan cara disuntik secara intra peritoneal dengan aloxan monohidrat.³ Ekstrak meniran juga digunakan sebagai antivirus untuk menghambat *Human Immunodeficiency Virus* (HIV).⁴ Dalam skala laboratorium (*in vitro*) dapat pula digunakan untuk kanker paru, kanker liver dan leukimia.^{5,6} Ekstrak *P. niruri* menunjukkan aktivitas yang signifikan sebagai antitumor.⁷

Meniran mengandung alkaloid, flavonoid, fenol, kumarin, tanin, terpenoid, lignan (*filantin* dan *hipofilantin*).⁸ Sejauh ini kualitas meniran ditentukan berdasarkan kandungan senyawa penanda tunggal dari golongan lignan. Tanin akan mengendapkan protein pada gelatin.^{13,9} Senyawa lignan sendiri merupakan senyawa golongan polifenol alam yang secara biosintesis termasuk kedalam senyawa turunan asam amino protein aromatik, yaitu *fenilalanin* dan *fenilpropanoid*. Golongan senyawa ini merupakan struktur dasar pembentuk lignan dan juga berkaitan dengan pengaturan tumbuh dan pertahanan diri tanaman terhadap penyakit. Filantin dan hipofilantin telah terbukti sebagai antihepatotoksik terhadap karbon tetraklorida.¹⁰

Lignan utama dari genus *Phyllanthus* adalah filantin dan hipofilantin. Keberadaan filantin dapat digunakan sebagai senyawa identitas dalam menganalisis ekstrak kental herba meniran.¹¹ Struktur filantin dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Filantin (3,3',4,4',9,9'-Hex-methoylignan)

Begitu pentingnya meniran dalam pengobatan menjadikan mutu, keamanan dan kemanfaatannya perlu dikembangkan melalui penelitian. Untuk mengetahui mutu ekstrak etanol herba meniran perlu dilakukan skrining fitokimia. Skrining merupakan tahap pendahuluan dalam suatu penelitian fitokimia dengan tujuan mendapatkan gambaran golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman.^{12,13} Pengujian ekstrak dilakukan berdasarkan buku Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat yang dikeluarkan oleh Badan POM tahun 2000.¹³ Untuk mengetahui kadarnya dalam ekstrak herba meniran. Dimana filantin telah terbukti sebagai senyawa yang berkhasiat.¹⁰

Metode

Penelitian ini menggunakan desain penelitian potong lintang dengan jenis penelitian eksperimen laboratorium. Pelaksanaan penelitian dilakukan di Laboratorium Farmasi Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Jakarta pada tahun 2012.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan

Bahan Penelitian ini menggunakan sampel simplisia herba meniran dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro), Bogor. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *etanol* (Merck), *metanol* (Merck), *toluen* (Merck), *kloroform* (Merck), *pereaksi Mayer*, *pereaksi Dragendorf*, *pereaksi Wagner*, standar filantin yang berasal dari United State

Pharmacopeia (USP) Rockville Cat no. 1536509 dengan kadar kemurnian 100%.

Alat

Peralatan yang digunakan adalah plat Kromatografi Lapis Tipis (KLT) silica gel 60 GF 254 (Merck), Densitometer (Camag), lampu uv (Camag), *rotary evaporator* (Buchi), *vacuum rotary evaporator* (Buchi), *shaker* (Thermo Scientific), oven (Mettler), furnace, timbangan analitis (Sartorius), *chamber*, dan peralatan gelas lainnya.

CARA KERJA

Pada tahap pertama dilakukan persiapan sampel, dilanjutkan identifikasi kandungan kimia pada herba meniran dengan cara skrining fitokimia. Selanjutnya dilakukan pembuatan ekstrak etanol herba meniran, pengujian ekstrak secara non spesifik dan spesifik serta penetapan kadar filantin.

I. Persiapan sampel

A. Pembuatan serbuk

Simplisia herba meniran dibersihkan terlebih dahulu dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Simplisia yang sudah kering dihaluskan dengan blender.

