



Sertifikat ini terakreditasi oleh Ikatan Apoteker Indonesia berdasarkan SK PP IAI
No. 608/SK-SKP/PP.IAI/VI/2013 dengan Satuan Kredit Partisipasi (SKP):
Pembicara/Pembimbing 5 SKP | Juri Lomba 3 SKP | Moderator 2 SKP | Panitia 2 SKP |
Penyaji Oral/Poster 3 SKP | Peserta Seminar & Workshop 10 SKP |

Sertifikat

diberikan kepada:

Dr. YUFRI ALDI, M.Si, Apt

atas partisipasinya sebagai:

PENYAJI

pada acara:

SEMINAR NASIONAL & WORKSHOP

**“Pelayanan Kefarmasian
& Herbal Medicine”**

**PERKEMBANGAN
TERKINI
Sains Farmasi
dan Klinik**

Yang diselenggarakan oleh Fakultas Farmasi Universitas Andalas
bekerja sama dengan Pengurus Daerah Ikatan Apoteker Indonesia Sumatera Barat
di Convention Hall - Universitas Andalas, Kampus Limau Manis, Padang
pada tanggal 4-5 Oktober 2013.

Fakultas Farmasi
Universitas Andalas

Ikatan Apoteker Indonesia
Sumatera Barat

Panitia Pelaksana
Seminar Nasional & Workshop


Dr. Muslim Suardi, M.Si, Apt

Dekan


H. Zulkarnin, S.Si, MM, Apt

Ketua


Dr. Yufri Aldi, M.Si, Apt

Ketua



B-21

PROSIDING

SEMINAR NASIONAL & WORKSHOP

PERKEMBANGAN
TERKINI

Sains Farmasi
dan Klinik

“Pelayanan Kefarmasian & Herbal Medicine”

Padang, 4-5 Oktober 2013



FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS ANDALAS
IKATAN APOTEKER INDONESIA - SUMATERA BARAT

ISBN:978-602-71830-1-8



9 786027 183018

Prosiding
Seminar Nasional dan Workshop

Perkembangan Terkini Sains Farmasi Klinik 3
Tahun 2014

“ Pelayanan Kefarmasian & Herbal Medicine”

1 (satu) jilid; A4
349 Hal

ISBN : 978-602-71830-1-8

Hak Cipta © 2013 pada Penulis

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh isi buku ini dengan cara apapun, termasuk dengan cara penggunaan mesin fotocopy, tanpa izin sah dari penerbit

Percetakan	: Sukabina
Penyusun	: Fakultas Farmasi Universitas Andalas
Tim Editor	
Penanggung Jawab	: Dr. Muslim Suardi, M.Si, Apt
Ketua	: Dr. H. Yufri Aldi, M.Si, Apt
Sekretaris	: Yori Yuliandra, M.Farm, Apt
Anggota	: Dr. Friardi, Apt Dian Ayu Juwita, M.Farm, Apt Rahmi Yosmar, M.Farm, Apt Dwisari Dillasamola, M.Farm, Apt Nova Syafni, M.Farm, Apt
Layout	: Sari Jumiatti
Desain Sampul	: Jafril

Hak Cipta dilindungi Undang-undang
Isi diluar tanggung jawab Penerbit dan Percetakan

KATA PENGANTAR

Pertama tama kami mengucapkan Puji dan Syukur ke hadirat Allah SWT, yang telah melimpahkan Rahmat dan Karunianya kepada kita bersama, sehingga Seminar Nasional dan *workshop* Perkembangan Terkini Sains Farmasi dan Klinik III dengan tema "Pelayanan Kefarmasian dan *Herbal Medicine*" yang telah dilaksanakan pada Tanggal 4-5 Oktober 2013, berjalan dengan lancar dan sukses yang luar biasa dan telah dapat menyusung Buku Prosiding. Seminar Nasional ini merupakan bagian dari kegiatan Dies Natalis Faluktas Farmasi Universitas Andalas yang ke 49.

Ucapan terima kasih yang tidak terhingga kami sampaikan kepada Bapak Rektor Universitas Andalas, Dekan Fakultas Farmasi Universitas Andalas dan Ketua Pengurus Daerah Ikatan Apoteker Indonesia serta para alumni Fakultas Farmasi yang telah memberikan arahan dan membantu sehingga terlaksananya Seminar Nasional dan *workshop* Perkembangan Terkini Sains Farmasi dan Klinik III dan pembuatan Buku Prosiding.

Ucapan terima kasih yang tidak terhingga juga kami sampaikan kepada para Pemakalah Utama, Pemakalah Undangan dan Pemakalah Oral dan Pemakalah Poster yang telah datang dan telah menyampaikan karya ilmiahnya pada acara Seminar Nasional dan *workshop* Perkembangan Terkini Sains Farmasi dan Klinik III dan telah menyerahkan makalah lengkapnya pada Panitia.

Selanjutnya ucapan terima kasih kami kepada semua panitia dan tim editor sehingga dapat menyelesaikan pembuatan Buku Prosiding Seminar Nasional dan *workshop* Perkembangan Terkini Sains Farmasi dan Klinik III.

