JURNAL ILMU KEFARMASIAN INDONESIA, September 2010, hlm. 69-73 Vol. 8, No. 2
ISSN 1693-1831, AKREDITASI No. 167/DIKTI/KEP/2007

# Pengaruh Rasio Campuran Etanol-Air sebagai Pelarut Ekstraksi terhadap Mutu Ekstrak Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.)

# (Effect of Etanol-Water Ratio as Extraction Solvent towards the Quality of Meniran Herb Extract (*Phyllanthus niruri* Linn.))

HARRISUL RIVAI*, HAZLI NURDIN, HAMZAR SUYANI, AMIN BAKTIAR

**Fakultas Farmasi Universitas Andalas, Padang**

**Diterima 3 Desember 2009, Disetujui 21 Februari 2010**

**Abstrak:** Telah dilakukan penelitian mengenai pengaruh perbandingan etanol-air sebagai pelarut ekstraksi terhadap perolehan kadar bahan terekstraksi, senyawa fenolat dan aktivitas antioksidan dalam herba meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.). Perbandingan etanol-air yang diuji adalah 100:0, 80:20, 70:30, 60:40 dan 50:50. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perbandingan etanol-air memberikan pengaruh yang nyata terhadap perolehan bahan terekstraksi, kadar senyawa fenolat dan aktivitas antioksidan ($p<0,05$). Di antara perbandingan etanol-air yang diuji, hasil yang terbaik ditunjukkan oleh perbandingan etanol-air 60:40 sebagai pelarut ekstraksi untuk herba meniran guna memperoleh senyawa fenolat terbanyak yang berkhasiat antioksidan.

**Kata kunci:** antioksidan, *Phyllanthus niruri* Linn., ekstraksi, rasio etanol-air, senyawa fenolat.

**Abstract:**
Effects of ratios of ethanol-water as extracting solvent in obtaining extractable material, phenolic compounds and antioxidant activity from the herb of Phyllanthus niruri Linn. have been investigated. The ratios tested were 100:0, 80:20, 70:30, 60:40 and 50:50. The results revealed that the ratio of ethanol-water used gave significant effect on extractable material, phenolic compounds and antioxidant activity ($p<0.05$). Among the ratios tested, the best result was obtained by ethanol-water of 60:40 as extracting solvent for the herb of Phyllanthus niruri Linn. to obtain phenolic compound which has antioxidant activity.

**Keywords:** antioxidant, *Phyllanthus niruri* Linn., extraction, ethanol to water ratio, phenolic compounds.

## PENDAHULUAN

MENIRAN (*Phyllanthus niruri* Linn.) adalah salah satu tumbuhan obat Indonesia yang telah lama digunakan secara turun-temurun untuk pengobatan berbagai penyakit sebagai diuretik, ekspektoran dan pelancar haid[1]. Herba meniran telah terbukti mempunyai berbagai efek farmakologis, antara lain dapat menghambat pertumbuhan virus hepatitis B dan virus HIV[2,3], hepatoprotektif[4,5,6,7], penghambat terbentuknya batu ginjal[8], antidiabetes[9] dan antioksidan[10].

Efek farmakologis tersebut disebabkan oleh berbagai kandungan kimia dalam herba meniran, seperti senyawa filantin, hipofilantin dan kalium[11]. Selain itu, berbagai kajian fitokimia telah menemukan kandungan kimia herba meniran yang lebih rinci, antara lain golongan flavonoid, alkaloid, terpenoid, lignan, polifenol, tanin, kumarin dan saponin[12].

Karena pentingnya meniran dalam pengobatan, maka mutu, keamanan dan kemaanfaatannya harus ditingkatkan melalui penelitian dan pengembangan. Untuk meningkat mutu, keamanan dan kemanfaatan meniran sebagai obat bahan alam Indonesia, perlu

* Penulis korespondensi, HP. 081363049858
e-mail: harrizul@yahoo.co.id

dilakukan standardisasi terhadap bahan bakunya, baik yang berupa simplisia maupun yang berbentuk ekstrak atau sediaan galenik. Salah satu faktor yang mempengaruhi mutu ekstrak tumbuhan obat adalah konsentrasi pelarut yang digunakan untuk ekstraksi[13]. Pelarut yang dapat digunakan untuk membuat ekstrak herba meniran adalah campuran etanol dan air[14]. Namun perbandingan pelarut organik dan air untuk ekstraksi belum dioptimasi. Karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk menentukan perbandingan etanol dan air yang cocok untuk ekstraksi senyawa fenolat dari tumbuhan meniran sehingga didapat ekstrak yang bermutu baik.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan pelarut etanol dan air yang cocok untuk memperoleh ekstrak herba meniran yang bermutu baik. Paramater mutu ekstrak herba meniran yang diukur adalah perolehan bahan terekstraksi (rendemen ekstrak), kadar senyawa fenolat dan aktivitas antioksidannya[15].

