

AKTIVITAS ANTIINFLAMASI SENYAWA FLAVONOID EKSTRAK HERBA MENIRAN (*Phyllanthus niruri* L.) DENGAN METODE STABILITAS MEMBRAN SEL SECARA *IN VITRO*

ANTINFLAMMATORY ACTIVITY OF FLAVONOID COMPOUNDS FROM MENIRAN HERBA EXTRACT (*Phyllanthus niruri* L.) USING THE CELL MEMBRANE STABILITY BY *IN VITRO* METHODS

Satwika Budi Sawitri¹, Ahyana Fitriani¹, Amal Fadholah¹, Kurniawan¹, Nidya Rahma Kumala¹

¹ Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Darussalam Gontor, Ponorogo, Indonesia

satwika.budi.sawitri@unida.gontor.ac.id

Article info:

Submitted : 01-8-2024

Revised : 04-9-2024

Accepted : 12-9-2024



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License

Publisher:

PC IAI Sragen

ABSTRAK

Inflamasi merupakan respon suatu jaringan terhadap munculnya rangsangan fisik maupun kimia sehingga akan dilepaskan mediator inflamasi seperti histamin, serotonin, bradikinin dan prostaglandin. Kerusakan sel akibat inflamasi mempengaruhi leukosit untuk mengeluarkan enzim lisosomal dan asam arachidonat. Penangan kejadian inflamasi dengan penggunaan obat antiinflamasi non steroid (AINS) dan antiinflamasi steroid. Penggunaan jangka panjang obat-obatan tersebut dapat menimbulkan kerusakan jaringan. Herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.) dengan kandungan metabolit sekunder seperti senyawa flavonoid dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan karena efektivitasnya sebagai antiinflamasi. **Tujuan** dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol herba meniran sehingga dapat menghambat terjadinya reaksi inflamasi. Penelitian ini menggunakan **metode** stabilitas membran sel secara *in vitro* berdasarkan perhitungan nilai IC₅₀. Kemampuan ekstrak dalam menghambat inflamasi dapat dilihat berdasarkan pengaruhnya terhadap stabilitas membrane sel. **Hasil penelitian** menunjukkan berdasarkan pengujian aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol herba meniran terhadap stabilitas membran sel yang dilakukan dengan menghitung presentase stabilitas membrane sel menunjukkan bahwa pada konsentrasi 800 ppm ekstrak herba meniran mempunyai aktivitas antiinflamasi tertinggi sebesar 99,26%. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan maka potensi dalam menstabilkan membran sel yang induksi larutan hipotonik akan semakin meningkat. Nilai IC₅₀ yang diperoleh menunjukkan dalam penelitian ini menunjukkan pada angka 44,236 ppm yang berarti bahwa ekstrak herba meniran memiliki aktivitas antiinflamasi dalam kategori sangat aktif karena < 50 ppm.

Kata Kunci: Antiinflamasi; Flavonoid; Herba Meniran; *In-Vitro*

ABSTRACT

Inflammation is a tissue response to physical or chemical stimuli that will release inflammatory mediators such as histamine, serotonin, bradykinin and prostaglandins. Cell damage due to inflammation affects leukocytes to release lysosomal enzymes and arachidonic acid. Treatment of inflammatory events with the use of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and steroidal anti-inflammatories. Long-term use of these drugs can cause tissue damage. *Phyllanthus niruri* L. with secondary metabolite content such as flavonoid compounds can be used as an alternative treatment because of its effectiveness as an anti-inflammatory. The purpose of this study was to determine the anti-

inflammatory activity of ethanol extract of meniran herb so that it can inhibit the occurrence of inflammatory reactions. This study used the *in vitro* cell membrane stability method based on the calculation of the IC₅₀ value. The ability of the extract to inhibit inflammation can be seen based on its effect on cell membrane stability. The results showed that based on testing the anti-inflammatory activity of ethanol extract of meniran herb on cell membrane stability which was carried out by calculating the percentage of cell membrane stability, it showed that at a concentration of 800 ppm, meniran herb extract had the highest anti-inflammatory activity of 99.26%. The higher the concentration of the extract used, the potential to stabilize the cell membrane induced by hypotonic solutions will increase. The IC₅₀ value obtained in this study showed a figure of 44.236 ppm, which means that the meniran herb extract has anti-inflammatory activity in the very active category because it is <50 ppm.