Akhirnya, kami mengucapkan permintaan maaf jika terdapat kesalahan dan kekurangan dalam penyusunan Buku Prosiding Nasional dan *workshop* Perkembangan Terkini Sains Farmasi dan Klinik III.

Semoga **Buku Prosiding** Seminar Nasional dan *workshop* Perkembangan Terkini Sains Farmasi dan Klinik III dapat bermanfaat bagi kita semua.

Padang, 10 Oktober 2013

Ketua Panitia,

(Dr. H. Yufri Aldi, M.Si. Apt.)

DAFTAR ISI

Hal

1	Formulasi Sediaan Chewable Lozenges Ekstrak Tanaman Jahe (<i>Zingiber officinale</i> rosc.) yang Diintroduksi Fungi Mikoriza Arbuskula <i>Andi Arfan Harahap</i>	1
2	Evaluasi Penggunaan Antibiotika pada Suatu Rumah Sakit Pemerintah di Kota Padang <i>Dedy Almasdy</i>	7
3	Formulasi Tablet Hisap Ekstrak Temulawak (<i>Curcuma xanthorrhiza</i> Roxb.) dengan Gelatin Sebagai Pengikat <i>Deni Noviza</i>	16
4	Pengaruh Pemberian Vanadyl Sulfat Dengan Kromium (III) Klorida Dalam Bentuk Tunggal Dan Kombinasi Terhadap Kadar Glukosa Serum Darah Mencit Putih Yang Diinduksi Deksamethason <i>Dwisari Dillasamola</i>	21
5	Optimasi Nanoemulsi Minyak Kelapa Sawit (Palm Oil) Menggunakan Sukrosa Monoester <i>Elfi Sahlan Ben</i>	31
6	Pengaruh Ekstrak Daun Jati (<i>Tectona grandis</i> L.F) Terhadap Fungsi Hati dan Fungsi Ginjal pada Mencit Putih Jantan <i>Elisma</i>	63
7	Uji Efek Sitotoksik Hasil Fraksinasi Ekstrak Etanol Akar Asam Kandis (<i>Garcinia cowa</i> Roxb.) Terhadap Sel Kanker Payudara T47d dengan Metoda MTT <i>Fajar Yonny Ilhami</i>	71
8	Kajian Efek Sitotoksik Hasil Fraksinasi Ekstrak Etanol Kulit Buah Asam Kandis (<i>Garcinia cowa</i> Roxb.) Terhadap Sel Kanker Payudara T47d dengan Metoda Microtetrazolium (MTT) <i>Fatma Sri Wahyuni</i>	78
9	Identifikasi Gen Babi pada Marshmallow Menggunakan Kit Olipro dalam Teknik PCR dan Southern Hybridization pada Chip <i>Hefi Kurnia Sari</i>	88

- 10 Pengaruh Persepsi Kepala Keluarga Mengenai Kekambuhan Pasien 93
Gangguan Jiwa Berat Terhadap Kepatuhan dalam Meminum Obat Secara
Teratur (Survey Terhadap Keluarga Pasien Rawat Jalan yang Berkunjung
ke Rumah Sakit Jiwa Provinsi Jawa Barat)
James Bertinus Sembiring
- 11 Pengembangan Metode PCR dan Southern Hybridization untuk Deteksi 116
Gen Babi pada Cangkang Kapsul
Marlina
- 12 Penggunaan Amilum Umbi Suweg (*Amorphophallus campanulatus* Bl. 122
Decne) Sebagai Pengikat Tablet Ibuprofen dengan Metode Granulasi
Basah.
Nelly Suryani
- 13 Pengembangan Antibodi Monoklonal Terhadap Antigen Spesifik 128
Mycobacterium tuberculosis Sebagai Kandidat Diagnosis Tuberkulosis
Melalui Sputum
Netti Suharti
- 14 Tinjauan Akumulasi Seftriakson dari Data Urin Menggunakan 134
Elektroforesis Kapiler pada Pasien Gangguan Fungsi Ginjal Stadium IV
Putri Siska Oviadita
- 15 Tinjauan Akumulasi Seftriakson dari Data Urin Menggunakan 149
Elektroforesis Kapiler pada Pasien Gangguan Fungsi Ginjal Stadium V
Resta Andria
- 16 Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Encok (*Plumbago zeylanica* L.) dalam 162
Pengobatan Nyeri Sendi pada Tikus Putih Jantan
Ria Afrianti
- 17 Formulasi Krim Tabir Surya Dari Kombinasi Etil P – Metoksisinamat 170
dengan Katekin
Rini Agustin
- 18 Efek Kurkuma Terhadap Kadar Alanine Aminotransferase pada 185
Pemakaian Obat Anti Tuberkulosa di Poliklinik Anak RSUD Arifin
Achmad Propinsi Riau
Rita Agustin

