

ANALISIS HASIL UJI IN-VITRO KELARUTAN BATU GINJAL DALAM EKSTRAK DAUN MENIRAN (*Phyllanthus niruri L*) MENGGUNAKAN APNC

M.Yazid, Zainul Kamal, Sunardi

Puslitbang Teknologi Maju, BATAN

ABSTRAK

ANALISIS HASIL UJI IN-VITRO KELARUTAN BATU GINJAL DENGAN EKSTRAK DAUN MENIRAN (*Phyllanthus niruri L*) MENGGUNAKAN APNC. Penyakit batu ginjal selama ini diatasi dengan berbagai cara antara lain dengan operasi, penyinaran dan obat modern. Di samping itu, juga sering digunakan obat tradisional antara lain menggunakan daun meniran (*Phyllanthus niruri L*), tetapi dalam hal ini belum banyak bukti ilmiah yang mendukungnya. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk menguji kelarutan batu ginjal kalsium secara in-vitro dalam fraksi air dan etil asetat daun meniran menggunakan metode Analisa Pengaktifan Netron Cepat. Penelitian ini dilakukan dengan cara merendam 100,0 mg batu ginjal ke dalam fraksi air dan etil asetat daun meniran dengan variasi kadar masing-masing 10%, 12,5%, 15%, 17,5% dan 20%, diinkubasi selama 4 jam pada suhu 37 °C, setelah itu dilakukan penyaringan dan hasil saringannya diambil sebanyak 5,0 ml. Kadar kalsium yang terlarut ditentukan menggunakan Analisis Pengaktifan Netron Cepat. Pengujian kandungan flavonoid di dalam ekstrak daun meniran dilakukan menggunakan Kromatografi Lapisan Tipis dan jenis batu ginjal ditentukan menggunakan Spektroskopi Infra Merah. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa sampel batu ginjal yang digunakan adalah jenis batu ginjal kalsium. Di dalam ekstrak daun meniran baik pada fraksi air maupun etil asetat menunjukkan adanya kandungan flavonoid. Ekstak daun meniran dalam fraksi air 20% dan fraksi etil asetat 12,5% terbukti paling mampu dalam melarutkan sampel batu ginjal kalsium.

Kata kunci : Kelarutan batu ginjal, *Phyllanthus niruri,L*, APNC

ABSTRACT

ANALYSIS ON IN-VITRO TEST RESULT OF KIDNEY STONE SOLUBILITY IN THE EXTRACT OF MENIRAN LEAF (*Phyllanthus niruri L*) USING APNC. Kidney stone disease up to this time can be overcome by an operation, modern drug and irradiation. Despitefully, a traditional drug is also often used, for example using meniran leaf (*Phyllanthus niruri L*); even there is only view scientific evidence yet that supporting it. The aim of this research is to study the in-vitro test solubility of calcium kidney stone in the water and ethyl acetate fraction pf meniran leaf (*Phyllanthus niruri L*) using fast neutron activation analysis. This research is conducted by soaking 100,0 mg sample of kidney stone into extract of meniran leaf in water and ethyl acetate fraction at various concentration of 10%, 12.5%, 15%, 17.5% and 20% and they were incubated for 4 hours at the temperature of 37 °C. Then they were filtered and the result are taken 5,0 ml each. The calcium solubility content is determined using fast neutron activation analysis. The flavonoid content in the extract of meniran leaf was analyzed using thin layer chromatography and kidney stone type was determined by infra red spectroscopy. From the result can be deduced that the kidney stone sample type is calcium kidney stone. In the extract of meniran leaf with water and ethyl acetate fraction showed existence of flavonoid content. The extract of meniran leaf with water fraction of 20% and ethyl acetate fraction of 12.5% are most dissolving agents of kidney stone sample

Key words : Kidney stonesolubility, *Phyllanthus niruri,L*, APNC

PENDAHULUAN

Penggunaan obat tradisional oleh masyarakat yang berupa bahan-bahan alami yang diduga berkhasiat akhir-akhir ini

semakin meningkat, karena selain harganya relatif sangat murah jika dibandingkan dengan harga obat modern, mudah diperoleh di kawasan pedesaan dan efek samping yang ditimbulkan dirasa lebih ringan^[1]. Sehubungan dengan itu,

maka perlu diimbangi dengan perbaikan-perbaikan kualitas serta peningkatan mutu ramuan obat-obatan tradisional tersebut. Sampai saat ini pemakaian obat tradisional lebih didasarkan pada pengalaman atau dugaan-dugaan yang bersifat turun-menurun tetapi masih belum/kurang didukung oleh pembuktian secara ilmiah.