## BAHAN DAN METODE

**BAHAN. Bahan tumbuhan.** Bagian atas tanah tumbuhan meniran dikumpulkan dari daerah sekitar kampus Universitas Andalas, Limau Manih, Padang pada Juli 2009. Tumbuhan ini diidentifikasi di Herbarium Universitas Andalas dan spesimennya disimpan di Laboratorium Kimia Farmasi, Universitas Andalas, dengan Nomor Koleksi HR-001.

**Bahan kimia.** Natrium karbonat p.a. (Merck), asam galat (Sigma), Pereaksi Folin-Ciocalteau (Merck), DPPH (Sigma), etanol p.a. (Merck), metanol p.a. (Merck) dan air suling.

**Alat.** Seperangkat alat *rotary evaporator* (Buchi®), oven (Memmert®), timbangan analitik (Shimadzu® AUX 220) dan alat spektrofotometer UV–Visibel (Shimadzu® 1240).

**METODE. Pengeringan herba meniran.** Bagian atas tanah dari tumbuhan meniran dicuci dan ditiriskan, kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu ±40°C sampai kadar air <10%. Pengeringan herba meniran dalam oven pada suhu 40°C adalah cara pengeringan yang terbaik sesuai dengan penelitian terdahulu.

**Ekstraksi herba meniran dengan pelarut etanol-air.** Bagian-bagian herba meniran kering yang telah dihaluskan terlebih dahulu dengan blender sampai menjadi serbuk kasar ditimbang masing-masing 5 gram dan direndam masing-masing dengan 50 mL campuran etanol-air dengan perbandingan masing-masing 100:0, 80:20, 70:30, 60:40, dan 50:50 selama 24 jam sambil sekali-sekali diaduk. Maserat dipisahkan dan sisanya dimaserasi lagi dengan pelarut yang sama sampai tersari sempurna. Masing-masing maserat digabung lalu diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu <50°C sampai kental. Sebelum dianalisis, masing-masing ekstrak dilarutkan dalam labu ukur sampai 50 mL dengan campuran air suling : metanol (1:1).

**Penetapan kadar bahan terekstraksi (rendemen).** Penetapan kadar bahan terekstraksi (rendemen ekstrak) yang diperoleh dari berbagai perbandingan pelarut etanol-air di atas dilakukan menurut metode WHO[16], di mana larutan ekstrak yang telah disiapkan dengan cara di atas dipipet sebanyak 10 mL ke dalam piring penguap yang telah ditara. Pelarutnya diuapkan di atas penangas air sampai kering. Sisanya dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 1 jam, kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang segera. Pengeringan dan penimbangan diulangi beberapa kali sampai diperoleh bobot konstan. Kadar bahan terekstraksi dinyatakan sebagai mg ekstrak per gram simplisia kering (mg/g).

**Penetapan kadar senyawa fenolat total.** Kadar senyawa fenolat total dalam larutan ekstrak herba meniran ditetapkan dengan pereaksi Folin-Ciocalteau menggunakan prosedur yang dipakai Pourmorad *et al.*[17]. Larutan encer masing-masing ekstrak herba meniran (0,5 mL, ekstrak 1:10) dan larutan asam galat (senyawa fenolat standar) dicampur dengan pereaksi Folin-Ciocalteau (5 mL, diencerkan 1:10 dengan air suling) dan larutan natrium karbonat (4 mL, 1 M). Campuran tersebut dibiarkan selama 15 menit dan kadar senyawa fenolat ditetapkan dengan mengukur serapan pada panjang gelombang 765 nm menggunakan spektrofometer UV-Vis. Kurva standar dibuat dengan menggunakan larutan standar asam galat dengan konsentrasi 25, 50, 75, 100 dan 125 µg/mL dalam metanol-air (1:1). Kadar senyawa fenolat total dinyatakan sebagai mg setara asam galat per gram simplisia kering (mg/g).