Keywords: Anti-inflammatory; Flavonoids; Meniran Herbs; In-Vitro

1. INTRODUCTION

Inflamasi merupakan respon dari jaringan terhadap munculnya rangsangan secara fisik maupun kimia sehingga akan menyebabkan dilepaskannya mediator inflamasi seperti bradikinin, serotonin, histamin serta prostaglandin. Respon ini akan menimbulkan berbagai reaksi seperti peradangan ataupun nyeri dan demam. Peradangan terkadang terlihat adanya pembengkakan atau kemerahan serta dapat menyebabkan penurunan atau gangguan suatu fungsi. Kerusakan sel akibat inflamasi mempengaruhi selaput membran sel sehingga memicu leukosit untuk segera mengeluarkan enzim lisosomal dan asam arachidonat. Metabolisme asam arachidonat menginduksi prostaglandin dan berbagai sel yang terlibat dalam inflamasi (Katzung, 2004). Proses inflamasi sendiri merupakan salah satu mekanisme pertahanan tubuh terhadap adanya benda asing, hal ini dapat berlangsung terus menerus atau bersifat kronis sehingga akan menyebabkan kerusakan pada jaringan (Docke *et al.*, 1997).

Sebagian besar penyakit inflamasi dapat diobati dengan obat antiinflamasi non steroid (AINS) dan antiinflamasi steroid. Penggunaan jangka panjang obat-obat tersebut menimbulkan gangguan saluran pencernaan serta iritasi lambung hingga pendarahan, gangguan ginjal, dan anemia (Kurnia *et al.*, 2019). Nilai medis tanaman obat yang tinggi, serta keanekaragaman tumbuhan di Indonesia menjadikan ramuan herbal menjadi alternatif pengobatan dengan efek samping yang lebih sedikit (Porto *et al.*, 2013). Berdasarkan penelitian Aldi *et al.*, (2014) meniran mempunyai menunjukkan aktivitas sebagai imunomodulator pada uji secara *in vivo* dengan mencit putih. Kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam herba *Phyllanthus niruri* yang termasuk golongan lignan, seperti *phyllanthin* dan *hypophyllanthin*. *Phyllanthin* merupakan konstituen aktif sebagai agen hepatoprotektif (Arvin *et al.*, 2006; Khan, 2010).

Senyawa Flavonoid dan senyawa lain seperti filantin dan hipofilantin dalam ekstrak meniran memiliki aktivitas antiinflamasi. Flavonoid sebagai antiinflamasi berkerja dengan cara menghambat metabolisme asam arachidonat, pembentukan prostaglandin dan pelepasan histamin. Selain itu flavonoid sebagai agen yang menghambat enzim siklooksigenase dan lipooksigenase (Arifah *et al.*, 2017). Cara kerjanya dengan mencegah pelepasan enzim dari dalam lisosom selama proses inflamasi berlangsung.

Metode stabilitas membran sel HRBC (*Human Red Blood Cells*) digunakan sebagai metode untuk menilai aktivitas antiinflamasi karena membran sel darah merah (eritrosit) mirip dengan membran lisosom yang dapat mempengaruhi proses inflamasi (Belinda *et al.*, 2020). Selain itu kerusakan yang terjadi pada membran lisosom dapat memicu proses pelepasan fosfolipase A2 sehingga akan terjadi hidrolisis fosfolipid dalam melepaskan mediator inflamasi Zaputri *et al.*, 2023). Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan diatas, belum ada pengembangan penelitian ekstrak herba meniran sebagai antiinflamasi yang menggunakan metode stabilitas membran sel. Ekstrak herba meniran mengandung senyawa metabolit seperti flavonoid yang diduga dapat menghambat proses pembentukan inflamasi dengan metode stabilitas membran sel HRBC (*Human Red Blood Cells*).