Prospek pemanfaatan obat tradisional sampai dengan saat ini tidak secerah pemakaian obat modern, karena komposisi obat tradisional pada umumnya mengandung lebih dari satu *simplisia* sehingga belum dapat diketahui secara pasti senyawa manakah yang sebenarnya berperan dalam penyembuhan suatu kasus penyakit^[2]. Pengobatan terhadap penyakit batu ginjal; karena tergolong membahayakan kesehatan maka berbagai upaya untuk mencegah, menghindari, menyembuhkannya selalu diupayakan antara lain dengan mengatur jenis makanan yang dikonsumsi, banyak minum air putih dan olahraga secara teratur. Akan tetapi apabila sudah terlanjur terbentuk batu ginjal, maka diperlukan tindak lanjut, baik berupa tindakan operasi maupun pelarutan kembali dengan menggunakan obat modern ataupun obat tradisional antara lain daun meniran.

Daun meniran selama ini telah dikenal secara turun-temurun oleh masyarakat pedesaan dan dapat digunakan untuk penyembuhan penyakit batu ginjal, diuretika, busung perut, infeksi saluran kencing, radang mata merah, radang mulut dan rabun senja, di samping dapat berfungsi untuk peningkatan sistem kekebalan tubuh^[3,4].

Hasil-hasil penelitian yang berkaitan dengan pemanfaatan daun meniran untuk pengobatan batu ginjal, terutama tentang kandungan/jenis zat aktif serta sifat sifat yang dimilikinya belum banyak dilakukan. Berdasarkan atas hal tersebut maka dalam penelitian ini diamati kandungan flavonoid daun meniran dengan pelarut air maupun etil asetat dan selanjutnya dilakukan uji kemampuannya terhadap kelarutan batu ginjal kalsium

TATA KERJA DAN PERCOBAAN

Bahan Yang Diperlukan

Daun meniran, sampel batu ginjal, petroleum eter teknis, etil asetat p.a (E.Merck),

etanol p.a (E Merck), silika gel GF 254, butanol p.a(E Merck) twen 80 dan asam asetat p.a (E.Meck)

Peralatan Yang Digunakan

Corong Buchner, Spektroskopi Infra Merah, Evaporator, Sokslet, Kromatografi Lapisan Tipis, pengayak dan Generator Neutron

Cara Kerja

Uji Kualitatif Batu Ginjal Dengan Spektrofotometer Infra Merah

Batu ginjal digerus dalam mortir sampai halus, ditimbang 1,00 g ditambah 300 mg KB digerus homogen, dibuat tablet tansparan, diamati spektrogram dan dibandingkan dengan spektrogram pembanding (Daudon 1978 c,f Susilowati 1995).