- 19 Efek Anti-Inflamasi dan Anti-Diare Ekstrak Etanol Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) dan Daun Ungu (*Garptophyllum pictum* L. Griff) 193
Ros Sumarny
- 20 Uji Sensitivitas Isolat Bakteri dari Pasien Luka Bakar di Bangsal Luka Bakar RSUP Dr. M. Djamil Padang 198
Rustini
- 21 Aktivitas Proteksi Fraksi Etil Asetat Daun Surian (*Toona sureni* Bl Merr.) Terhadap Disfungsi Sel Endotel Tikus Hiperkholesterolemia 207
Suhatri
- 22 Konstruksi Primer untuk Deteksi SNP RS12255372 pada Gen Transcription Factor 7 Like 2 (TCF7L2) Penyebab Diabetes Melitus Tipe-2 dengan Metode *Amplification Refractory Mutation System* (ARMS) – PCR 214
Syamsurizal
- 23 Penyiapan Radioimunokonjugat ¹⁷⁷Lu-DOTA-PAMAM G3- Nimotuzumab untuk Radioimunoterapi Kanker 224
Vanji Ikhsan Azis
- 24 Evaluasi Pengelolaan Obat dan Strategi Perbaikan dengan Metode Hanlon di Instalasi Farmasi Rumah Sakit Umum Daerah Karel Sadsuitubun Kabupaten Maluku Tenggara Tahun 2012 233
Wirdah Wati Renfan.
- 25 Gambir Terstandar Memperbaiki Fungsi Ginjal Tikus Gagal Ginjal yang Diinduksi Gliserol dan L-NAME 244
Yona Harianti Putri
- 26 Studi Efek Antihipertensi Tumbuhan Tali Putri (*Cassytha filiformis* L.) pada Tikus Hipertensi yang Diinduksi Prednison dan Garam 250
Yori Yuliandra
- 27 Uji Aktivitas Beberapa Subfraksi Ekstrak Etil Asetat dari Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.) Terhadap Titer Antibodi dan Jumlah Sel Leukosit pada Mencit Putih Jantan 257
Yufri Aldi
- 28 Evaluasi Penggunaan Kombinasi *Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor* dengan Furosemid Terhadap Fungsi Ginjal Pasien Gagal Jantung Kongestif di RSUP Dr. M. Djamil Padang 265
Surya Dharma

- 29 Studi Preformulasi Peningkatan Sifat Kelarutan Sulfametoksazol Melalui Pembentukan Kompleks Inklusi Dengan B-Siklodekstrin Menggunakan Metode *Co-Grinding* 270
Syofyan
- 30 Pengaruh Fraksi Air Herba Seledri (*Apium graveolens* L.) Terhadap Kadar Kolesterol Total Mencit Putih Jantan Hiperkolesterol 279
Meydiza Fahrefi
- 31 Analisis Kadar Kofein dari Sediaan Kopi Instan dengan Metode TLC-Scanner (Densitometri) 291
Lilik Rahayu Wulandari
- 32 Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Tapak Dara (*Catharantus Roseus* L) Terhadap Kadar Kolesterol Total Darah Mencit Putih Jantan 297
Surya Dharmma
- 33 Pengaruh Perilaku Kerja, Lingkungan Kerja, dan Interaksi Sosial Terhadap Kepuasan Kerja dengan Motivasi Sebagai Variabel Pemediiasi (Studi pada Staf Rumah Sakit Umum Daerah Pandan Arang Boyolali) 302
Astri Aslam
- 34 Formulasi Mikrokapsul Glikuidon Menggunakan Penyalut Etil Selulosa dengan Metode Emulsifikasi Penguapan Pelarut 310
Febriyenti
- 35 Pengembangan Sediaan Eksfolian dan Uji Antioksidan Ekstrak Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus Sabdariffa* L.) dalam Upaya Melawan Radikal Bebas 323
Endang Lukitaningsih
- 36 Efek Diuretik dan Daya Larut Batu Ginjal dari Ekstrak Etanol Rambut Jagung (*Zea mays* L.) 331
Nessa
- 38 Kajian Profil Metabolit Minyak Atsiri Tanaman Jahe Putih Besar (*Zingiber officinale* Rosc.) Yang Diintroduksi Fungi Mikoriza Arbuskula 345
Netty Suharti, Dachriyanus, Abdul Syahriandi

UJI AKTIVITAS BEBERAPA SUBFRAKSI EKSTRAK ETIL ASETAT DARI HERBA MENIRAN (*Phyllanthus niruri* Linn.) TERHADAP TITER ANTIBODI DAN JUMLAH SEL EUKOSIT PADA MENCIT PUTIH JANTAN

Yufri Aldi, Idil Farhan dan Dian Handayani
Fakultas Farmasi Universitas Andalas

ABSTRAK

The study concerning the activity of ethyl acetate subfraction from meniran herbs (*Phyllanthus niruri* Linn.) on antibody titers and leukocyte cell numbers in male white mice has been conducted. Subfraction 1,2,3,4,5,6,7 and 8 at dose 100mg/KgBB and twen 80 1% and sheep erythrocytes 5% as a control given for 7 days. Titers number and leukocyte cell numbers counted on day-8. The results show that subfraction 1,2,3,4,5,6,7 and 8 at dose of 100 mg / kgBB increased the titers number significantly ($P < 0.05$), the highest activity is given by subfraction 4, whereas leukocyte cell numbers are not showed significant differences ($P > 0.05$). This results indicated the the immunostimulant activity of ethyl acetate subfraction from meniran herb (*Phyllanthus niruri* Linn.).