**Pengukuran Aktivitas Antioksidan.** Aktivitas antioksidan ekstrak herba meniran ditetapkan dengan mengukur penangkapan radikal bebas 2,2-difenil-1-pikril hidrazil (DPPH) oleh ekstrak sesuai dengan metode yang digunakan Mosquera *et al.*[18]. Masing-masing ekstrak encer herba meniran sebanyak 1 mL dicampur dengan 2 mL larutan DPPH (20 mg/L) yang baru dibuat. Masing-masing campuran itu dikocok dan didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar di tempat gelap. Kemudian serapan masing-masing campuran itu diukur pada panjang gelombang 517 nm dengan spektrofotometer UV-Vis. Sebagai blanko, digunakan larutan yang dibuat dengan mencampurkan 1 mL metanol-air (1:1) dengan 2 ml larutan DPPH (20 mg/L). Untuk meniadakan serapan ekstrak pada panjang gelombang ini, sampel blanko dibuat dengan mencampurkan 1 ml ekstrak dengan 2 ml metanol-air (1:1). Persentase aktivitas antioksidan dihitung dengan menggunakan rumus berikut:

$$Aktivitas\ Antioksidan(\%) = \frac{A_{kontrol} - A_{ekstrak}}{A_{kontrol}} x100\%$$

Di mana $A_{kontrol}$ adalah serapan larutan DPPH tanpa ekstrak dan $A_{ekstrak}$ adalah serapan ekstrak uji yang sama dengan serapan ekstrak tumbuhan obat + DPPH dikurangi dengan serapan ekstrak blanko tanpa DPPH.

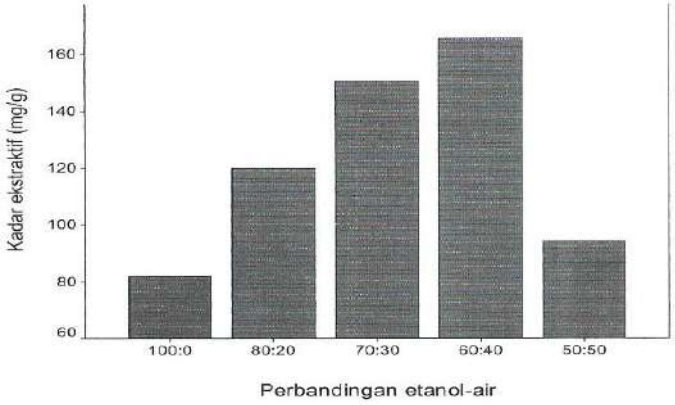
Nilai $IC_{50}$ ekstrak tumbuhan obat ditentukan dengan mengukur persentase aktivitas antioksidan larutan ekstrak tumbuhan dengan konsentrasi 100, 50, 25, 12,5 dan 6,76 mg/mL melalui analisis regresi linear. Nilai $IC_{50}$ dihitung sebagai kadar (mg/mL) larutan ekstrak tumbuhan obat yang menyebabkan aktivitas antioksidan sebesar 50%. Sebagai kontrol positif dalam penentuan aktivitas antioksidan digunakan senyawa fenolat yang telah diketahui mempunyai aktivitas antioksidan, yaitu asam galat[18].

**Analisis Statistika.** Data percobaan dianalisis dengan menggunakan analisis variansi satu arah dan perbedaan antar rata-rata setiap perlakuan ditentukan dengan uji rentang berganda Duncan dengan menggunakan program komputer *SPSS for Windows Version* 17. Nilai P kecil dari 0,05 dianggap mempunyai perbedaan yang signifikan secara statistik.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

