

AKTIVITAS MUKOLITIK FRAKSI ETANOL HERBA MENIRAN (*Phyllanthus niruri* L) PADA MUKOSA USUS SAPI SECARA *IN VITRO*

Vera Ladeska⁽¹⁾, Dwitiyanti⁽¹⁾, Egi Aresta Dilar⁽¹⁾,

¹Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. DR. Hamka Jakarta
Corresponding author email: v_ladeska@yahoo.com

ABSTRAK

Herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.) termasuk salah satu obat tradisional yang dipakai masyarakat sebagai obat peluruh dahak. Penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui aktivitas mukolitik dari fraksi etanol herba meniran. Fraksi etanol herba meniran dibagi kedalam konsentrasi 0,085%; 0,17%; 0,34%. Uji aktivitas mukolitik dilakukan dengan cara *in vitro* pada mukus usus sapi. Pengujian dilakukan pada suhu 37°C dengan alat *viscometer Brookfield* dengan spindle No.62 pada kecepatan 50 rpm. Hasil yang diperoleh berupa nilai viskositas yang selanjutnya dianalisa dengan ANAVA *one way* dan dilanjutkan dengan uji Tukey dengan taraf kepercayaan 95%. Kelompok yang diteliti terdiri dari 5 kelompok uji. Obat pembanding yang digunakan adalah asetilsistein 0,1%. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa kelompok dengan konsentrasi 0,34% memiliki aktivitas yang paling tinggi dan setara dengan asetilsistein 0,1%.

Kata kunci: Fraksi herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.), mukolitik, mukus.

*IN VITRO MUCOLYTIC ACTIVITY OF ETHANOL FRACTION MENIRAN HERB (*Phyllanthus Niruri* L) ON COW INTESTINES MUCOSA*

ABSTRACT

Meniran herb (Phyllanthus niruri L.) are one of natural medicines used by the society as a medicine to cure sputum. This study aims to find the activity of mucolytic fraction of ethanol from ethanol extract meniran herbs. Ethanol fraction of meniran herbs is divided into a concentration of 0.085%; 0.17% ; 0.34%. Mucolytic activity test is carried out In Vitro on intestinal mucus of cows. The test is performed at 37°C by brookfield viscometer with a 62 spindle at speed 50 rpm. The result obtained is in the form of viscosity grades which then analyzed by one-way ANOVA followed by Tukey test with 95% confidence level. The group tested consists of 5 test group. Comparator drug used is 0.1% acetylcysteine. The result of statistical analysis shows that the group with a concentration of 0.34% has the highest activity, and equivalent to 0.1 % acetylcysteine.

Keywords: fraction of meniran herb(Phyllanthus niruri L.), mucolytic, mucous

PENDAHULUAN

Batuk merupakan refleksi fisiologis baik waktu sehat maupun sakit yang bermanfaat untuk mengeluarkan dan membersihkan saluran pernapasan dari dahak, zat-zat asing, dan penyebab infeksi (Tjay TH & Rahardja K 2002). Batuk disebabkan oleh iritasi mekanik dari respon sensorik di laring, pada dinding posterior trakea dan di cabang atas bronkus (Kelompok Kerja Ilmiah Medica 1993). Ketika batuk, akan terjadi peningkatan ekskresi mukus pada saluran pernapasan yang merupakan cairan kompleks berupa selaput gel mukoprotein dan mukopolisakarida. Untuk meringankan dan mengurangi frekuensi batuk diberikan terapi simptomatik dengan obat-obat pereda batuk. Salah satunya mukolitik yang merupakan obat yang dapat mengencerkan sekret saluran napas dengan jalan memecah benang-benang mukoprotein dan mukopolisakarida dari sputum (Ganiswarna 1995).

Indonesia memiliki banyak tanaman obat yang digunakan sebagai peluruh batuk, diantaranya meniran. Herba meniran (*Phyllanthus niruri* L) termasuk salah satu obat tradisional yang dipakai masyarakat sebagai obat mukolitik (Syamsuhidayat & Hutapea 1991). Herba meniran selain sebagai obat mukolitik, juga digunakan sebagai diuretik, antipiretik, obat sariawan, diare, dan gangguan pada empedu. Kandungan tanaman meniran antara lain golongan lignan (Phyllanthine, hypophyllanthine, phytetralin, lintretalin, nirathin, nitretalin, nirphylline, nirurin, dan nirurisode), golongan triterpen (cymene, limonene, lupeol, dan lupeol acetate), golongan flavonoid (quercetin, quercitrin, isoquercitrin, astragalin, rutine, dan physetingluside), golongan alkaloid (norsecurinine, 4-metoxo - norsecurinine, entnosecurinina, nirurine, phyllantin, dan phyllochrysin), serta saponin (Syamsuhidayat & Hutapea 1991).