Penentuan Kadar Kalsium Batu Ginjal yang Larut Dalam Fraksi Air dan Etil Asetat

Daun meniran dicuci, dikeringkan dan dibuat serbuk, selanjutnya diayak dengan ayakan 5/8 lalu ditimbang lebih kurang 30,0 g dan diekstraksi dengan 150 ml petroleum eter pada suhu 50 °C sehingga pelarut tidak berwarna (pada proses terjadi pewarnaan pelarut sebagai akibat tersarinya berbagai zat warna yang terdapat di dalam daun Meniran ke dalam pelarut dan zat warna dinyatakan tersari optimal apabila pelarut tidak berwarna) Hasil penyarian diuapkan di dalam evaporator sehingga diperoleh ekstrak kental, dimaserasi dengan etanol 70% selama 3 hari (fungsi etanol dalam hal ini adalah untuk menyari bahan aktif kemudian etanol diuapkan sehingga tidak terlibat dalam pelarutan batu ginjal dan tidak ada keterkaitan dengan sebagai bahan minuman), disaring dan dipekatkan, difraksinasi menjadi fraksi air dan etil asetat. Masing-masing fraksi diuapkan sampai bersisa kira kira 2 ml, ditambah 2 ml twen 80, lalu ditambahkan air suling sampai 50 ml (fraksi 100%). Selanjutnya dilakukan pengenceran sehingga diperoleh fraksi air maupun etil asetat masing masing dengan kadar 10% ,12,5% ,15% ,17,5% dan 20% (fraksinasi dimaksudkan untuk mengetahui kelarutan zat aktif yang terdapat di dalam daun meniran di dalam pelarut polar/fraksi air maupun di dalam pelarut non

polar/fraksi etil asetat). Masing-masing variasi kadar diambil 20 ml, ditambah 100,0 gram serbuk batu ginjal dan diinkubasikan selama 4 jam pada suhu 37 °C, kemudian dilakukan penyaringan. Diambil filtrat sebanyak 5,0 ml kemudian dimasukkan ke dalam tabung polietilen untuk penentuan kadar Ca dengan Analisis Pengaktifan Neutron Cepat

Uji flavonoid dilakukan dengan cara mengambil 7,5 ml larutan induk dari air maupun etil asetat, kemudian diuapkan sampai tinggal tersisa sebanyak 2 ml dan ditambahkan 10,0 ml etanol 75%, kemudian disaring. Hasil saringan-nya ditetaskan pada lempeng KLT (Silika gel GF 254) sebagai fase diam dengan fase gerak adalah larutan campuran butanol, asam asetat dan air dengan perbandingan volume 4:1:5. Pengamatan bercak dilakukan dengan menggunakan UV pada panjang gelombang 366 nm dengan pereaksi uap amoniak. Jenis batu ginjal ditentukan dengan mengamati tablet serbuk batu ginjal yang dibuat dengan menimbang 1,0 g serbuk batu ginjal, dicampur dengan 100,0 mg serbuk KBr menggunakan Spektroskopi Infra Merah.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis kualitatif batu ginjal dengan Spektrofotometer Infra Merah setelah dibandingkan dengan spektrogram standar sampel batu ginjal, mempunyai komposisi yang disajikan pada Tabel 1.

Berdasarkan hasil interpretasi spektrum sampel batu ginjal menunjukkan bahwa molekul yang bersesuaian adalah “*carbapatite*”, “*whelwellite*” dan “*weddelite*” yang merupakan molekul dari batu ginjal kalsium fosfat hidoksil, kalsium oksalat monohidrat dan kalsium oksalat dihidrat. Sehingga dapat disimpulkan bahwa jenis batu ginjal yang digunakan sebagai sampel dalam penelitian ini adalah jenis batu ginjal kalsium.

Sedangkan hasil pengamatan dengan metode Kromatografi Lapisan Tipis menggunakan sinar UV dengan panjang gelombang 366 nm dengan atau tanpa penambahan NH_3 serta dengan reaksi warna dengan AlCl_3 disajikan pada Tabel 2.

Tabel 1. Interpretasi spektrum batu Ginjal.

Ikatan yang bervibrasi	Gugus fungsional	Tipe vibrasi	Posisi bil.gelombang contoh (cm)	Posisi bil gelombang standar (cm)	Molekul yang bersesuaian
CO_3	Karbonat	Ulur(asim)	1029,9	1040-1020	Carbapatite
$\text{C}=\text{O}$	Amida Peptida -COO	Ulur(asim) Ulur(asim)	1629 1317,3	1620 1420-1300	Whelwellite Weddelite

Keterangan :
 Carbapatite : batu ginjal kalsium fosfat hidoksil
 Whelwellite : batu ginjal kalsium oksalat monohidrat
 Weddelite : batu ginjal kalsium oksalat dihidrat

Tabel 2 Data kromatografi lapisan tipis fraksi air dan etil asetat.

