

Penetapan Kadar Alkaloid Ekstrak dari Etanolik Bunga Kembang Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.)

Mimiek Murrukmihadi, Subagus Wahyuono,
Marchaban, dan Sudibyo Martono

ABSTRACT: *Kembang sepatu flower (Hibiscus rosa-sinensis L.) was fractionally used as expectorant. Based on Bioassay Guided fractionation, an active fraction was separated, and the fraction was identified is Alkaloid was the major compound based on TLC analysis. Viscosity value measured by viscometer was used as a Bioassay model of expectorant activity in vitro and acetyl cysteine was used as positive control. Alkaloid content determination of the ethanolic extract was measured by TLC-Densitometric compared with standard curve of isolated alkaloid as the selected marker ($Y=12,1360X+2901,4474$). The alkaloid content in the ethanolic extract was determined as $2.35 \pm 0,67$ %.*

Keywords: *alkaloid, ethanolic extract, Hibiscus rosa-sinensis L.*

ABSTRAK: Bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) secara tradisional digunakan sebagai peluruh dahak. Berdasarkan atas *Bioassay Guided Fractionation*, fraksi aktif berhasil dipisahkan dan alkaloid merupakan kandungan utama fraksi. Oleh karena itu alkaloid digunakan sebagai senyawa penanda (*marker*) ekstrak etanol *Hibiscus rosa-sinensis* L. Nilai viskositas digunakan sebagai model untuk aktivitas peluruh dahak, dengan asetil sistein sebagai kontrol positif. Selanjutnya penetapan kadar alkaloid dalam ekstrak etanol dilakukan secara KLT-Densitometri ($n=5$), kadar alkaloid dibandingkan dengan kurva baku dari alkaloid (*marker*) hasil isolasi ($Y=12,1360X+2901,4474$). Kadar alkaloid dalam ekstrak etanol kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) sebagai $2,35 \pm 0,67$ %.

Kata kunci: alkaloid, ekstrak etanolik, kembang sepatu

Fakultas Farmasi Universitas Gadjah
Mada Yogyakarta

Korespondensi:

Mimiek Murrukmihadi
Email : mimiekmurrukmihadi@gmail.com

PENDAHULUAN

Herbal merupakan obat alternatif yang telah dimanfaatkan oleh nenek moyang. Salah satu yang digunakan adalah bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.), sebagai peluruh dahak (1). Untuk mendapatkan efek yang konsisten, ekstrak harus terstandar dan dapat menjadi referensi material bagi peningkatan produk herbal Indonesia (2).

Murrukmiyadi menyatakan bahwa didalam ekstrak bunga kembang sepatu terdapat alkaloid dapat digunakan sebagai *marker* untuk standar produk bunga kembang sepatu (3). Senyawa *marker* dapat sebagai senyawa aktif, penanda analitik maupun penanda negatif. Bunga kembang sepatu dilaporkan dapat digunakan sebagai obat batuk (4), sehingga alkaloid dalam kembang sepatu dapat digunakan sebagai *marker*/senyawa penanda.

Penetapan kadar suatu senyawa dapat dilakukan dengan mengukur kerapatan noda dari senyawa yang bersangkutan dan telah dipisahkan dengan cara kromatografi lapis tipis dengan menggunakan KLT-Densitometer. Penampakan noda menunjukkan hasil positif alkaloid dengan munculnya noda berwarna jingga-kekoklatan pada lempeng KLT ketika ditampakan dengan pereaksi Dragendorff. (5).

METODE PENELITIAN

Bahan

Bunga kembang sepatu dikoleksi dari Taman Graha Sabha Pramana, Universitas Gadjah Mada, Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta, dan diidentifikasi di Bagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada pada bulan September sampai dengan Oktober tahun 2008. Bunga kembang sepatu dicuci dan dikeringkan dengan oven yang temperaturnya diatur antara 40-50 °C. Bunga kering diserbuk dan disimpan di almari es (4°C) sampai saat untuk diekstraksi.