Pada penelitian ini akan dilakukan pengujian efek mukolitik fraksi etanol dari ekstrak etanol herba meniran yang diujikan pada mukosa yang diambil dari usus sapi. Tujuan dilakukannya fraksinasi dengan etanol pada ekstrak meniran yang telah diketahui memiliki efek mukolitik adalah untuk memisahkan senyawa-senyawa metabolit sekunder yang bersifat polar. Untuk

mengetahui efek mukolitik yang ditimbulkan oleh metabolit sekunder dari fraksi etanol herba meniran.

METODE

Alat Dan Bahan

Seperangkat alat maserasi, corong pisah, timbangan analitik, seperangkat *viscometer Brookfield tipe-LV*, seperangkat *vacum rotary evaporator*, pH meter, oven, *ice box*, dan *hot plate*, herba meniran, etanol 70%, Tween 80, kalium dihidrogen fosfat, natrium hidroksida, n-Heksan, etil asetat, aqua bebas karbondioksida, aquadest, mukus usus sapi, asetilsistein.

Pengolahan Sampel

Herba meniran di dapat dari BALLITRO, Bogor. Herba meniran dibersihkan lalu dirajang, kemudian di keringkan dengan cara diangin-anginkan. Simplisia kering lalu diserbuk dan diayak dengan ayakan No. 40 mesh.

Pembuatan Dan Penyiapan Ekstrak

Ekstraksi dilakukan dengan cara memasukan serbuk kering simplisia kedalam maserator, kemudian ditambahkan 10 bagian etanol 70%. Rendam selama 24 jam kemudian lakukan pengulangan dengan pelarut baru sampai 3 kali. Maserat yang diperoleh dipekatkan menggunakan *vacum rotary evaporator* dengan suhu rendah $\pm 50^{\circ}\text{C}$ hingga kental (Depkes 2008).

Ekstrak kental kemudian difraksinasi dengan corong pisah. Fraksinasi dengan pelarut n-Heksan kemudian difraksinasi kembali dengan pelarut etilasetat. Lapisan etanol dipisahkan kemudian dipekatkan dengan *vacum rotary evaporator* pada suhu 50°C hingga kental namun masih bisa dituang. Kemudian fraksi tersebut dikentalkan dalam oven pada suhu 50°C hingga diperoleh bobot tetap (Depkes 1986).

Penapisan Fitokimia

a. Alkaloid

Dimasukkan 0,5 g fraksi kental ke dalam tabung reaksi, tambahkan 1 ml HCl 2 N dan 9 ml aquadest, panaskan di atas penangas air pada suhu 100°C selama 2 menit, kemudian dinginkan dan saring. Bagi ke dalam 2 tabung reaksi. Pada tabung

pertama diberi 2 tetes pereaksi Bouchardat, jika terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam, maka menunjukkan adanya alkaloid. Pada tabung kedua diberi pereaksi mayer, jika terbentuk endapan berwarna putih, maka menunjukkan adanya alkaloid.

b. Flavonoid

Dimasukkan 0,5 g fraksi kental ke dalam tabung reaksi, kemudian tambahkan 1 ml etanol 95%, panaskan di atas penangas air pada suhu 100°C, lalu disaring dan filtratnya ditambahkan HCl_(p) dan logam Mg. Terbentuknya warna merah menunjukkan sampel mengandung flavonoid.

c. Saponin

Dimasukkan 0,5 g fraksi kental ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 ml air panas, setelah itu didinginkan dan dikocok kuat-kuat selama 10 detik, sehingga terbentuk buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm. Penambahan 1 tetes HCl 2 N, buih tidak hilang, maka menunjukkan adanya saponin.

d. Tanin

Dimasukkan 0,5 g fraksi kental ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 10 ml air, dididihkan di atas penangas air pada suhu 100°C selama 5 menit, kemudian dinginkan dan saring. Filtrat ditambahkan 1-2 tetes FeCl₃ 1%, jika terbentuk warna biru tua atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tannin.

e. Triterpenoid dan Steroid

Dimasukkan 0,5 g fraksi kental ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 2 ml etanol, dipanaskan sebentar, kemudian dinginkan dan saring. Filtratnya diuapkan lalu tambahkan eter, 3 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes H₂SO_{4(p)}, jika terjadi perubahan warna merah atau ungu menunjukkan adanya triterpenoid dan warna hijau menunjukkan adanya steroid.