B. Pembuatan ekstrak (rendemen ekstrak)⁷

Serbuk simplisia ditimbang sejumlah 2000g, kemudian dilakukan proses ekstraksi dengan cara maserasi. Maserasi dilakukan menggunakan pelarut etanol 70% selama 2 x 24 jam sambil sekali-sekali dikocok. Maserat yang diperoleh disaring dan residu dilarutkan kembali dengan pelarut etanol 70% secara berulang sampai tersari sempurna. Maserat dikumpulkan dalam labu bulat untuk dirotavapor sehingga diperoleh ekstrak cair. Ekstrak hasil rotavapor dipindahkan ke cawan penguap dan dipanaskan pada waterbath sampai diperoleh ekstrak kental. Rendemen ekstrak dihitung berdasarkan perbandingan ekstrak yang diperoleh terhadap

berat simplisia yang ditimbang.

II. Skrining fitokimia.¹²

Skrining fitokimia dilakukan dari serbuk simplisia herba meniran, meliputi pengujian tanin, saponin, steroid, triterpenoid, flavonoid dan alkaloid.

III. Pengujian ekstrak.¹³

Ekstrak etanol herba meniran dilakukan pengujian non spesifik dan pengujian spesifik, Pengujian non spesifik terdiri dari penetapan susut pengeringan, kadar air, kadar abu dan kadar abu tidak larut asam. Pengujian spesifik meliputi penetapan kadar senyawa larut dalam air dan penetapan kadar senyawa larut dalam etanol

IV. Penetapan kadar filantin.¹⁴

1. Pembuatan larutan standar

Standar filantin ditimbang sebanyak 2,5 mg, kemudian dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 25 ml. Konsentrasi filantin setara dengan 0,1mg/ml.

2. Pembuatan larutan sampel

Sebanyak 100 mg ekstrak etanol herba meniran dilarutkan dengan etanol dalam labu takar 10 ml.

3. Penetapan kadar Filantin secara KLT densitometri

Larutan standar filantin dan sampel ditotolkan pada plat silika gel 60 GF₂₅₄, kemudian diekuasi dalam chamber berisi larutan jenuh kloroform : metanol = 9 : 1. Plat yang telah diekuasi dikeluarkan dan dikeringkan dalam suhu ruangan. Konsentrasi filantin dalam sampel ditentukan dengan alat Densitometer pada panjang gelombang maksimal 250 nm, dan dihitung menggunakan rumus:

% Filantin dalam sampel =

$$\frac{\text{Luas Area Sampel}}{\text{Luas Area Standar}} \times \frac{[\text{Standar}]}{[\text{Sampel}]} \times \frac{\text{Vol totalan Standar}}{\text{Vol totalan Sampel}} \times 100 \%$$

HASIL

I. Rendemen ekstrak

Rendemen dihitung berdasarkan berat akhir setelah ekstraksi selesai dilakukan dibandingkan terhadap berat simplisia yang diekstraksi. Hasil ekstraksi herba meniran diperoleh ekstrak etanol seberat 160,80g dari 2000g serbuk simplisia. Dari perhitungan diperoleh rendemen ekstrak etanol meniran sebesar 8,04%.

II. Skrining fitokimia

Untuk mengetahui kandungan kimia yang terdapat dalam herba meniran dilakukan skrining fitokimia serbuk simplisia herba meniran yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Skrining fitokimia simplisia herba meniran

No.	Penapisan Fitokimia	Hasil	Warna
1.	Tanin	+	Hitam kehijauan
2.	Saponin	-	Tidak terbentuk busa
3.	Steroid	+	Biru
4.	Triterpenoid	-	Hijau
5.	Flavonoid	+	Merah tua
6.	Alkaloid	+	Endapan putih

III. Pengujian ekstrak

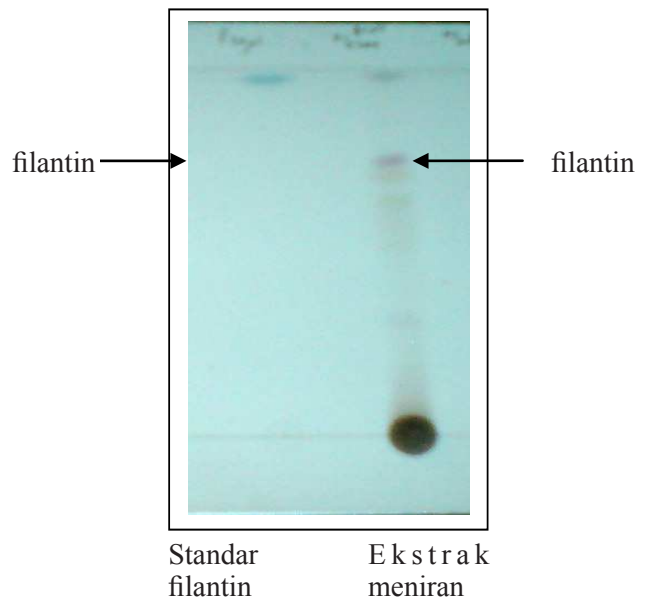
Hasil pengujian ekstrak etanol herba meniran dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Pengujian ekstrak etanol 70% herba meniran