2. METHODS

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah timbangan analitik (OHAUS PA224), sendok tanduk, alat gelas (Pyrex), corong pisah (IWAKI), cawan porselen, batang pengaduk (Pyrex), spatula, pisau, alat saring (sieve mesh), tabung reaksi (Pyrex), mortar dan stamper, *hot plate* (Thermo Scientific SPI31320-33Q), *magnetic stirrer* (DLAB MS-H280-PN), sentrifuge, tabung sentrifuge, tabung EDTA (Vaculab), oven (UN110), autoklaf, spektrofotometer UV-Vis (UV-1900i : SHIMADZU (Shimadzu Corporation)), kuvet, pipet tetes (Pyrex), pipet volume (Pyrex), inkubator (Mettler In55), botol gelap Pyrex, dan vortex (VM-300), *vacuum rotary evaporator*.

Bahan utama yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah simplisia herba Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) yang dari PT Materia Medica Batu, Malang. Bahan selanjutnya adalah sel darah merah yang diisolasi dari *whole blood* (darah lengkap) yang masih segar. Darah diperoleh dari relawan mahasiswi Universitas Darussalam Gontor Putri Kampus Mantingan. Adapun bahan pendukung pada penelitian ini adalah kertas perkamen, vortex mikrohematokrit, aluminium foil, etanol 96%, aquades, Plat KLT GF254, Kloroform (CHCl₃), aseton (CH₃COCH₃), asam format (CH₂O₂), dekstrosa (C₆H₁₂O₆), natrium sitrat (Na₃C₆H₅O₇), asam sitrat (C₆H₈O₇), dinatrium hydrogen fosfat (Na₂HPO₄), natrium dihydrogen fosfat (NaH₂PO₄), natrium klorida (NaCl), dan obat NSAID ibuprofen sebagai pembanding antiinflamasi.

Ekstraksi

Herba meniran sebanyak 700 g dikeringanginkan pada suhu ruang kemudian diekstraksi secara maserasi dengan etanol 70% selama 2x24 jam dilanjutkan 2x remaserasi. Maserat kemudian ditampung setelah disaring dengan corong Buchner dan dilanjutkan diaupkan pelarutnya menggunakan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak pekat. Ekstrak pekat Kembali diaupkan diatas waterbath pada suhu 60⁰ C hingga didapatkan ekstrak kental yang kemudian ditimbang dan dihitung persen rendemennya. Ekstrak etanol herba meniran dibuat dalam 5 seri konsentrasi, yaitu 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm, dan 800 ppm.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi adanya senyawa flavonoid menggunakan metode KLT. Fase diam yang digunakan adalah silica gel GF254 dengan fase gerak adalah perbandingan kloroform:aseton:asam format sebesar 7:3:0,4. Fase gerak dibuat sebanyak 5 mL kemudian dijenuhkan terlebih dahulu didalam chamber. Nilai Rf yang diperoleh pada sampel dibandingkan dengan senyawa flavonoid golongan kuersetin dengan nilai Rf yang mengacu pada farmakope herbal yakni 0,56.

Uji Aktivitas Antiinflamasi

Langkah pertama pada penelitian ini, adalah preparasi suspensi darah, larutan buffer, isosalin, dan hiposalin. Preparasi suspensi dibuat dari 10 ml darah yang disentrifugasi menggunakan larutan alsever steril, pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit dengan suhu 27°C. kemudian disterilkan dengan larutan hiposalin dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali sampai isosalin jernih. Volume darah dibuat pada konsentrasi 10% v/v. Pengujian aktivitas inflamasi dibuat larutan uji, larutan kontrol uji, larutan kontrol positif, dan larutan kontrol negative. kontrol positif terdiri dari larutan dapar fosfat 0,15M pH 7, larutan hiposalin, suspensi sel darah merah, dan larutan ibuprofen dengan konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm. Sedangkan kontrol negative terdiri dari larutan dapar fosfat 0,15M pH 7, larutan hiposalin, suspensi darah merah, dan etanol 96%. Pengujian aktivitas sampel, larutan

ibuprofen pada kontrol positif diganti dengan larutan ekstrak etanol herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.) dengan konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm dan 800 ppm. Sebagai larutan kontrol berupa larutan dapar fosfat 0,15M pH 7, larutan hiposalin, larutan isosalin, dan larutan kontrol positif atau ekstrak dengan masing-masing konsentrasi.