**Validasi metode analisis senyawa fenolat total.** Pengukuran kadar senyawa fenolat total dalam ekstrak herba meniran yang dikeringkan dilakukan dengan menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteau yang telah digunakan sebelumnya oleh Pourmorad *et al.*[17] untuk penetapan kadar senyawa fenolat dalam tumbuhan obat di Iran. Agar metode itu dapat dipakai dalam penelitian ini, unjuk kerja dan validasi metode tersebut harus dievaluasi terlebih dahulu karena sampel yang dipakainya berbeda dari yang dipakai dalam penelitian ini. Kriteria yang digunakan untuk mengevaluasi metode analisis disebut *figures of merit*[19]. Hasil evaluasi dan validasi metode tersebut menunjukkan persamaan regresi hubungan antara serapan (y) dan kadar senyawa fenolat (x) sebagai $y = 0{,}0158 + 0{,}0064\ x$, dengan koefisien korelasi $r = 0{,}9967$, rentang linearitas 25–125 µg/mL, batas deteksi 11,172 µg/mL, batas kuantisasi 37,240 µg/mL, perolehan kembali 97% dan simpangan baku relatif 0,24%. Hasil evaluasi tersebut menunjukkan bahwa metode analisis untuk menetapkan kadar senyawa fenolat secara spektrofotometri dengan pereaksi Folin-Ciocalteau mempunyai ketepatan dan ketelitian yang tinggi sesuai dengan batas-batas unjuk kerja yang baik[20].

**Pengaruh perbandingan pelarut etanol-air terhadap perolehan kadar bahan terekstraksi dari herba meniran.** Tabel 1 memperlihatkan kadar bahan terekstraksi yang diperoleh dari herba meniran kering yang diekstraksi dengan berbagai perbandingan etanol-air. Penurunan perbandingan etanol-air sampai 60:40 menyebabkan peningkatan kadar bahan terekstraksi sampai 165,367 ± 2,053 mg/g. Namun demikian, penurunan perbandingan etanol-air lebih lanjut sampai 50:50 akan menurunkan kembali perolehan kadar bahan terekstraksi menjadi 94,000 ± 1,706 mg/g. Uji statistik menunjukkan bahwa perbandingan pelarut etanol-air berpengaruh nyata ($p<0{,}05$) terhadap perolehan kadar bahan terekstraksi dari herba meniran. Perbandingan pelarut etanol-air yang optimum untuk memperoleh kadar bahan terekstraksi yang tertinggi dari herba meniran adalah 60:40 (lihat Gambar 1).




**Gambar 1. Pengaruh perbandingan etanol-air sebagai pelarut ekstraksi terhadap perolehan kadar bahan terekstraksi dari herba meniran.**

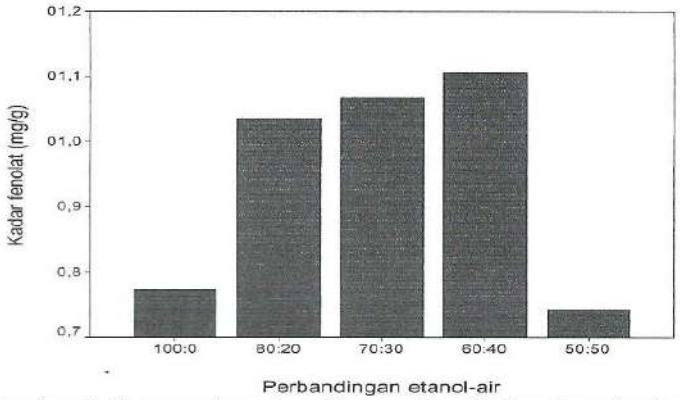
**Pengaruh perbandingan pelarut etanol-air terhadap perolehan kadar senyawa fenolat dari herba meniran.** Ekstraksi herba meniran dengan etanol saja akan memberikan kadar senyawa fenolat sebesar 0,773±0,013 mg/g berat kering (Tabel 1). Penambahan air sebanyak 20% kepada etanol menyebabkan peningkatan kadar senyawa fenolat menjadi 1,035 ± 0,012 mg/g, penambahan air 30% menyebabkan peningkatan kadar senyawa fenolat menjadi 1,067 ± 0,010 mg/g, penambahan air 40% menyebabkan peningkatan kadar senyawa fenolat menjadi 1,105 ± 0,002 mg/g. Namun demikian, penambahan air 50% justru menyebabkan penurunan kadar senyawa fenolat menjadi 0,743 ± 0,009 mg/g. Uji statistik menunjukkan bahwa perbandingan pelarut etanol-air berpengaruh nyata ($p<0{,}05$) terhadap perolehan kadar senyawa fenolat dari herba meniran. Perbandingan pelarut etanol-air yang optimum untuk memperoleh kadar senyawa fenolat yang tertinggi dari herba meniran adalah 60:40 (lihat Gambar 2).