Keywords: *Phyllanthus niruri* Linn., titer antibody, leucosit

PENDAHULUAN

Lingkungan di sekitar manusia mengandung berbagai jenis organisme yang bersifat patogen. Organisme tersebut bisa berupa bakteri, virus, jamur, protozoa, serta parasit. Organisme tersebut bisa menyebabkan penyakit pada manusia itu sendiri (Kresno, 2001).

Manusia mempunyai sistem pertahanan tubuh yang lengkap untuk menghadapi serangan organisme patogen. Akan tetapi, munculnya manifestasi penyakit pada seorang individu tidak hanya dipengaruhi oleh organisme patogen tersebut. Proses munculnya manifestasi penyakit dipengaruhi oleh sistem pertahanan tubuh yang lemah. Ketika sistem pertahanan tubuh (imunitas) berfungsi secara maksimal, paparan unsur patogen tidak sampai menimbulkan penyakit. Namun, dengan melemahnya imunitas tubuh, paparan ringan dapat menimbulkan penyakit, terlebih jika terjadi serangan agen infeksi yang ganas (Kresno, 2001)

Salah satu upaya yang digunakan masyarakat untuk mengatasi gangguan sistem imun adalah dengan mengkonsumsi

tanaman obat. Salah satu tanaman yang berkhasiat sebagai imunomodulator adalah *Phyllanthus niruri* Linn. Saat keadaan fungsi dan jumlah sel imun kurang memadai, upaya peningkatan melalui pemberian imunostimulan menjadi sangat penting (Kresno, 2001).

Perkembangan penggunaan obat-obatan tradisional khususnya dari tumbuh-tumbuhan untuk membantu meningkatkan derajat kesehatan masyarakat sudah cukup meluas. Secara empiris masyarakat memanfaatkan tumbuh-tumbuhan tersebut sebagai obat, akan tetapi masih sedikit yang diteliti tentang kandungan zat aktif didalamnya, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian tentang kandungan kimia dan efek farmakologinya (Putra, 2010).

Tumbuhan meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.) telah digunakan oleh masyarakat sebagai pengobatan untuk batu ginjal, hepatitis, demam, flu, tuberkulosis, anemia, kanker hati, infeksi bakteri seperti penyakit kelamin dan infeksi saluran kemih, diabetes, hipertensi serta untuk diuretik, analgesik, dan antispasmodik. Dalam

penelitian klinis selama bertahun-tahun. tumbuhan ini telah menunjukkan aktivitas antihepatotoksik, antilithik, analgesik, hipotensi, antispasmodik, antivirus, antibakteri, diuretik, antimutagenik, dan aktivitas hipoglikemik (Taylor, 2003).

Phyllanthus niruri memiliki banyak kandungan kimia, salah satunya adalah golongan lignan, yaitu filantin dan hipofilantin. Filantin dilaporkan sebagai konstituen terapi aktif dan berfungsi sebagai agen hepatoprotektif (Arvind, Ram, Anil,

Madan, and Suman, 2006; Khan, 2010). Namun sejauh ini, berdasarkan studi literatur belum ada informasi tentang penelitian bioaktivitas ekstrak etil asetat herba meniran sebagai imunomodulator.

Berdasarkan uraian diatas, maka dilakukan penelitian tentang uji aktivitas subfraksi dari tumbuhan meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.) untuk mengetahui pengaruhnya terhadap titer antibodi dan jumlah sel leukosit.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan adalah kertas saring, alat soklet, *rotary evaporator*, alat kromatografi kolom flash, vial, bejana (*chamber*), plat KLT, pipet tetes, lampu UV 254 nm, timbangan hewan, timbangan analitik, lumpang dan stamper, kaca objek, mortar dan stamper, neraca hewan, oral sonde, kandang mencit, mikroskop, mikropipet.

Bahan

Bahan yang digunakan adalah meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.), *n*-heksan, etil asetat, air suling, NaCl fisiologis, eritrosit kambing, metanol murni, pewarna giemsa.

Prosedur Kerja

Sebanyak 5 kg sampel kering meniran dirajang halus, kemudian dimaserasi dengan menggunakan pelarut etil asetat dalam botol coklat selama 5 hari sehingga didapat ekstrak. Ekstrak disaring dengan kertas saring Whatman No. 1 dan maserasi diulangi kembali sampai tiga kali. Gabungan filtrat maserat kemudian dikentalkan secara *in-vacuo* dengan menggunakan alat *rotary evaporator*.