Analisis Data



Data yang didapat dari penelitian ini yaitu data hasil uji skrining fitokimia secara kualitatif yang ditunjukkan dengan ada atau tidaknya kandungan senyawa pada ekstrak etanol herba meniran. Hasil uji aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol herba meniran dengan metode stabilitas membran sel dilakukan secara kuantitatif. Kemudian dilakukan pengukuran dan perhitungan sampel dan kontrol positif. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri dengan panjang gelombang 500-700 nm. Data yang didapat berupa kadar persentase stabilitas membran, yang dimasukkan pada kurva persamaan garis regresi linear untuk memperoleh nilai IC_{50} .

3. RESULTS AND DISCUSSION

Skrining Fitokimia

Hasil identifikasi kandungan flavonoid dalam ekstrak etanol herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.) dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) didapatkan hasil seperti pada tabel 1 dibawah ini.

Tabel 1. Skrining Fitokimia dengan menggunakan metode KLT

Pengujian	Rf	Sinar UV	Gambar
Flavonoid	0,68	366	
Flavonoid	0,68	254	

Fase gerak yang digunakan adalah kloroform:aseton:asam format dengan perbandingan 7:3:0,4 (Farmakope Herbal Indonesia, 2017). Nilai Rf yang diperoleh pada penelitian ini adalah 0,68 sehingga menunjukkan terdapat kandungan senyawa flavonoid di dalam ekstrak herba meniran. Adanya tailing pada prose pemisahan senyawa flavonoid dengan metode KLT ini menunjukkan bahwasanya pemisahan kurang maksimal akibat kemampuan fase gerak dalam mengelusi senyawa tidak optimal, juga terdapat senyawa pengotor (metabolit sekunder golongan lain) dalam kandungan ekstrak herba meniran. Adanya partikel dalam larutan sampel dapat

mengganggu penetrasi analit dalam plat KLT ketika penotolan larutan sampel. Teknik pencucian plat KLT diperlukan untuk menghilangkan pengotor pada plat baik itu pengotor yang berasal dari bahan pengikat plat maupun dari atmosfer yang ke dalam plat. Adanya pengotor dalam lempeng ini bermasalah jika pengotor tersebut terdeteksi oleh lampu deteksi yang digunakan. Pada umumnya kotoran dalam plat bersifat hidrofil sehingga penggunaan fase gerak polar akan menyebabkan pengotor bermigrasi mengikuti fase gerak dan memiliki Rf tinggi. Analisis rutin pencucian plat dapat dilakukan untuk menghilangkan noda pengotor plat yang dapat mengganggu noda analit. Penelitian ini memerlukan penelitian tahapan untuk mendapatkan hasil isolasi yang murni. Pengambilan bahan aktif dari suatu tanaman herbal dapat dilakukan dengan isolasi senyawa. Tahapan isolasi terdiri dari ekstraksi, skrining fitokimia, fraksinasi, pemisahan dan pemurnian, dan identifikasi isolasi (Annisa et al., 2021). Hal ini dipengaruhi karena adanya perbedaan kondisi penelitian. yang dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain suhu ruang, kejenuhan, uap pereaksi, ketebalan fase diam, cara penotolan dan kualitas fase gerak (Nayak et al., 2010).

Uji Aktivitas Antiinflamasi

Stabilitas membrane eritrosit digunakan untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi secara *in vitro*. Hasil pengamatan yang telah dilakukan, diperoleh persentase stabilitas membrane eritrosit pada masing-masing larutan uji seperti terdapat pada table 2 dibawah ini.