Sampel	Harga Rf	UV 366 nm	$\text{NH}_3/\text{UV 366 nm}$	Dengan AlCl_3
Rutin C	0,54	Coklat merah	Coklat merah	Kuning
Fraksi air A1	0,45	Biru muda	Hijau biru	Kuning
A2	0,72	Lembayung gelap	Lembayung gelap	Kuning
A3	0,87	Jingga	Jingga	Kuning
Fraksi etil asetat B1	0,45	---	Biru muda	Kuning
B2	0,70	Lembayung gelap	Lembayung gelap	Kuning
B3	0,90	Jingga	Jingga	Kuning

Data data pada Tabel 2 dengan membandingkan harga Rf dan warna menunjukkan bahwa di dalam fraksi air maupun etil asetat terdapat flavonoid dengan kemungkinan jenis flavonoida sebagai berikut :^[4]

Pada fraksi air, bercak A1 kemungkinan flavon dan flavonon yang tidak mengandung 5-OH, misal 5-OH glikosida serta jenis flavonol tanpa 5-OH tetapi tersubstitusi di 3-OH bebas. Bercak A2 kemungkinan flavonol tersubstitusi pada 3-OH, mempunyai 5-OH bebas tetapi tanpa 4-OH bebas serta bercak A3 kemungkinan flavonol dengan 3-OH dan 5-OH bebas.

Sedangkan pada fraksi etil asetat, bercak B1 kemungkinan isoflavon tanpa 5-OH bebas, bercak B2 kemungkinan flavonol tersubstitusi pada 3-OH, mempunyai 5-OH bebas tanpa 4-OH bebas, bercak B3 kemungkinan flavonol dengan 3 OH dan 5-OH bebas.

Kalsium yang telarut dalam fraksi air dan etil asetat ditentukan kadarnya dengan Analisis Pengaktifan Neutron. Setelah dilakukan aktivasi kemudian dicacah dengan Spektrometer Gamma , diperoleh spektrum yang bervariasi antara 1283,62 sampai dengan 1367,38 yang merupakan kisaran energi yang terdapat pada kalsium standar yang hasilnya disajikan pada Tabel 3.

Data dalam Tabel 3 dengan berdasar pemilihan dan perbandingan dengan energi standar (1455,1 Kev) menunjukkan bahwa secara kualitatif di dalam fraksi air maupun etil asetat terdapat kalsium dan secara kuantitatif dengan menggunakan rumus cacah cuplikan/cacah standar dikalikan berat Ca standar diperoleh kadar Ca yang hasilnya disajikan dalam Tabel 4.

Data pada Tabel 4 menunjukkan bahwa fraksi etil asetat dan air pada semua kadar dapat melarutkan kalsium karena energi yang muncul pada hasil pencacahan mendekati energi kalsium standar dan secara kuantitatif kadar kalsium tertinggi terdapat di dalam fraksi air dengan kadar 20% dan di dalam fraksi etil asetat dengan kadar 12,5%.

Fraksi air dan atil asetat dapat melarutkan batu ginjal kalsium berarti di dalam fraksi air dan etil asetat terdapat zat aktif yang dapat membentuk kompleks dengan kalsium. Zat aktif tersebut apabila dikaitkan dengan hasil analisis kualitatif besar kemungkinan adalah flavonoid. Kemungkinan tersebut semakin mendekati kenyataan dengan adanya bukti bahwa di dalam fraksi air dan etil asetat terdapat kalsium mengingat secara kualitatif di dalam fraksi air maupun etil asetat juga mengandung flavonoid.

Tabel 3. Hasil pengamatan pengaktifan neutron.