No.	Parameter Uji	Ekstrak dalam etanol 70% (%)	Farmakope Herbal ekstrak dalam etanol 15 (%)
1.	Susut pengeringan	9,50	-
2.	Kadar air	3,07	< 17
3.	Kadar abu	3,32	< 3,5
4.	Kadar abu tidak larut asam	0,77	< 1,5
5.	Kadar senyawa larut dalam air	4,48	-
6.	Kadar senyawa larut dalam etanol	68,55	-

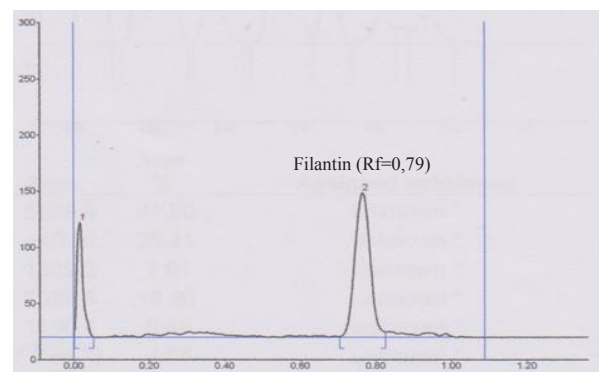
IV. Penetapan Kadar filantin

Identifikasi filantin dalam ekstrak etanol meniran menggunakan KLT dengan eluen yang tepat. Eluen yang digunakan adalah perbandingan eluen kloroform : metanol = 9 : 1. Hasil KLT dilihat dibawah lampu UV pada panjang gelombang 254 nm, terlihat bercak dari ekstrak meniran sejajar dengan bercak standar filantin (Gambar 2). Pemisahan komponen dengan KLT dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain suhu ruang, kejenuhan uap pereaksi, ketebalan fase diam dan cara penotolan.

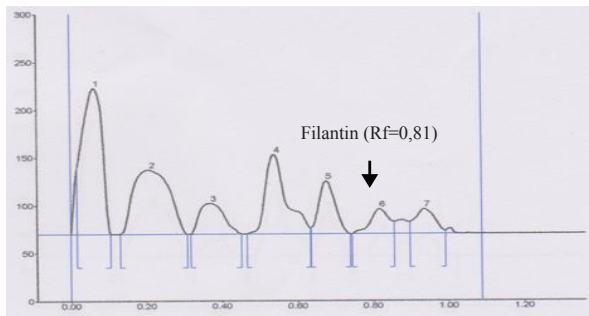


Gambar 2. KLT standar filantin dan ekstrak meniran pada panjang gelombang 254 nm

Pengukuran kadar filantin menggunakan densitometer pada panjang gelombang 250 nm memberikan kromatogram standar filantin dan kromatogram ekstrak etanol meniran yang dapat dilihat di bawah ini:



Gambar 3. Kromatogram standar filantin



Gambar 4. Kromatogram ekstrak meniran

Tanda panah pada puncak no.6 kromatogram ekstrak meniran (Gambar 4) menunjukkan nilai Rf yang hampir sama dengan Rf pada kromatogram Filantin (Gambar 3). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak meniran mengandung senyawa filantin. Kadar filantin dalam ekstrak meniran dihitung berdasarkan perbandingan luas area antara standar dan sampel dengan hasil tertera pada Tabel 3.

Tabel 3. Penetapan kadar filantin dalam ekstrak etanol 70% herba meniran pada α 250 nm

No.	Bahan	Volume totalan (μ L)	Luas Area	Kadar Filantin dalam ekstrak herba meniran
1	Ekstrak Herba Meniran	20	805,2	0,864 %
2.	Standar Filantin	30	3346	

Kadar filantin dalam ekstrak etanol 70% herba meniran (*Phyllanthus niruri* Linn) diperoleh dari perbandingan pengukuran luas area dan volume penotolan, sehingga didapat 0,864%.