Tabel 2. Data Nilai % Stabilitas Ibuprofen

Konsentrasi (ppm)	% Stabilitas
5	97,14
10	97,65
15	98,18
20	98,62
25	99,03

Tabel 3. Data Nilai % Stabilitas Meniran

Konsentrasi (ppm)	% Stabilitas
50	98,18
100	98,76
200	99,02
400	99,16
800	99,26

Stabilitas membrane lisosom berperan penting dalam membatasi respon inflamasi, dengan mencegah lepasnya enzim dari dalam lisosom yang dapat memperparah inflamasi. Pelepasan enzim lisosom dipicu oleh aktivasi neutrophil. Hasil dari aktivasi neutrophil adalah produk mediator inflamasi dari kerusakan jaringan. Keluarnya konstituen dalam lisosom seperti pelepasan enzim fosfolipase dan beberapa enzim hidrolitik lainnya menyebabkan hidrolisis fosfolipid. Hasilnya produk asam arakidonat yang akan diubah menjadi beberapa mediator inflamasi dengan bantuan enzim siklooksigenase dan lipooksigenase. Kestabilan membrane sel darah merah digunakan sebagai tolak ukur untuk mengetahui ukuran stabilitas membrane lisosom. Kestabilan sel darah merah yang diinduksi larutan hipotonik akan mengakibatkan lisis membrane, dan konsentrasi hemoglobin meningkat. Larutan hipotonik memiliki efek hemolitik. Hemolisis terjadi ketika penimbunan cairan yang berlebihan ke dalam sel sehingga menyebabkan sel darah merah mengalami perenggangan atau pengerutan. Akibatnya akan terjadi pecahnya membran sel darah merah. Proses ini menyebabkan kerusakan membrane sel darah merah. Kerusakan ini dimodelkan sebagai proses inflamasi, dan kadar lisis dari peningkatan konsentrasi hemoglobin digunakan untuk mengukur kestabilan membrane sel darah merah. Besar kecilnya hemolisis yang terjadi pada membrane sel darah merah yang diinduksi

larutan hipotonik dijadikan ukuran untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi dari ekstrak etanol herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.). Aktivitas antiinflamasi tidak hanya dilihat melalui nilai absorbansinya, melainkan dengan perhitungan penghambatan lisis menggunakan rumus persentase stabilitas.

Sel darah merah yang digunakan dalam penelitian ini adalah sel darah merah yang diisolasi dari darah sukarelawan sehat mahasiswi Universitas Darussalam yang sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi. Suspense darah yang dihasilkan dari penelitian ini dibuat dengan konsentrasi 10% v/v dengan mencampurkan 1 mL darah ditambah dengan larutan isosalin 9 mL. Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 500-700 nm. Hasil penentuan panjang gelombang maksimum pada penelitian ini diperoleh pada panjang gelombang 571 nm yang menghasilkan serapan maksimum dengan absorbansi paling tinggi. Kurva kalibrasi hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang kontrol positif. Ibuprofen digunakan sebagai kontrol positif karena merupakan obat antiinflamasi non steroid yang bekerja dengan menghambat pelepasan enzim lisosom atau dengan menstabilkan membran lisosom. Ibuprofen akan menstabilkan ion dengan menghambat terbukanya kanal ion pada membrane sel darah merah dan menghambat pelepasan prostaglandin.

Pada pengujian aktivitas antiinflamasi, kontrol positif terdiri dari larutan dapar fosfat 0,15 M pH 7, larutan hiposalin, suspense sel darah merah, dan larutan ibuprofen dengan konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm. Sedangkan kontrol negative terdiri dari larutan dapar fosfat 0,15 M pH 7, larutan hiposalin, suspense darah merah, dan etanol 96%. Pengujian aktivitas sampel, larutan ibuprofen pada kontrol positif diganti dengan larutan ekstrak etanol herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.) dengan konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm dan 800 ppm. Pengujian aktivitas antiinflamsi juga dilakukan pengukuran absorbansi kontrol larutan uji yang terdiri dari larutan dapar fosfat 0,15 M pH 7, larutan hiposalin, larutan isosalin, dan larutan kontrol positif atau ekstrak dengan masing-masing konsentrasi. Hal ini dilakukan bertujuan untuk menghilangkan pengaruh absorbansi yang dihasilkan oleh larutan kontrol positif maupun ekstrak. Pelakukan kontrol negative, kontrol positif, sampel ekstrak, serta larutan kontrol uji dilakukan inkubasi selama 30 menit pada suhu 30°C dan disentrifugasi selama 10 menit yang bertujuan untuk memisahkan sel darah merah yang tidak lisis.