**Pengaruh perbandingan pelarut etanol-air terhadap aktivitas antioksidan dari herba meniran.** Tabel 1 memperlihatkan perbandingan pelarut etanol-air terhadap aktivitas antioksidan herba meniran. Pengurangan perbandingan etanol-air dari 100:0 menjadi 80:20 sebagai pelarut untuk ekstraksi herba meniran menyebabkan peningkatan aktivitas

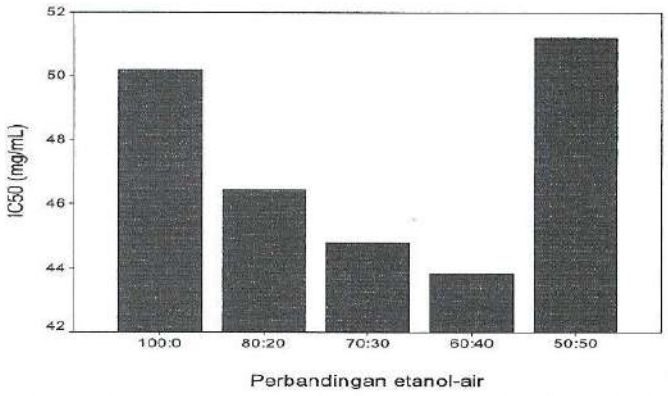
**Tabel 1. Pengaruh perbandingan etanol-air sebagai pelarut ekstraksi terhadap perolehan kadar bahan terekstraksi, kadar senyawa fenolat total dan aktivitas antioksidan dari herba meniran.**

| Perbandingan etanol-air | Kadar bahan terekstraksi (mg/g)* | Kadar Fenolat (mg/g)* | $IC_{50}$ (mg/mL) |
|---|---|---|---|
| 100 : 0 | $81,967 \pm 2,139^a$ | $0,773 \pm 0,013^a$ | 50,17 |
| 80 : 20 | $120,100 \pm 1,229^b$ | $1,035 \pm 0,012^b$ | 46,44 |
| 70 : 30 | $150,367 \pm 1,617^c$ | $1,067 \pm 0,010^c$ | 44,80 |
| 60 : 40 | $165,367 \pm 2,053^d$ | $1,105 \pm 0,002^d$ | 43,84 |
| 50 : 50 | $94,000 \pm 1,706^e$ | $0,743 \pm 0,009^e$ | 51,21 |
| | Asam galat (pembanding) | | 0,947 (µg/mL) |

* Kadar dihitung dalam satuan mg per g berat kering, nilai rata-rata ± SD, n = 3; nilai yang mempunyai angka superskrip yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$).




**Gambar 2. Pengaruh perbandingan etanol-air sebagai pelarut ekstraksi terhadap perolehan kadar senyawa fenolat dari herba meniran.**




**Gambar 3. Pengaruh perbandingan etanol-air sebagai pelarut ekstraksi terhadap aktivitas antioksidan ($IC_{50}$) dari herba meniran.**

antioksidan dari $IC_{50}$ 50,17 mg/mL menjadi 46,44 mg/mL. Semakin tinggi angka $IC_{50}$, semakin rendah aktivitas antioksidan. Pengurangan perbandingan etanol-air lebih lanjut dapat meningkatkan aktivitas antioksidan, namun perbandingan etanol-air yang optimum adalah 60:40 (Gambar 3).

Jika dibandingkan dengan aktivitas antioksidan asam galat, terlihat bahwa daya antioksidan herba meniran yang diekstraksi dengan etanol-air (60:40) mempunyai aktivitas antioksidan sekitar 1,95% dari aktivitas antioksidan asam galat. Nilai $IC_{50}$ herba meniran yang diekstraksi dengan etanol-air (60:40) adalah 43,84 mg/mL (Tabel 1, kolom 4), sementara kandungan fenolatnya 1,105 mg/g atau 1,105 µg/mg (Tabel 1, kolom 3). Karena itu, $IC_{50}$ herba meniran setara dengan 43,84 mg/mL x 1,105 µg/mg = 48,4432 µg senyawa fenolat per mL. Jika dibandingkan dengan $IC_{50}$ asam galat = 0,947 µg/mL (Tabel 1, kolom 4), maka aktivitas antioksidan herba meniran yang diekstraksi dengan etanol-air (60:40) adalah 0,947/48,4432 = 0,0195 atau sekitar 1,95% dari aktivitas antioksidan asam galat.