Pembuatan Dapar Phospat pH 7

Larutan dapar phospat pH 7 dibuat dengan mencampur 500 ml kalium dihidrogen fosfat 0,2 M dengan 291 ml natrium hidroksida 0,2 N dan diencerkan dengan air bebas karbondioksida secukupnya

hingga 2000 ml. Pengecekan pH larutan dapar dilakukan dengan pH meter (Depkes 1979).

Penyiapan Mukus

Mukus didapatkan dari usus sapi yang dicuci dengan air mengalir sampai bersih, lalu dipotong-potong secara membujur, kemudian mukus pada lapisan mukosanya diambil. Mukus ditampung kedalam gelas kimia. Mukus yang didapatkan berwarna putih kecoklatan sampai putih kekuningan (Alam dkk. 2012). Setelah mukosa terkumpul diaduk pelan-pelan untuk menghomogenkan mukus tiap pengerokan. Mukus tersebut dibagi-bagi sesuai dengan jumlah pengujian lalu dimasukan kedalam tempat pendingin sampai pengujian dilakukan (Maretta 2006).

Pengujian Aktivitas Mukolitik

Efek mukolitik diuji secara in vitro dengan mengukur perubahan viskositas mukus usus sapi. Hasil pengukuran dibandingkan dengan hasil pada kontrol positif dan kontrol negatif. Campuran mukus dibuat dalam larutan dapar fosfat pH 7,0 dengan perbandingan 70:30. Pengukuran dilakukan dengan menghitung efek mukolitik menggunakan alat viscometer Brookfield spindle no.62 dengan kecepatan 50 rpm. Sebelumnya, sampel di inkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Pada saat pengukuran, sampel uji ditempatkan pada magnetik stirrer untuk menjaga suhu setelah inkubasi. Pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali untuk masing-masing sampel uji (Alam dkk. 2012).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil uji fitokimia yang dilakukan pada fraksi etanol dari ekstrak etanol herba meniran dapat dilihat beberapa kandungan pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Penapisan Fitokimia

No	Metabolit Sekunder	Hasil
1	Alkaloid	-
2	Flavonoid	+
3	Saponin	+
4	Steroid	-
5	Tanin	+
6	Triterpenoid	-

Keterangan : (+) = ada
(-) = tidak ada

Hasil Uji Aktivitas Mukolitik

Pada penelitian ini dibuat 5 kelompok uji, yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, kelompok uji I, kelompok uji II, kelompok uji III. Semua kelompok diujikan pada mukus usus sapi. Pemilihan mukus usus sapi sebagai subjek pengujian dikarenakan beberapa faktor, diantaranya karena penyusun utama kekentalan mukus pada manusia maupun sapi sama, yaitu mucin yang berikatan dengan glikoprotein membentuk ikatan mukoprotein yang menyebabkan mukus kental (Bansil & Turner 2006).

Pengujian ini dilakukan secara *in vitro*. Pemberian dapar pospat pH 7 pada mukus bertujuan untuk memberikan dan mempertahankan pH 7 pada mukus agar pH mukus uji mirip dengan pH mukus pada saluran pernafasan manusia, dan juga efektivitas mukolitik dapat berlangsung optimal pada pH 7 (Henke & Ratjen 2007). Sebelum fraksi maupun asetilsistein ditambahkan, sebelumnya dicampurkan dengan Tween 80. Penambahan Tween 80 disini sebagai *wetting agent* agar larutan mukus-dapar dapat tercampur secara

sempurna dengan fraksi maupun dengan asetilsistein. Tween 80 juga memiliki kelarutan yang baik pada air dan etanol (Anonim 1993).