Ibuprofen dan kandungan senyawa flavonoid pada ekstrak herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.), yang memiliki aktivitas antiinflamasi akan melindungi membrane sel darah merah terhadap masuknya larutan hipotonik sehingga menurunkan atau bahkan meniadakan terjadinya lisis pada membrane. Pada penelitian ini, dapat dilihat bahwa pada konsentrasi 50 ppm ekstrak etanol herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.) diperoleh persentase stabilitas membrane sel darah merah sebesar 98,18% sedangkan konsentrasi 800 ppm diperoleh presentase stabilitas membrane sel darah merah sebesar 99,26%. Peningkatan konsentrasi ekstrak etanol herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.) terjadi peningkatan persentase stabilitas, sehingga menunjukkan semakin besar aktivitas antiinflamasi. Aktivitas stabilisasi membran tersebut dipengaruhi oleh kandungan flavonoid yang berfungsi sebagai penghambat terbukanya kanal ion pada membrane dan menstabilkan membran eritrosit dari induksi larutan hipotonik. Senyawa flavonoid dapat menstabilkan membrane sel karena kemampuannya dalam menghambat terbentuk kanal ion, dengan menstabilkan ion yang masuk pada membrane sel.

Senyawa flavonoid dapat menstabilkan membrane sel karena kemampuannya dalam menghambat pembentukan kanal ion, dengan cara menstabilkan ion yang masuk pada membrane sel.²² Kanal ion pada membrane sel berupa terowongan sempit yang berisi air dan berperan membebaskan ion dengan ukuran atau muatan tertentu. Kanal ion bersifat permeabilitas selektif terhadap natrium atau kalium yang melintasi dinding membrane. Kanal ion yang mengalami aktivasi akan merespon perenggangan atau pengerutan membrane sel darah

merah. Proses stabilitas ion terjadi pada penghambatan transport kation yang melintasi membrane sel, sehingga menyebabkan pembengkakan sel. Sel darah merah yang diinduksi larutan hipotonik akan mengalami perubahan morfologi pada dalam sel darah merah. Kestabilan membrane dipengaruhi oleh kestabilan ion pada terbukanya kanal ion yang mendukung saluran K^+ yang sensitif terhadap volume. Masuknya ion K^+ ke dalam sel menyebabkan hemolisis pada sel darah merah. Pembengkakan yang disebabkan oleh larutan hipotonik akibat interaksi klorida dengan saluran kalium mengakibatkan ion K^+ (kation) masuk ke dalam sel. Masuknya ion K^+ menyeret molekul air ke dalam sel darah merah sehingga terjadi hemolisis.²³ Hemolisis terjadi akibat hilangnya atau bertambahnya osmotik intraseluler pada komponen elektrolit dan cairan yang menyebabkan perengangan atau pengerutan membrane sel darah merah.