PEMBAHASAN

Skrining fitokimia merupakan uji kualitatif untuk mengetahui senyawa yang terkandung dalam suatu bahan.¹² Hasil skrining dalam penelitian ini menunjukkan herba meniran (*P.niruri* Linn) mengandung senyawa tanin, steroid, alkaloid dan flavonoid. Dari uji tanin diperoleh hasil positif. Golongan tanin merupakan senyawa fenolik yang cenderung larut dalam air dan pelarut polar, tanin bereaksi dengan gelatin membentuk kopomiler mantap yang tidak larut dalam air.^{12,13} Senyawa flavonoid merupakan senyawa yang dapat berperan sebagai antibakteri, antioksidan dan antivirus.^{2,4} Flavonoid dan lignan masuk ke dalam golongan polifenol.⁸ Berdasarkan hasil skrining diketahui herba meniran mengandung flavonoid, sehingga dapat diambil kesimpulan bahwa meniran mengandung senyawa polifenol, dimana senyawa lignan termasuk didalamnya. Senyawa golongan lignan yaitu filantin dapat diketahui keberadaannya dari hasil penetapan kadar .

Hasil pengujian mutu ekstrak secara karakteristik non spesifik pada pengukuran kadar air mempunyai kandungan air (3,07%), jauh lebih rendah dibandingkan yang dipersyaratkan dalam Farmakope Herbal Indonesia (\leq 17%). Secara teori, ekstraksi dengan pelarut yang lebih polar akan menghasilkan ekstrak dengan kadar air lebih

besar dibanding pelarut yang lebih nonpolar karena mengandung lebih banyak air di dalamnya.^{12,13} Selain itu, kadar air yang rendah dikarenakan proses pengeringan simplisia yang baik. Pada penelitian ini dihasilkan kadar air yang rendah, kemungkinan karena proses pengeringan yang baik. Kadar air yang rendah dalam ekstrak akan membuat ekstrak lebih tahan terhadap pertumbuhan jamur, dimana jamur mudah tumbuh pada tempat yang banyak mengandung air.

Dalam FHI disebutkan bahwa ekstrak kental herba meniran (*P.niruri* Linn) mempunyai kadar abu tidak lebih dari 3,5% dan kadar abu tidak larut asam tidak lebih dari 1,5%.¹⁵ Kadar abu yang diperoleh terkait dengan kemurnian dan kontaminasi.¹² Pada penelitian ini kadar abu dan kadar abu tidak larut asam telah memenuhi persyaratan FHI. Nilai kadar abu dan kadar abu tidak larut asam yang rendah pada penelitian ini menandakan proses awal dari mulai pengeringan simplisia hingga menjadi ekstrak telah dilakukan dengan baik.

Dalam FHI rendemen ekstrak etanol P (96%) dari herba meniran tidak kurang dari 26,7%. Rendemen ekstrak etanol 70% herba meniran pada penelitian ini lebih kecil (8,04%), dikarenakan perbedaan konsentrasi dari pelarut yang digunakan. Selain itu, jenis pelarut dan ukuran partikel juga mempengaruhi kelarutan senyawa dalam proses ekstraksi.^{12,13} Semakin besar jumlah pelarut maka semakin besar pula laju ekstraksi berarti semakin besar senyawa yang tersari. Semakin kecil ukuran partikel dari herba yang digunakan, maka semakin besar laju ekstraksi, sehingga rendemen yang

dihasilkan akan semakin besar.^{12,13} Penggunaan pelarut etanol 70% dalam penelitian ini mengacu pada penelitian sebelumnya.⁷

Susut pengeringan identik dengan kadar air, dimana susut pengeringan menggambarkan kandungan air yang berada dalam ekstrak. Dalam ekstrak meniran nilai susut pengeringannya lebih besar dari kadar air berarti selain air, minyak atsiri yang terkandung dalam ekstrak juga ikut menguap pada suhu 105°C.