## SIMPULAN

Perbandingan etanol-air sebagai pelarut ekstraksi untuk herba meniran mempunyai pengaruh yang nyata ($p<0,05$) terhadap perolehan bahan terekstraksi, kadar senyawa fenolat dan aktivitas antioksidan. Perbandingan etanol-air yang optimum untuk memperoleh kadar bahan terekstraksi, kadar senyawa fenolat dan aktivitas antioksidan yang tertinggi dari herba meniran adalah 60:40.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Sudibyo M. Alam Sumber Kesehatan: Manfaat dan Kegunaan. Jakarta: Balai Pustaka; 1998.
2. Naik AD, and Juvekar AR. Effects of alkaloidal extract of *Phyllantus niruri* on HIV replication. Indian J Med Sci. 2003. 57(9): 387-93.
3. Notka F, Meier GR, and Wagner R. Inhibition of wild-type human immunodeficiency virus and reverse transcriptase inhibitor-resistant variants by *Phyllanthus amarus*. Antiviral Research. 2003. 58(2): 175-86.

4. Bhattacharjee R, Sil PC. The protein fraction of *Phyllanthus niruri* plays a protective role against acetaminophen induced hepatic disorder via its antioxidant properties. Phytother Res. 2006. 20(7): 595-601.
5. Chatterjee M, and Sil PC. Protective role of *Phyllanthus niruri* against nimesulide induced hepatic damage. Indian J Clin Biochem. 2007. 22(1): 109-16.
6. Iqbal MJ, Dewam FZ, Chowdhury SAR, Mamun MIR, Moshiuzzaman M and Begum M. Pre-treatment by n-hexane extract of *Phyllanthus niruri* can alleviate paracetamol-induced damage of the rat liver. Bangladesh J Pharmacol. 2007. 2: 43-8.
7. Munjrekar AP, Jisha V, Bag PP, Adhikary B, Pai MM, Hegde A and Nandini M. Effect of Phyllanthus niruri Linn. treatment on liver, kidney and testes in CCl4 induced hepatotoxic rats. Indian J Exp Biol. 2008. 46: 514-20.
8. Freitas AM, Schor N, and Bolm MA.The effect of *Phyllanthus niruri* on urinary inhibitors of calcium oxalate crystallization and other factors associated with renal stone formation. BJU Int. 2002. 89(9): 829-34.
9. Nwanjo HU. Studies on the effect of aquous extract of *Phyllanthus niruri* leaf on plasma glucose level and some hepatospecific markers in diabetic Wistar rats. Internet J Lab Med. 2009. 2(2): 1-9.
10. Ahmeda A, Ismail Z, and Gabriel A. Antioxidants properties of *Phyllanthus niruri* (Dukung Anak) Extracts. Malay J of Sci. 2005. 24(1): 195-200.
11. Ditjen POM. Materia Medika Indonesia. Jilid II. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 1978.
12. Bagalkotkar G, Sagineedu SR, Saad MS, and Stanslas J. Phytochemicals from *Phyllanthus niruri* Linn. and their pharmacological properties: a review. J Pharm Pharmac. 2006. 58(12): 1559-70.
13. Gaedcke F, Steinhoff B and Blasius H. Herbal Medicinal Products: Scientific and Regulatory Basis for Development, Quality Assurance and Marketing Authorisation. Stuttgart: Medpharm Scientific Publisher; 2003.
14. Badan POM. Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia, Vol 1. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia; 2004.
15. Ditjen POM. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 2001.
16. WHO. Quality control Methods for medicinal plant materials, Geneva: World Health Organization; 1998.
17. Pourmorad F, Hosseinimehr SJ and Shahabimajd N. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. Afr J Biotechnol. 2006. 5(11): 1142-45.
18. Mosquera OM, Correa YM, and Nino J. Antioxidant activity of plants extract from Colombian flora. Braz J Pharmacogn. 2008. 19(2A): 382-87.
19. Mitra S, and Brukh R. Sample Preparation: An Analytical Perspective, in Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry, (Editor: Mitra S.). New York: John Wiley & Sons Inc.; 2003. 1-36.
20. Harmita. Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara perhitungannya. Majalah Ilmu Kefarmasian. 2004. 1(3): 117-35.