Metode

1. Ekstraksi untuk Penetapan Kadar Alkaloid
Ekstraksi isolat untuk penetapan kadar dilakukan berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan (6).
2. Penentuan kadar alkaloid
Penentuan kadar alkaloid dilakukan secara KLT-Densitometri yang meliputi 2 langkah sebagai berikut:
 - a. Pembuatan kurva baku alkaloid
Pembuatan kurva baku alkaloid dilakukan dengan cara 390 mg isolat kering dilarutkan dalam metanol 1 mL (larutan stok), kemudian dibuat seri konsentrasi 24, 49, 98, 130, dan 293 µg/µL, dengan volume penotolan 15 µL. Cara pembuatannya yaitu, dari larutan stok diambil 751 µL dilarutkan dalam metanol sampai 1 mL, sehingga didapat konsentrasi 293 µg/µL (dalam 15 µL berisi $293 \times 15 = 4395$ µg). Dari larutan ini diambil 500 µL dilarutkan dalam metanol sampai 1 mL, kemudian diambil 667 µg/µL dilarutkan dalam metanol sampai 1 mL, sehingga didapat konsentrasi 130 µg/µL (dalam 15 µL berisi $130 \times 15 = 1950$ µg). Kemudian diambil 500 µL dilarutkan dalam metanol sampai 1 mL, didapat konsentrasi 98 µg/µL (dalam 15 µL berisi $98 \times 15 = 1470$ µg). Dari larutan ini diambil 500 µL dilarutkan dalam metanol sampai 1 mL, didapat konsentrasi 49 µg/µL (dalam 15 µL berisi $49 \times 15 = 735$ µg). Terakhir diambil 500 µL dari larutan tersebut kemudian diencerkan dengan metanol sampai 1 mL, sehingga didapat konsentrasi 24 µg/µL (dalam 15 µL berisi $24 \times 15 = 360$ µg).
 - b. Penentuan alkaloid dalam ekstrak etanolik
Penentuan alkaloid dilakukan dengan cara menimbang ekstrak etanol 3 g dilarutkan dalam 1 mL metanol dan ditotolkan pada pelat KLT sebanyak 5 kali replikasi dengan volume masing-masing 10 µL. Setelah pengembangan pelat KLT, bercak yang diperoleh diukur dengan KLT-Densitometer untuk mendapatkan AUC.

Tabel 1. Nilai Kadar Isolat vs AUC hasil densitometri untuk kurva baku ekstrak

No	Kadar baku ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)	Kadar baku dalam 15 μL	AUC
1	24	360	9928,6
2	49	735	12034,4
3	98	1470	18605,2
4	130	1950	24416,7
5	293	4395	57654,4

Keterangan : Persamaan garis regresi kurva baku adalah $Y = 12,1360 X + 2901,4474$
 $r = 0,9939$, X = kadar alkaloid ($\mu\text{g}/15\mu\text{L}$), Y = AUC

Tabel 2. Nilai Kadar alkaloid dalam sampel ekstrak etanolik

No	Kadar ($\text{mg}/10\mu\text{L}$)	AUC	Kadar (%)
1	30	21725,7	3,45
2	30	16560,2	2,50
3	30	12729,6	1,80
4	30	15516,2	2,31
5	30	12156,1	1,70
X			2,35
SD			0,67

Analisis Hasil

Data luas area yang didapatkan dari isolat dibuat persamaan regresi linier sebagai persamaan kurva baku. Persamaan garis kurva baku : $Y = a+bx$, dengan $Y = \text{AUC}$, $X = \text{kadar isolat } (\mu\text{g}/15\mu\text{L})$. Harga AUC sampel kemudian dimasukkan ke dalam persamaan garis kurva baku, maka didapatkan kadar dari masing-masing sampel (persen kadar alkaloid dalam ekstrak).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan kurva baku

Penentuan panjang gelombang dilakukan pada *scanning* panjang gelombang 200-700 nm untuk senyawa alkaloid dan memberikan λ_{maks} pada 200 nm. Tabel 1 menunjukkan kadar isolat versus AUC hasil densitometri untuk kurva baku ekstrak.