Pada penelitian ini kadar filantin dalam ekstrak etanol 70% herba meniran (*Phyllanthus niruri* Linn) adalah 0,864%. Hasil yang diperoleh tidak jauh berbeda dengan kadar filantin dari species *Phyllanthus amarus* yang dilakukan oleh Sane, yaitu 0,858%.¹⁶ Senyawa yang terdapat dari masing-masing tanaman sangat dipengaruhi oleh letak geografis tempat tumbuh, species, waktu panen, bagian tanaman yang dipakai dan persiapan sampel.¹⁷ Selain itu perlakuan tanaman juga mempengaruhi kandungan senyawa dalam suatu tanaman, seperti yang disebutkan dari hasil penelitian Oktavani bahwa kandungan filantin pada meniran yang diberi naungan 50% akan meningkatkan pembentukan filantin.¹⁷

Data filantin yang diperoleh dari penelitian ini dapat digunakan untuk penelitian preklinis dalam penentuan dosis, disesuaikan dengan kadar filantin yang didapat dalam ekstrak. Untuk memperoleh kadar filantin yang optimal perlu dilakukan pengujian ekstraksi menggunakan variasi perbandingan pelarut.

KESIMPULAN

Kadar filantin yang terkandung dalam ekstrak etanol 70% herba meniran sebesar 0,864% . Perlu dilakukan variasi pelarut dalam proses ekstraksi herba meniran untuk mendapatkan kadar filantin yang optimal dalam ekstrak etanol herba meniran.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kami ucapkan kepada Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Balitbangkes Kemenkes RI yang memberikan anggaran sehingga penelitian ini terlaksana.

DAFTAR RUJUKAN

1. David J. Mabberley. Mabberley's Plant-Book. third edition . 2008. Cambridge University Press
2. Mangunwardoyo W, Cahyaningsih E, Usia T. Ekstraksi dan Identifikasi senyawa antimikroba herba meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.), Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia. September 2009;7(2):57-63
3. Munish G, Chancel G. Effect of *Phyllanthus*

4. Naik AD, Juvekar AR. Effects of alkaloidal extract of *Phyllanthus niruri* on HIV replication. *Ind J Med Sci*, 2003;57:387-93.
5. Munjrekar, A.P., et al. Effect of *Phyllanthus niruri* Linn. treatment on liver, kidney and testes in CCl₄ induced hepatotoxic rats, *Indian J. Exp. Biol.* 2008. 46, 514-520
6. Huang ST, Pang JH, Yang RC. Review Article. Anti-cancer Effects of *Phyllanthus urinaria* and Relevant Mechanisms. *Chang Gung Med J.*2010;33:477-87.
7. Sharma P, Parmar J, Verma P, Anti-tumor activity of *Phyllanthus niruri* (amedicinal plant) on chemical-induced skin carcinogenesis in Mice. *Asian Pacific Journal of CancerPrevention.*2009;10:1089-1094
8. Elfahmi, et al. Lignans from cell suspension cultures of *Phyllanthus niruri*, an Indonesian medicinal plant. *Journal of Natural Products.*2006;69: 55-58
9. Murugaiyah, V. Phytochemical, pharmacological, and pharmacokinetic studies of *Phyllanthus niruri* Linn. Lignans as potential antihyperuricemic agents Thesis. Malaysia: University Saint Malaysia. 2008. 306p
10. Syamsunder KV, Singh B, Thakur RS, Husain A, Kiso Y, Hikino H. Antihepatotoxic principles of *Phyllanthus niruri* herbs. *Jurnal Ethnopharmacol.* 1985Sept; 14(1):41-44
11. BPOM, RI. Monografi ekstrak tumbuhan obat Indonesia. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. Jakarta. 2004. Vol. 1:67-70.
12. Ditjen POM, Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat, Jakarta Departemen Kesehatan, Republik Indonesia. 2000
13. Harborne, J. Metode fitokimia: Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan. Cetakan kedua. Penerjemah: Padmawinata, K. dan I. Soediro. Penerbit ITB Bandung 1996
14. Annamalai, A., Lakshmi, P.T.H. HPTLC and HPLC analysis of bioactive *Phyllanthin* from different organs of *Phyllanthus amarus*. *Asian Jurnal of Biotechnology.* 2009 *Knowledgia Review, Malaysia* 2009;1(4):154-162
15. Dep Kes RI. Farmakope Herbal Indonesia. Edisi I. Jakarta.2008
16. Sane, RT, Chawla JL, Kuber VV. Study on *Phyllanthus amarus* Part-1. *Indian Drugs.*1997;4:580-584
17. Oktavani E, et al. Pertumbuhan tanaman dan kandungan total filantin dan hipofilantin aksesi meniran (*Phyllanthus* sp. L) pada berbagai tingkat naungan . *Jurnal Littri* Maret 2011;17(1):25 – 31