Sampel	Energi keV	Cacah cps	Unsur	T ½ (menit)	Keterangan
Lar.CaCl ₂	1342,6	0,90	Ca	12,36	(n,p) K-42
Fa 10%	1336,13	0,48	Ca	12,36	(n,p) K-42
Fa 12,5%	1348,66	0,85	Ca	12,36	(n,p) K-42
Fa 15%	1347,72	0,69	Ca	12,36	(n,p) K-42
Fa 17,5%	1336,97	1,04	Ca	12,36	(n,p) K-42
Fa 20%	1330,25	2,00	Ca	12,36	(n,p) K-42
Fea 10%	1283,62	2,11	Ca	12,36	(n,p,) K-42
Fea ⊕,5%	1343,78	2,50	Ca	12,36	(n,p,) K-42
Fea 15%	1367,38	2,35	Ca	12,36	(n,p) K-42
Fea 17,5%	1354,13	0,32	Ca	12,36	(n,p)) K-42
Fea 20%	1366,79	0,38	Ca	12,36	(n,p) K-42

Keterangan : Fa : fraksi air
Fea : fraksi etil asetat

Tabel 4. Kadar kalsium terlarut dalam fraksi air dan etil asetat.

Sampel	Kadar fraksi (%)	Kadar Ca Terlarut ($\mu\text{g/ml}$)
Fraksi air	10	19,22
	12,5	21,57
	15	12,76
	17,5	15,14
	20	198,48
Fraksi etil asetat	10	34,18
	12,5	79,10
	15	67,95
	17,5	6,50
	20	5,98

KESIMPULAN

1. Sampel batu ginjal yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis batu ginjal kalsium.
2. Di dalam ekstrak daun meniran baik pada fraksi air maupun etil asetat terdapat kandungan flavonoid yang diduga kuat sangat berperan dalam melarutkan batu ginjal.
3. Ekstrak daun meniran (*Phyllanthus niruri L*) baik dalam fraksi air maupun etil asetat ternyata mampu melarutkan kalsium dalam sampel batu ginjal dengan kadar kalsium yang terlarut tertinggi terdapat pada fraksi air 20% dan fraksi etil asetat 12,5%.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] ELIN NURAINI, DARSONO dan SUNARDI., *Pengukuran Daya Larut Batu Ginjal Kalsium di Dalam Fraksi Air dan Etil Asetat Daun Mindi*, Prosiding Pertemuan dan Presentasi Ilmiah Penelitian Dasar Ilmu Pengetahuan dan Teknologi Nuklir Yogyakarta, 2005.
- [2] ANONIM, *Pemanfaatan Tanaman Obat*, edisi II Departemen Kesehatan RI Jakarta, 1983.

- [3] HARMANTO, *Mahkota Dewa Obat Pustaka Para Dewa*, Jakarta, 2000.
- [4] MARKHAM, *Cara Identifikasi Flanonoid*, ITB Bandung, 1988.
- [5] SASTROAMIDJOYO dan ANWAR, *Spektrometri Infra Merah*, LAKFIP UGM Yogyakarta, 1984.
- [6] STAHL, *Analisa Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*, ITB Bandung, 1985.
- [7] SUSETYO, *Spektrometri Gamma*, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta, 1988.

TANYA JAWAB

Zubaidah Irawati

- *Sebaiknya dilakukan uji lanjut untuk mengetahui efek radiasi Gamma dengan metode APNC tentang zat aktif daun meniran.*
- *Daun meniran kuning (k.a. $\leq 14\%$) \rightarrow kemas \rightarrow radiasi $3,5 \text{ k}\delta\gamma \rightarrow$ uji APNC.*

M. Yazid

- Saran diterima dan akan ditindaklanjuti

Agus Purwadi

- *Kenapa daun meniran mesti diekstrak dengan air dan etil alkohol ? Padahal alkohol kan tidak boleh diminum, bagaimana aplikasinya.*
- *Zat apa yang terkandung dalam daun meniran yang berperan dalam proses pelarutan batu ginjal.*

M. Yazid

- Karena air mengekstrak bahan aktif yang terkandung di dalam daun tersebut. Hal ini tidak ada hubungannya dengan alkohol yang tidak dapat diminum, karena dalam aplikasinya dilarutkan kristal dalam air atau dalam bentuk kapsul.
- Beberapa jenis flavonoid yang diduga berperan dalam proses pelarutan batu ginjal.