Kemudian hasil ekstrak kental dikromatografi kolom flash menggunakan metoda SGP (Step Gradien Polarity) dengan perbandingan pelarut sebagai berikut: Heksan 100%, Heksan : etil asetat (19:1), Heksan : etil asetat (9:1), Heksan : etil asetat (4:1), Heksan : etil asetat (2:1), Heksan : etil asetat (1:1), Heksan : etil asetat (1:4), Etil asetat 100%

Pembuatan larutan antigen

Darah kambing dicuci dengan NaCl fisiologis (1:1) masing-masing sebanyak 5 ml aduk homogen. Kemudian disentrifus dengan kecepatan 2000 rpm selama 15 menit, buang supernatannya, ulangi 3 kali dengan menambahkan NaCl fisiologis setiap pengulangan. Setelah didapatkan eritrosit kambing, kemudian buat suspensi 5%, caranya ambil 0,2 ml eritrosit kambing lalu tambahkan dengan NaCl fisiologis hingga volume 4 ml.

Pembuatan larutan uji

Larutan uji dengan dosis 100 mg/kg BB dibuat dengan cara mensuspensikan 2 mg subfraksi etil asetat herba meniran dengan 0,1 ml tween 80. Kemudian gerus homogen dan cukupkan volume dengan aquadest sampai 0,2 ml.

Sensitisasi hewan

Mencit disensitisasi (diberi antigen) dengan 0,2 ml suspensi eritrosit kambing 5% pada hari 1 secara intra peritoneal, kemudian lakukan pembosteran dengan 0,1 ml suspensi eritrosit kambing 5% secara subkutan pada hari ke-7. Suspensi dari subfraksi diberikan pada hari ke-8 sampai hari ke-14 secara oral dengan dosis 100 mg/kg BB.

Penentuan Titer Antibodi

Pada hari ke-15 mencit dibunuh, ambil darah dengan cara memotong vena bagian leher, biarkan selama 30 menit, lalu

disentrifus dengan kecepatan 2000 rpm selama 15 menit. Ambil bagian serumnya. siapkan 10 tabung reaksi. masukkan larutan NaCl fisiologis 0.2 ml pada semua tabung. Pada tabung pertama ditambahkan 0.2 ml serum. kocok sampai homogen. Pindahkan 0.2 ml larutan tabung pertama kedalam tabung kedua kemudian kocok dan pipet 0.2 ml larutan tabung kedua, pindahkan kedalam tabung ketiga. Lakukan ini sampai tabung kesepuluh. pada tabung 10 buang 0.2 ml. sehingga hasil pengenceran dari serum yaitu, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, 1/512, 1/1024. Masukkan 0.1 ml suspensi eritrosit kambing 5% ke dalam masing-masing tabung reaksi tersebut. Sentrifus selama 5 menit dengan kecepatan 2000 rpm, amati gumpalan yang terjadi.

Angka titer ditentukan dengan pengenceran tertinggi dari serum mencit yang masih dapat beraglutinasi dengan eritrosit kambing.

Menghitung Jumlah Sel Leukosit dari Hapusan Darah

Darah segar diteteskan pada gelas objek (1 tetes) tipiskan dan ratakan dengan gelas objek lain sehingga diperoleh lapisan darah yang homogen (hapusan darah), lalu keringkan. Setelah kering ditetesi dengan metanol sehingga menutupi seluruh hapusan darah, biarkan 5 menit. Tambahkan satu tetes giemsa yang telah diencerkan dalam aquades (1:20), biarkan selama 20 menit. Cuci dengan aquadest, setelah kering lihat dibawah mikroskop. Hitung jumlah sel eusinofil, netrofil batang, netrofil segmen, limfosit, dan monosit pada perbesaran 1000 X dengan menggunakan minyak emersi.

Analisis Data

Data hasil penelitian ini diolah secara statistik dengan menggunakan ANOVA satu arah, dan dilanjutkan dengan uji berjarak Duncan (*Duncan Multiple Range Test*).

HASIL DAN DISKUSI

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah tumbuhan meniran. Bagian tumbuhan meniran yang digunakan adalah seluruh bagian tumbuhan kecuali akarnya.

Sampel meniran segar dikeringkan selama 3 hari sehingga sampel menjadi kering, kemudian sampel meniran yang telah kering tersebut digrinder sampai menjadi halus. Sampel tersebut kemudian diekstraksi dengan menggunakan metoda maserasi. Dengan cara ini sampel dapat diekstraksi dalam jumlah yang lebih banyak, tidak memerlukan peralatan khusus, pengerjaannya mudah dan sederhana, serta tanpa pemanasan sehingga perubahan kimia terhadap senyawa-senyawa tertentu dapat dihindari. Dengan demikian, metoda ini baik untuk sampel dengan zat aktif yang tahan pemanasan maupun zat aktif yang tidak tahan pemanasan (Depkes RI, 2000).

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut etil asetat (Anonim, 2009; Arvind, Ram, Anil, Madan, and

Suman, 2006). Sampel dimaserasi selama lima hari dengan tiga kali pengulangan agar zat aktif tertarik secara maksimal. Rendaman sampel dikocok tiga sampai empat kali sehari agar pelarut mengalir berulang-ulang masuk ke seluruh permukaan sampel, sehingga bahan ekstraktif lebih cepat berpindah ke dalam pelarut.