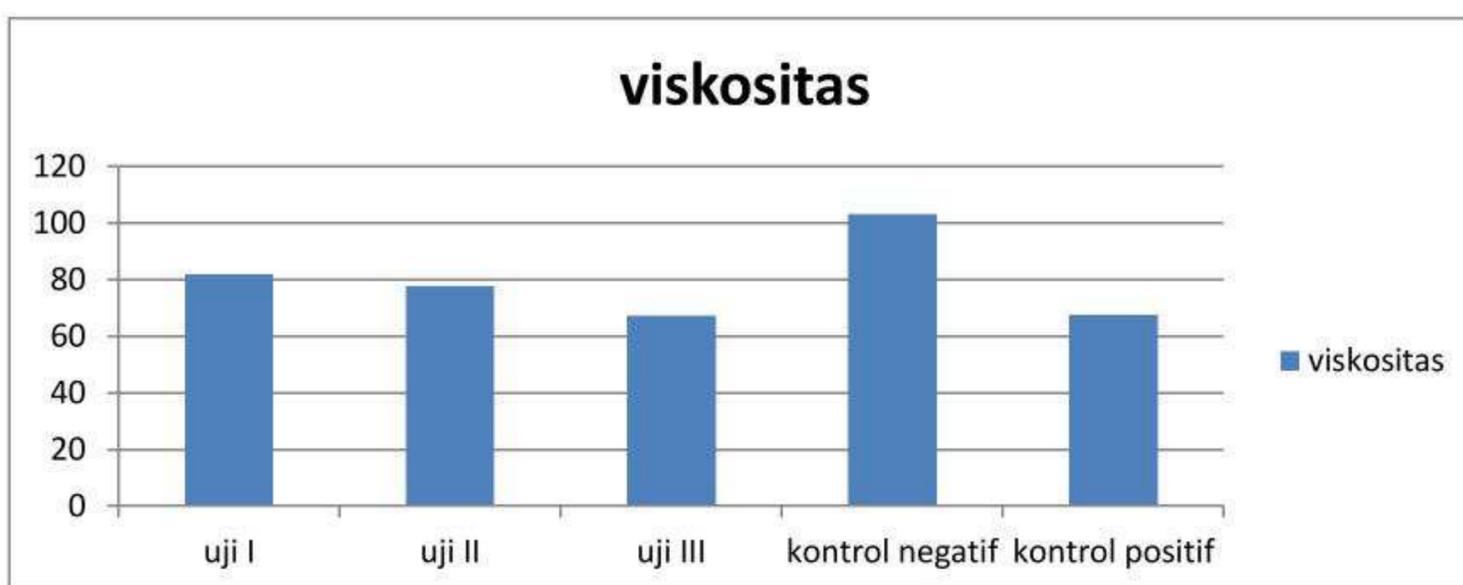
Pemilihan asetilsistein sebagai kontrol positif dibanding dengan golongan mukolitik lain karena asetilsistein memiliki onset yang cepat. Asetilsistein juga menurunkan viskositas lendir bronkus dengan memutuskan jembatan disulfida, sehingga rantai panjang antara mukoprotein-mukoprotein panjang terbuka dan lebih mudah dikeluarkan melalui batuk (Tjay TH & Rahardja K 2002).

Alat yang digunakan pada pengujian adalah *viscometer Brookfield type LV*, pemilihan alat berdasarkan pada sifat aliran yang akan di uji. Mukus memiliki sifat alir non-Newton yaitu tipe pseudoplastik (Brain dkk. 1997). Jenis *viscometer Brookfield* ini banyak digunakan untuk menentukan nilai viskositas, karena viskometer jenis ini memiliki banyak keuntungan, diantaranya hasil yang didapat berupa nilai viskositas (centipoise), ketelitian yang cukup tinggi, dan sangat mudah digunakan.

Mukus yang digunakan pada pengujian ini adalah mukus yang berasal dari usus sapi Bali yang diperoleh dari Rumah Pemotongan Hewan (RPH) "Dharma Jaya" Cakung. Mukus yang dipilih adalah mukus usus sapi yang baru disembelih pada pagi hari. Mukus yang telah diambil dari usus sapi tadi kemudian disimpan di *ice box* untuk menghentikan kerja enzim-enzim proteolitik yang dapat mengencerkan mukus. Sebelum pengujian dilakukan, mukus di inkubasi dengan suhu 37°C untuk mendapatkan kondisi reaksi antara kelompok uji dengan mukus sesuai dengan kondisi fisiologis manusia sebelum diukur dengan viskometer.