Kenaikan konsentrasi atau kadar isolat tertentu sebanding dengan kenaikan nilai AUC pada densitometer. Hal ini sesuai dengan apa yang didapat, semakin tinggi kadar isolat, semakin besar AUC (Tabel 1). Setelah dilakukan perhitungan secara regresi linier, maka didapat persamaan garis regresi linier sebagai kurva baku alkaloid yaitu $Y = 12,1360 X + 2901,4474$ dengan $r = 0,9939$. Linieritas merupakan salah satu parameter untuk menilai kesahihan metode analisis dengan melihat nilai hubungan respon dari berbagai konsentrasi zat baku pada suatu kurva baku yang dilihat sebagai nilai koefisien korelasi (r).

Penetapan kadar alkaloid dalam ekstrak etanol

Sampel ekstrak sebesar 3 g dilarutkan dalam metanol sampai 1 mL, sehingga didapatkan konsentrasi 3 $\text{mg}/\mu\text{L}$. Sebanyak 10 μL ditotolkan ($n=5$) pada plat silika gel F_{254} (Merck®) tebal 0,25 mm sebanyak lima replikasi. Kemudian plat KLT

dikembangkan dengan fase gerak etil asetat:metanol (1:5 v/v).

Karena bercak yang diharapkan tidak terdeteksi dengan UV 254 maupun 366 nm, maka bercak ditandai pada tepi plat sesuai dengan KLT isolat yang telah dilakukan sebelumnya dan dideteksi dengan pereaksi semprot Dragendorff. Bercak yang telah ditandai atau sesuai Rf dengan Dragendorff ditentukan AUC (luas dibawah kurva) pada λ_{maks} 200 nm menggunakan KLT-Densitometer.

Nilai AUC sampel ekstrak etanolik bunga kembang sepatu dengan kadar 30 mg/ 10 μ L. Nilai AUC replikasi sampel memenuhi rentang nilai AUC pada

isolat yaitu pada 9928,6 hingga 57654,4 (Tabel 2).

Tabel 2 menunjukkan bahwa dalam ekstrak etanolik bunga kembang sepatu terdapat alkaloid yang dapat diisolasi dan sebagai senyawa penanda dengan kadar sebesar $2,35 \pm 0,67$ %.

KESIMPULAN

Bunga kembang sepatu memiliki kandungan alkaloid yang dapat diisolasi dan dapat dijadikan sebagai senyawa penanda. Kadar alkaloid dari ekstrak etanolik bunga kembang sepatu adalah $2,35 \pm 0,67$ %.

DAFTAR PUSTAKA

1. Anonim. *Tanaman Obat Indonesia*. Jilid I. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. 1985.
2. Eye. Memodernkan Obat Tradisional dari Tanaman. *Republika*. 23 November 2007 cit. 2007.
3. Murruckmihadi, M. Aktivitas Mukolitik Ekstrak etanolik dan Fraksi Aktif Bunga Kembang Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) pada Mukus Usus Sapi secara *In Vitro*. Laporan Penelitian Program Hibah Penelitian Berkualitas Prima Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. 2009
4. Dalimartha, S. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Ungaran : Trubus Agriwidya. 1999.
5. Anonim. Memodernkan Obat Tradisional dari Tanaman. <http://www.kimia.lipi.net/index.php?pilihan=berita&id=58>. 1 Juli 2009.
6. Murruckmihadi, M. Isolasi dan Penetapan Kadar Alkaloid Dalam Ekstrak Etanolik, Fraksi Tidak larut Etil Asetat dan Fraksi Hasil VLC Dalam Bunga Kembang Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.). Disampaikan pada Kongres Ikatan Apoteker Indonesia di Manado. 2011.
7. Anonim. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Cetakan Pertama. Departemen Kesehatan Republik Indonesia Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan Direktorat Pengawasan Obat Tradisional. Jakarta. 2000: 3, 9-11.