Maserat yang diperoleh diuapkan dengan destilasi vakum untuk mengurangi tekanan udara pada permukaan, sehingga akan menurunkan tekanan uap pelarut yang selanjutnya akan menurunkan titik didihnya. Hal ini dapat mengurangi kemungkinan terurainya senyawa yang tidak tahan pemanasan (Depkes RI, 2000). Selanjutnya sampel dipekatkan dengan menggunakan *rotari evaporator* sampai didapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental meniran diperoleh sebanyak 178 gram.

Ekstrak kental tersebut selanjutnya diisolasi menggunakan kromatografi kolom flash. Sebelumnya dibuat sediaan preabsorpsi dengan cara melarutkan 80 g ekstrak kental

yang etil asetat, dan ditambah dengan 80 g silika gel, kemudian dirotary menggunakan rotary evaporator sampai seluruh pelarut kering. Setelah itu masukkan silika gel 100 g kedalam kolom dan dibasahi dengan n-heksan yang bertujuan agar permukaan silika menjadi datar dan padat. Lalu sediaan preabsorpsi dimasukkan sedikit demi sedikit kedalam kolom agar permukaannya datar dan tidak berongga. Kemudian dilakukan elusi menggunakan kombinasi pelarut n-heksan dan etil asetat (Putra, 2010; Nayak, Upadhyay, Dwidevi, Rao, 2010). Isolasi dilakukan menurut metoda SGP (*Step Gradien Polarity*) menggunakan eluen n-heksan 100 %, H:E (19:1), H:E (9:1), H:E (4:1), H:E (2:1), H:E (1:1), H:E (1:4), Etil asetat 100%.

Subfraksi dari tumbuhan meniran diuji dalam dosis 100 mg/ kgBB. Dosis 100 mg/ KgBB dipilih karena pada uji pendahuluan terhadap 7 ekor mencit putih jantan, dosis ini tidak memperlihatkan efek toksik terhadap mencit. Karena sifat subfraksi meniran yang sukar larut dalam cairan pembawa, maka larutan uji dibuat dengan menambahkan *suspending agent* tween 80 sehingga dihasilkan campuran yang homogen. *Suspending agent* ini berfungsi menurunkan tegangan permukaan bahan dengan air (Putra, 2012).

Setelah dilakukan isolasi didapat hasil dari tiap subfraksi sebagai berikut:

1. Sub fraksi n- heksan sebanyak 89,5 g
2. Sub fraksi n-heksan : etil asetat (19:1) sebanyak 8,5 g
3. Sub fraksi n-heksan : etil asetat (9:1) sebanyak 4 g
4. Sub fraksi n-heksan : etil asetat (4:1) sebanyak 4,2 g
5. Sub fraksi n-heksan : etil asetat (2:1) sebanyak 7,6 g
6. Sub fraksi n-heksan : etil asetat (1:1) sebanyak 9,7 g
7. Sub fraksi n-heksan : etil asetat (1:4) sebanyak 8,3 g
8. Sub fraksi etil asetat sebanyak 4,5 g

Penentuan titer antibodi dilakukan dengan metoda hemaaglutinasi. metoda ini digunakan karena murah dan waktu yang dibutuhkan untuk mengetahui angka titernya relatif singkat. Angka titer ditentukan pada pengenceran tertinggi dari serum mencit yang masih dapat beraglutinasi dengan sel darah merah kambing (Subowo, 1993). Angka titer dapat dicari dengan rumus 2^{\log} pengenceran. Aglutinasi yang terjadi dipengaruhi oleh komplemen. Antigen yang digunakan eritrosit kambing 5% yang diinjeksikan pertama kali secara intra peritorial dengan tujuan agar terbentuk antibodi spesifik terhadap atigen dalam tubuh mencit dan terbentuk pula sel memori yang akan mengenal antigen tersebut pada pemaparan berikutnya (Suhatri., Aldi. Y. 2010).

Pemilihan eritrosit kambing 5% sebagai antigen terbukti dapat meningkatkan jumlah antibodi dari serum mencit. Setelah pemberian suspensi eritrosit kambing 5% dan pemberian beberapa subfraksi meniran didapat hasil bahwa subfraksi meniran dapat meningkatkan produksi antibodi dan subfraksi yang memberikan angka titer paling tinggi adalah subfraksi n-heksan – etil asetat (4:1) yaitu dengan angka titer 8.67. diikuti oleh subfraksi n- heksan – etil asetat (9:1) dengan angka titer 8.33. Angka titer paling rendah ditunjukkan oleh subfraksi n-heksan : etil asetat (1:4) dan subfraksi etil asetat dengan angka titer sama yaitu 4. Sedangkan untuk kontrol negatif dan kontrol positif didapat angka titer masing-masing 1,67 dan 3,33.

Hasil uji statistik analisa varian satu arah dan dilanjutkan dengan uji berjarak memperlihatkan bahwa subfraksi meniran memberikan efek secara bermakna terhadap produksi antibodi. Subfraksi yang menunjukkan pengaruh paling tinggi adalah subfraksi n-heksan : etil asetat (4:1).