Tabel 2. Data Hasil Penurunan Viskositas Mukus Setelah Perlakuan

	Cuplikan	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	Kelompok Uji I	Kelompok Uji II	Kelompok Uji III
Viskositas (Cps)	1	107	68	84,6	78,6	67,2
	2	102	66,2	79,2	78	68,2
	3	100,2	65,6	81,6	76,6	68,6
	4	101,2	67,6	82,4	77,2	66,6
	5	105,4	69,8	81,2	78,4	65,2
Viskositas rata-rata (Cps) ± SD		103,16 ± 3,84	67,44 ± 2,36	81,8 ± 2,8	77,76 ± 0,84	67,16 ± 1,44
% Penurunan		0%	34,6 %	20,7%	24,6%	34,9%



Gambar 1. Histogram Penurunan Viskositas Mukus Setelah Perlakuan

Berdasarkan histogram diatas, dapat dilihat bahwa mukus yang diberikan asetilsistein sebagai pembanding dan fraksi sebagai uji memiliki viskositas yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol negatif yang tanpa perlakuan. Maka dari hasil tersebut dapat dikatakan bahwa fraksi etanol herba meniran memiliki efek mukolitik. Saponin ini bersifat merangsang keluarnya sekret dari bronkial dan meningkatkan aktivitas epitel yang bersilia, yaitu suatu peristiwa yang merangsang timbulnya batuk untuk mengeluarkan dahak, sehingga meniran mempunyai aktivitas mukolitik (Windriyanti dkk. 2007). Saponin juga mempunyai sifat menurunkan tegangan permukaan sehingga dapat mencairkan mukus (Bructon 1991). Dari hasil pengukuran pada tabel juga dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi fraksi uji yang digunakan semakin rendah pula viskositas dari mukusnya. Dengan kata lain mukus yang diberi fraksi etanol herba meniran lebih tinggi memiliki viskositas yang lebih rendah. Aktivitas mukolitik paling rendah dimiliki oleh kelompok uji dengan konsentrasi fraksi 0,085%, dilihat dari viskositasnya sebesar 81,8 Cps, dan efek mukolitik tertinggi dimiliki oleh kelompok uji dengan konsentrasi fraksi 0,34%, dilihat dari viskositasnya sebesar 67,16 Cps.

Analisis data dilakukan dengan menggunakan metode ANAVA *one way*. Data yang akan dianalisis secara statistik ialah nilai viskositas dari setiap kelompok uji, masing – masing kelompok uji terdiri dari 5 larutan uji. Analisis data yang pertama menggunakan Kolmogorof-Smirnov, untuk

mengetahui kenormalan distribusi data. Hasil analisis statistik pada uji Kolmogorof-Smirnov memiliki nilai ($p > 0,05$), nilai tersebut menunjukkan bahwa data uji viskositas tersebut terdistribusi normal.

Selanjutnya dilakukan uji homogenitas, nilai signifikansi yang diperoleh dari uji homogenitas ialah ($p > 0,05$), nilai tersebut menunjukkan bahwa data dari uji homogenitas tersebut merupakan data yang homogen. kemudian dilanjutkan ke analisa menggunakan ANAVA *one way* dengan taraf kepercayaan 95%. Hasil uji ANAVA terhadap viskositas mukus diperoleh nilai ($p < 0,05$), hal ini menunjukkan bahwa adanya perbedaan aktivitas mukolitik antar kelompok. Sehingga dapat disimpulkan fraksi etanol herba meniran memiliki pengaruh terhadap viskositas suatu mukus.

Untuk melihat perbedaan yang bermakna maka dilakukan uji Tukey HSD. Pada uji Tukey menunjukkan adanya perbedaan aktivitas mukolitik yang signifikan antara kelompok uji. Kelompok uji I (0,085%) memiliki aktivitas mukolitik yang paling rendah dibandingkan dengan kelompok uji yang lain, dilihat dari viskositasnya sebesar 81,8 Cps. Sedangkan pada kelompok uji III (0,34%) memiliki aktivitas mukolitik yang paling tinggi dibandingkan dengan kelompok uji yang lainnya, dilihat dari viskositasnya sebesar 67,16 Cps. Semakin tinggi nilai viskositasnya maka semakin rendah aktivitas mukolitiknya.