Tabel 4. Data Nilai IC_{50}

	Ibuprofen	Meniran
IC_{50}	9,69	44,24

Penghambatan aktivitas antiinflamasi selanjutnya dilakukan dengan perhitungan nilai IC_{50} dengan memasukkan konsentrasi sebagai sumbu x dan % stabilitas sebagai sumbu y sehingga didapatkan persamaan regresi $y = a+bx$. Berdasarkan data yang diperoleh didapatkan persamaan regresi dari ibuprofen $y = 0,0949x + 96,704$ dengan koefisien korelasi $r = 0,997$ dengan nilai IC_{50} sebesar 9,69. Sedangkan pada ekstrak herba meniran didapatkan persamaan regresi linier $y = 0,0022x + 97,45$ dengan koefisien korelasi $r = 0,785$ dengan nilai IC_{50} sebesar 44,24. Menurut Sugiyono (2006), koefisien korelasi yang sangat kuat berada pada angka 0,80-1,00 karena nilai korelasi yang mendekati 1 memiliki hubungan variable semakin kuat dan garis memiliki kemiringan positif, semakin meningkatnya konsentrasi pada sumbu x, nilai % stabilitas pada sumbu y semakin meningkat.²⁴ Nilai koefisien korelasi ibuprofen dapat dinilai baik. Konstanta negatif umumnya terjadi jika ada rentang yang cukup jauh antara x (variabel independen) dan y (variabel respon), misal x memiliki rentang nilai 1-8, y memiliki rentang nilai 100 – 200.

Keterbatasan dari penelitian ini, adalah kurang adanya replikasi, optimasi pada sampel yang digunakan dan keterbatasan dalam pengambilan sampel darah yang tidak memungkinkan dilakukan oleh peneliti. Hal ini terjadi diakibatkan karena kurangnya fasilitas yang memadai, dan konsep pengambilan sampel darah yang memerlukan pemantauan lebih baik dari tenaga medis. Sehingga perlu adanya pengulangan perlakuan dalam pengambilan data, penetapan kadar pada sampel dan pengukuran yang tepat. Penelitian ini, cukup dikatakan sebagai eksperimen yang tepat, namun perlu adanya ketepatan dan pengulangan sehingga dapat dikatakan akurat dan dapat dilanjutkan dengan metode *in vivo*.

4. CONCLUSION

Hasil uji aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.) terhadap stabilitas membran sel menunjukkan bahwa pada konsentrasi 800 ppm mempunyai stabilitas antiinflamasi sebesar 99,26%. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka potensi dalam menstabilkan membran sel yang induksi larutan hipotonik akan semakin meningkat. Nilai IC_{50} yang diperoleh menunjukkan angka 44,236 ppm yang berarti bahwa memiliki aktivitas antiinflamasi dalam kategori sangat akif karena < 50 ppm.

5. ACKNOWLEDGMENT

Terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu hingga terselesaikannya penelitian dan publikasi artikel ilmiah ini. Kepada Universitas Darussalam Gontor dan Politeknik Harapan

Bersama yang telah memberikan dukungan material dan finansial kepada kami atas penelitian ini.