Tabel I. Hasil penentuan Titer Antibodi Dari Serum Mencit Putih Jantan Setelah Diinduksi Dengan Eritrosit Kambing 5% dan Pemberian Subfraksi dari Meniran

No	1		2		3		Rata-rata
	Pengenceran	Angka titer	pengenceran	Angka titer	pengenceran	Angka titer	
Kontrol -	1/2	1	¼	2	1/4	2	1.67
Kontrol +	1/16	4	1/8	3	1/8	3	3.33
I	1/32	5	1/64	6	1/32	5	5.33
II	1/64	6	1/128	7	1/64	6	6.33
III	1/512	9	1/256	8	1/256	8	8.33
IV	1/256	8	1/512	9	1/512	9	8.67
V	1/128	7	1/64	6	1/256	8	7
VI	1/128	7	1/256	8	1/32	5	6.67
VII	1/32	5	1/16	4	1/8	3	4
VIII	1/64	6	1/8	3	1/8	3	4

Pada perhitungan jumlah sel leukosit digunakan metoda hapusan darah. Sel leukosit yang diamati adalah sel eosinofil, sel neutrofil batang, sel neutrofil segmen, sel limfosit, dan sel monosit. Sedangkan sel basofil tidak tampak. Hasil dari perhitungan jumlah sel leukosit didapatkan bahwa sel eosinofil terdapat dalam jumlah yang sangat kecil dalam tubuh. Sedikitnya jumlah sel eosinofil ini menyebabkan kecilnya aktifitas fagositosis dari sel tersebut. Sedangkan

jumlah sel neutrofil segmen lebih banyak dibandingkan dengan sel neutrofil batang. Sel leukosit yang paling banyak jumlahnya adalah sel limfosit.

Dari hasil uji statistik analisa varian satu arah terlihat bahwa subfraksi ekstrak etil asetat dari herba meniran tidak memberikan efek secara bermakna terhadap sel limfosit, sel eosinofil, sel neutrofil batang, sel neutrofil segmen dan sel monosit.

Tabel II. Hasil Perhitungan Sel Leukosit Darah Mencit Putih Jantan Setelah Diinduksi Dengan Eritrosit Kambing 5% dan Pemberian Subfraksi dari Meniran

Kelompok perlakuan	Persen sel leukosit					
	no	eosinofil	Neutrofil batang	Neutrofil segmen	limfosit	Monosit
Kontrol -	1	2	7	27	54	10
	2	2	9	24	56	9
	3	1	8	25	57	9
	Rata-rata	1,67	8	25,33	55,67	9,33
	±SD	0,57	1	1,52	1,52	0,57
Kontrol +	1	2	8	25	55	10
	2	3	7	28	53	9
	3	2	9	28	53	8
	Rata-rata	2,33	8	27	53,67	9
	±SD	0,57	1	1,73	1,15	1
I	1	2	7	22	55	9
	2	3	8	24	53	12

	3	2	11	22	55	10
	Rata-rata	2,33	8,66	22,66	54,33	10,33
	±SD	0,57	2,08	1,15	1,15	1,52
II	1	2	9	26	53	10
	2	4	10	23	54	9
	3	2	13	22	56	7
	Rata-rata	2,67	10,67	23,66	54,33	8,66
	±SD	1,15	2,08	2,08	1,52	1,52
III	1	2	9	25	52	12
	2	3	10	23	55	9
	3	3	12	26	51	8
	Rata-rata	2,67	10,33	24,67	52,66	9,67
	±SD	0,57	1,52	1,52	2,08	2,08
IV	1	2	9	25	56	8
	2	3	11	25	51	10
	3	3	8	27	53	9
	Rata-rata	2,67	9,33	25,67	53,33	9
	±SD	0,57	1,52	1,15	2,511	1
V	1	3	10	23	56	8
	2	2	10	26	52	10
	3	3	8	22	56	11
	Rata-rata	2,67	9,33	23,67	54,67	9,67
	SD	0,577	1,15	2,08	2,30	1,52
VI	1	2	9	26	53	10
	2	3	8	24	56	9
	3	2	12	23	52	11
	Rata-rata	2,33	9,67	24,33	53,67	10
	±SD	0,57	2,08	1,52	2,08	1
VII	1	3	11	26	51	9
	2	2	9	23	56	10
	3	2	12	26	52	8
	Rata-rata	2,33	10,66	25	53	9
	±SD	0,57	1,52	1,73	2,61	1
VIII	1	2	11	23	53	11
	2	3	10	24	53	10
	3	3	9	24	56	8
	Rata-rata	2,67	10	23,66	54	9,67
	±SD	0,57	1	0,57	1,73	1,52

Dari parameter diatas yaitu uji titer antibodi dan perhitungan peningkatan jumlah sel leukosit dapat disimpulkan bahwa

subfraksi dari tumbuhan meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.) terbukti dapat meningkatkan produksi antibodi.

KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat diperoleh kesimpulan bahwa pemberian subfraksi ekstrak etil asetat dengan dosis 100 mg/KgBB dari herba meniran dapat meningkatkan titer antibodi, namun tidak

berpengaruh terhadap jumlah sel leukosit dan subfraksi yang menunjukkan efek imunomodulator paling tinggi adalah subfraksi dengan perbandingan pelarut n-heksan : etil asetat (4:1).