Perbandingan viskositas mukus antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok lainnya memiliki perbedaan yang

signifikan. Kelompok uji I (0,085%) dengan dosis terendah memiliki perbedaan yang signifikan dibandingkan kelompok kontrol positif ditunjukkan dengan nilai ($p < 0,05$), kelompok uji I juga memiliki aktivitas mukolitik paling rendah. Kelompok uji II (0,074%) dengan dosis menengah juga memiliki perbedaan yang signifikan dibandingkan kelompok kontrol positif ditunjukkan dengan nilai ($p < 0,05$), namun aktivitas mukolitiknya lebih tinggi dari kelompok uji I, dilihat dari viskositasnya yang lebih rendah. Sedangkan kelompok uji III (0,34%) dengan dosis paling besar yang diujikan tidak memiliki perbedaan yang signifikan atau dapat dinyatakan setara dengan kontrol positif ditunjukkan dengan nilai ($p > 0,05$). Hasil tersebut menunjukkan bahwa kelompok uji III yang mengandung 0,34% fraksi etanol herba meniran memiliki aktivitas mukolitik yang sama dengan asetil sistein.

KESIMPULAN

Fraksi etanol dari ekstrak etanol herba meniran (*Phyllanthus nirur* L.) memiliki aktivitas mukolitik, dilihat dari penurunan viskositas mukus setelah diberikan konsentrasi fraksi sebesar 0,085%, 0,17%, dan 0,34%. Setiap kelompok uji memiliki aktivitas mukolitik yang berbeda-beda, semakin tinggi konsentrasi fraksi yang diberikan maka semakin besar pula aktivitas mukolitiknya. Aktivitas mukolitik paling optimal dari ketiga kelompok uji adalah kelompok uji III dengan konsentrasi 0,34 % dan memiliki aktivitas mukolitik setara dengan asetilsistein 0,1%.

DAFTAR PUSTAKA

- Alam G, dkk. 2012. Skrining Komponen dan uji Aktivitas Mukolitik Ekstrak Rimpang Bangle (*Zingiber pupureum* Roxb.) terhadap mukosa usus sapi Secara *In vitro*. Dalam; *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. Unhas, Makasar. 6(3): 123-127.
- Anonim. 1993. *Penapisan Farmakologi, pengujian fitokimia dan Pengujian Klinik*. Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam. Phytomedice. Jakarta. Hlm. 63.
- Bansil R & Turner SB. 2006. Mucin Struture, Aggregation, Physiological Functions and Biomedical Applications. Dalam: *Current Opinion in Colloid & Interface Science II*. Elsevier. Hlm. 164-170.
- Bructon J. 1991. *Pharmacognosy Phytochemistry Medical*. Edisi II. London Paris New York. Hlm. 680-682.
- Dahlan MS. 2009. *Statistik Untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Edisi IV. Salemba Medika. Jakarta. Hlm. 68-85.
- Departemen Kesehatan RI. 1979. *Materia Medika Indonesia*. Jilid III. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan; Hlm. 118-123.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan; Hlm. 3-4
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi I. Jakarta. Departemen Kesehatan Republik Indonesia; Hlm. 170-171, 174-175.
- Ganiswarna, SG.1995. *Farmakologi dan Terapi*, ed.4. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. Hlm. 517.
- Henke MO & Ratjen F. 2007. Mucolytics in cystic fibrosis. Dalam: *Journal Paediatric Respiratory Reviews*. Hlm. 24-29.
- Kelompok Kerja Ilmiah Medica. 1993. *Penapisan Farmakologi Pengujian Fitokimia Pengujian Klinik*. Yayasan Pengembangan & Pemanfaatan Obat Bahan Alam Phytomedica. Jakarta. Hlm. 61.
- Maretta AP. 2006. Aktifitas Mukolitik Ekstrak N-Heksan dan Etanol Herba Piper Miniatum, B1 Terhadap Mukosa Usus Sapi Secara *In Vitro* dan Deteksi Golongan Senyawa Aktif Dengan Metode KLT, *Skripsi*, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.

- Syamsuhidayat, S.S. & Hutapea J.R. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*, Jilid I. Badan Litbangkes, Departemen Kesehatan, Jakarta. Hlm. 446.
- Tjay TH & Rahardja K. 2002. *Obat-Obat Penting*, ed.5. Gramedia. Jakarta. Hlm. 619, 620, 623.
- Windriyanti YN, Murrukmihadi M, Junita NR. 2007. Aktifitas Mukolitik *In Vitro* Etanolik Herba Meniran (*Phyllanthus Niruri* L) Terhadap Mukosa Usus Sapi. Dalam : *Jurnal Farmasi. Fakultas Farmasi UGM*. Yogyakarta. Hlm. 19-22.