

DETERMINATION OF ALKALOID CONTENT OF ETHANOLIC EXTRACT OF *Hibiscus rosa-sinensis* L. FLOWER

PENETAPAN KADAR ALKALOID DARI EKSTRAK ETANOLIK BUNGA KEMBANG SEPATU (*Hibiscus rosa-sinensis* L.)

Mimiek Murrulkmiyadi, Subagus Wahyuono, Marchaban, Sudibyo Martono
Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

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 asetyl 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 ± 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

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 (Anonim, 1985). Untuk mendapatkan efek yang konsisten, ekstrak harus terstandar dan dapat menjadi referensi material bagi peningkatan produk herbal Indonesia (Eye, 2007).

Murrulkmiyadi (2009) menyatakan bahwa didalam ekstrak bunga kembang sepatu terdapat alkaloid dapat digunakan sebagai marker untuk standar produk bunga kembang sepatu. Senyawa marker dapat sebagai senyawa aktif, penanda analitik maupun penanda negatif. Bunga kembang

sepatu dilaporkan dapat digunakan sebagai obat batuk (Dalimartha, 1999), 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-kecoklatan lempeng KLT ketika ditampakan dengan pereaksi Dragendorff. (Anonim, 2000).

METODOLOGI

Bahan

Bunga kembang sepatu dipetik 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 alamari es (4°C) sampai saat untuk diekstraksi.

Ekstraksi untuk Penetapan Kadar Alkaloid

Ekstraksi isolat untuk penetapan kadar dilakukan berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan (Murrukmihadi, 2011).

Penentuan kadar alkaloid 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 293x15=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 130x15=1950 µg). Kemudian diambil 500 µL dilarutkan dalam metanol sampai 1 mL, didapat konsentrasi 98 µg/µL (dalam 15 µL berisi 98x15=1470µg). Dari larutan ini diambil 500 µL dilarutkan dalam metanol sampai 1 mL, didapat konsentrasi 49 µg/µL (dalam 15 µL berisi 49x15=735µg). Terakhir diambil 500 µL dari larutan tersebut kemudian diencerkan dengan metanol sampai 1 mL, sehingga didapat konsentrasi 24 µg/µL (dalam 15 µL berisi 24x15=360 µg).

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.

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 $Y = AUC$, $X = \text{kadar isolat } (\mu\text{g}/15\mu\text{L})$. 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.

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

No	Kadar baku (µg/µL)	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 $Y = 12,1360 X + 2901,4474$

$r = 0,9939$, $X = \text{kadar alkaloid } (\mu\text{g}/15\mu\text{L})$, $Y = AUC$

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 I). 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 mg/µL. Sebanyak 10 µL ditotolkan (n=5) pada plat silika gel F₂₅₄ (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 R_f 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 II).

Tabel II. Nilai Kadar alkaloid dalam sampel ekstrak etanolik

No	Kadar (mg/10 μ 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

Tabel II 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

- Anonim, 1985, *Tanaman Obat Indonesia*, Jilid I, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Eye, 2007, Memodernkan Obat Tradisional dari Tanaman, *Republika*, 23 November 2007 cit
- Anonim, 2007, Memodernkan Obat Tradisional dari Tanaman, <http://www.kimia-lipi.net/index.php?pilihan=berita&id=58>, 1 Juli 2009.
- Murrukmiyadi, M., 2009, 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
- Dalimartha, S., 1999, *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Ungaran : Trubus Agriwidya.
- Anonim, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Cetakan Pertama, 3, 9-11, Departemen Kesehatan Republik Indonesia Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, Jakarta.
- Murrukmiyadi, M., 2011, 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.), 2011, Disampaikan pada Kongres Ikatan Apoteker Indonesia di Manado.