DAFTAR PUSTAKA

- Anief. M. 1995. *Ilmu Meracik Obat, Teori dan Praktik*, Edisi V. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press
- Annamalai, A., Lakshmi, P.V.T. 2009. HPTLC and HPLC Analysis of Bioactive Phyllanthin from Different Organ of *Phyllanthus amarus*. *Asian Journal of Biotechnology ISSN 1996-0700* : 1-9
- Anonim. 2008. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. Trieste, Italy : ICS-UNIDO
- Anonim. *Phyllanthus amarus. Natural Remedies Research Centre :1-32*
- Arvind, K.T., Ram K.V., Anil K.G., Madan M.G and Suman P.S. 2006. Quantitative Determination of Phyllanthin and Hypophyllanthin in *Phyllanthus*. Species by High-performance Thin Layer Chromatography. *Phytochem. Anal.* **17**: 394-397
- Bellanti, J.A. 1993. *Immunologi III*. Washington. D.C: Georgetown University School of Medicine
- Baratawidjaja, K.G. dan Rengganis, I. 2009. *Imunologi Dasar*, Edisi VIII. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- CCRAS. 2009. *Marker Compounds of Select Ayurvedic Drugs*. New Delhi: CCRAS
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat* (Edisi I). Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.
- Halim, Z. 2010. *Acute Toxicity Determination Of Phyllanthus Niruri*. Semarang : Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro
- Hariana, A. 2007. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Seri I. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Jayasinha. P. 1999. Pitakawa, a Literature Survey *Medicinal and Aromatic Plant Series, No. 10*
- Kardinan, A., Kusuma, F.R. 2004. *Meniran Penambah Daya Tahan Tubuh Alami*. Jakarta : Agromedia Pustaka
- Kasthuri, J., Kathiravan, K., Rajendiran, N. 2009. Phyllanthin-Assisted Biosynthesis of Silver and Gold Nanoparticles: A Novel Biological Approach. *J Nanopart Res*, **2009 11**:1075-1085
- Khan S., Al-Qurainy1 F., Ram M., Ahmad S., Abdin M.Z. 2010. Phyllanthin Biosynthesis in *Phyllanthus amarus* : Schum and Thonn Growing at Different Altitudes. *Journal of Medicinal Plants Research Vol. 4(1)* : 041-048
- Kindt, T.J., Goldsby, R.A. and Osborn, B.A. 2007. *Kuby Immunology*. New York: WH Freeman and Company.
- Kresno, S.B. 2001. *Imunologi: diagnosis dan prosedur laboratorium*. Edisi keempat. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

- Mackinnon, L.T. 1999. *Advances in Exercise Immunology*. United States: Human Kinetics.
- Murugaiyah, V. 2008. *Phytochemical, Pharmacological and Pharmacokinetic Studies of Phyllanthus niruri Linn. Lignans as Potential Antihyperuricemic agents* (Thesis). George Town: Universiti Sains Malaysia
- Murugaiyah, V., Chan Kit-ham. 2007. A Method for Determination of Four Lignans in *Phyllanthus niruri* by a Simple High Performance Liquid Chromatography (HPTLC) Method with Fluorescence Detection. *J. Chromatography*, 2007, 1154: 198-204
- Nayak, P.S., Upadhyay, A., Dwidevi, S.K., Rao, S. 2010. Quantitative Determination of Phyllanthin in *Phyllanthus amarus* by High-Performance Thin Layer Chromatography. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, vol. 9, núm. 5, 2010: 353-358
- Putra, D.P. 2010. *Isolasi senyawa filantin dari daun meniran (Phyllanthus niruri Linn)*. (Skripsi). Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah
- Putra, I A. 2012. *Uji Aktivitas Imunosupresan Dari Ekstrak Etanol Daun Keladi Tikus (Thyponium Flagelliforme (Lodd) Bl) Terhadap Mencit Putih Jantan* (Skripsi). Padang : Fakultas Farmasi Universitas Andalas
- Subowo 1993. *Imunobiologi*. Bandung: Penerbit Angkasa
- Suhatri., Aldi. Y. 2010. Aktifitas Ekstrak Etanol Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa linn.*) Terhadap Titer Antibodi dan Jumlah Sel Leukosit Pada Mencit Putih Jantan. *Scientia Vol 1 no 1 2010* : 26-33
- Radji, M. 2010. *Imunologi dan Virologi*. Edisi I. Jakarta: PT. ISFI Penerbitan.
- Taylor, L. 2003. Technical Data Report for CHANCA PIEDRA "Stone Breaker" (*Phyllanthus niruri*) preprinted from Herbal Secrets of the Rainforest, 2nd edition. Sage Press, Inc.
- Thakur, J.S., Agarwal, R.K., Kharya, M.D. 2011. Immobilization Mediated Enhancement of Phyllanthin and Hypophyllanthin from *Phyllanthus amarus*. *Biomedical and Biotechnology IPCBEE*, vol.16: 107-113
- Thakur, J. S. , Kharya, M.D. 2011. Enhancing Hepatoprotective Bioactive's from *Phyllanthus Amarus* Through Immobilization. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*, Vol. 1, No. 4, November 2011 : 302-306