6. REFERENCES

- Katzung, B. G., 2004. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi XIII. Buku 3. Translation of Basic and Clinical Pharmacology Eight Edition Alih bahasa oleh Bagian Farmakologi Fakultas kedokteran Universitas Airlangga. Jakarta: Salemba Medika.
- Docker, M.F., Devlin, R.H., Richard, J., Khattra, J., & Kent, M.L. 1997. Sensitive and Specific Polymerase Chain Reaction Assay for Detection of *Loma Salsonae* (Microspora). *Dis Aquat Org*, 29: 41-48.
- Kurnia, D., Pridayanti, N., Marliani, L., Idar, & Nurochman, Z. 2019. Antiinflammatory Activity from Marine Microalgae *Chlorella Vulgaris* Extract Used Human Red Blood Cells Stability Method (HRBC). *Jurnal Kartika Kimia*, 2(2): 57-62.
- Porto, C.R.C. et al. 2013. Anti-inflammatory and Antinociceptive Activities of *Phyllanthus niruri* Spray-dried Standardized Extract. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 23(1): 138-144.
- Aldi, Y., Ogiana, N., & Handayani, D. 2014. Uji Imunomodulator Beberapa Subfraksi Ekstrak Etil Asetat Meniran (*Phyllanthus niruri* [L]) Pada Mencit Putih Jantan Dengan Metoda *Carbon Clearance*. *Jurnal B-Dent*, 1(1): 70-82.
- Aldi, Y., Mahyudin, & Handayani, D. 2013. Uji Aktivitas Beberapa Subfraksi Etil Asetat Dari Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.) Terhadap Reaksi Hipersensitivitas Kutan Aktif. *Jurnal Sains Teknologi Farmasi*, 18(1): 9-16.
- Arvind, K.T., Ram, K.V., Anil, K.G., Madan, M.G & Suman, P.S. 2006. Quantitative Determination of Phyllanthin and Hypophyllanthin in *Phyllanthus* Spesies by High-performance Thin Layer Chromatography. *Phytochem. Anal.* 17:394-397.
- Khan, S., Al-Qurainyl, 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*, 4(1): 41-48.
- Dewi, B.A., Setianto, R. & Rosita, F. 2020. Uji Aktivitas Tanaman Pangotan (*Microsorium beurgerianum* (Miq.) Ching) Sebagai Antiinflamasi Secara In-vitro dengan Metode HRBC (*Human Red Blood Cell*). *Jurnal Ilmiah Kesehatan*, 1(2): 15-20
- Arifah, R. N., Idiawati, N. and Wibowo, M. A. 2017. Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Kasar Buah Asam Paya (*Eleiodoxa conferta* (Griff.) Buret) Secara *In-vitro* dengan Metode Stabilisasi Membran HRBC (*Human Red Blood Cell*). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 6(1): 21-24.
- Zaputri, D.M., Wahdaniah, Triana, L. & Mujtahidah. 2023. Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Daun Bawang Dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.) Terhadap Stabilitas Membran Sel Darah Merah. Hal. 190-199.

- Anonim. 2017. *Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi II. Jakarta. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Badan POM. 2004. *Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia*. Vol. 1. Jakarta: Badan POM. Hal. 67-70.
- Badan POM. 2016. *Meniran (Phyllanthus niruri L.)*. Jakarta. Badan POM. Hal. 61.
- Anonim. 1977. *Materia Medika Indonesia*. Edisi III. Jakarta. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal. 523-528.
- Harborne, J.B. 1998. *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plants Analysis*. 3rd Ed. London: Chapman & Hall. Pg 302.
- Annisa, B.N., Tama, A.P., Sa'adah, C.N. & Sary, N.V 2021. Metode Isolasi Flavonoid Pada Tumbuhan Indonesia. *PharmaCine*, 2(1): 22-35.
- Nayak, P.S., Upadhyay, A., Dwivedi, S.K. & Rao, S. 2010. Quantitative Determination of Phyllanthin in *Phyllanthus amarus* by High Performance Thin Layer Chromatography. *Biacma*, 9(5): 353-358.
- Andriyono, R.I. 2019. *Kaempferia galanga* L. Sebagai Anti-Inflamasi Dan Analgetik. *Jurnal Kesehatan*, 10(3): 495.
- Anastasia setyopuspito pramitaningastuti. Ebta Narasukma Anggraeny, "Uji Efektivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Srikaya (*Annona muricata*) 13, no. 1 (2017): 8–13.
- Nisa Isnani Hanifa Hidayatul Ihsan, Iman Surya Pratama. 2021. Aktivitas Antiinflamasi Infusa Bunga Pukul Empat (*Mirabilis jalapa* L.) Secara *In Vitro*. 9(1): 21–30.
- Samina Yesmin et al. 2020. Membrane Stabilization as a Mechanism of the Anti-Inflammatory Activity of Ethanolic Root Extract of Choi (*Piper chaba*). *Clinical Phytoscience*, 6(1).
- Kumar, et al. 2012. Evaluation of Anti-Inflammatory Potential of Leaf Extracts of *Skimmia anquetilia*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(8): 627–630.
- Allan M. Lefer & Evan W. Polansky. 1979. Beneficial Effects of Ibuprofen in Acute Myocardial Ischemia. *Original Papers Cardiology*, 64: 265–279.
- Eberhard P. Scholz et al., "Cardiovascular Ion Channels as a Molecular Target of Flavonoids," *Cardiovascular Therapeutics* 28, no. 4 (2010): 46–52.