

## Penetapan Kadar Berberin dari Ekstrak Etanol Akar dan Batang Sekunyit (*Fibraurea tinctoria* Lour) dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

{Determination of berberine content of ethanol extract of root and stem of "sekunyit" (*Fibraurea tinctoria* Lour) using high performance liquid chromatography (HPLC) method}

Rahayu Utami\*, Armon Fernando, Indah Puspita Sari, & Mustika Furi

\*Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau

**Keywords:**  
berberine; *Fibraurea tinctoria*; HPLC.

**Kata kunci:**  
berberin; *Fibraurea tinctoria*; KCKT.

**ABSTRACT:** Determination of berberine content of ethanol extract of root and stem of "sekunyit" (*Fibraurea tinctoria* Lour) has been conducted. "Sekunyit" is one of medicinal plant that has been used to treat several diseases traditionally. Its root and stem could relieve jaundice, diarrhea, conjunctivitis as well as antidiabetic agent. Based on previous study, it is known that *Fibraurea tinctoria* contains isoquinoline alkaloid, berberine. This present study aims to determine berberine content which was done by HPLC (High Performance Liquid Chromatography) method using C-18 reverse phase column, methanol : phosphate buffer (pH 6,8) as its mobile phase with flow rate of 1 ml/min and UV detector. The analysis was performed at wavelength 346 nm. The result showed that the ethanol extract contains 25.8% of berberine..

**ABSTRAK:** Telah dilakukan penetapan kadar senyawa berberin dari ekstrak etanol akar dan batang sekunyit (*Fibraurea tinctoria* Lour). Sekunyit merupakan tumbuhan yang telah digunakan oleh masyarakat dalam menyembuhkan berbagai macam penyakit. Akar dan batang tumbuhan ini berkhasiat mengobati demam kuning, diare, sakit mata dan diabetes. *Fibraurea tinctoria* diketahui sebagai spesies tumbuhan yang mengandung senyawa alkaloid isokuinolin berberin. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kadar senyawa berberin dari ekstrak etanol akar dan batang tumbuhan sekunyit. Penelitian dilakukan menggunakan kolom C-18 (ODS) dengan metode KCKT (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi), fase gerak berupa campuran eluen metanol:buffer fosfat pH 6,8 (gradien elusi), laju alirnya 1 ml/menit dideteksi dengan detektor UV. Analisa dilakukan pada panjang gelombang 346 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol sekunyit mengandung senyawa berberin sebesar 25,8%.

### PENDAHULUAN

Sekunyit (*Fibraurea tinctoria* Lour) merupakan salah satu tumbuhan obat yang sudah digunakan oleh masyarakat. Akar dan batang tumbuhan ini dilaporkan berkhasiat dapat menyembuhkan beberapa penyakit seperti konjungtivitis, disentri, diabetes dan kanker [1]. Keberadaan spesies ini

masih banyak ditemukan di daerah provinsi Riau. Berdasarkan eksplorasi yang dilakukan oleh Badan Litbangkes Kemenkes RI bekerja sama dengan Universitas Riau, spesies ini ditemukan di beberapa kabupaten berbeda yaitu Kabupaten Bengkalis, Rokan Hulu, Inderagiri Hulu dan Pelalawan [2].

Beberapa penelitian melaporkan bahwa senyawa terpenoid dan alkaloid telah diisolasi

\*Corresponding Author: Rahayu Utami (Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau, Jl. Kamboja, Simpang Baru, Tampan, Pekanbaru 28289).  
email: rahayuutami@stifar-riau.ac.id

Article History:

Received: 28 Oct 2016

Published: 16 May 2017

Accepted: 13 Feb 2017

Available online: 30 May 2017

dari *Fibraurea tinctoria* Lour [3,4,5]. Senyawa furanoditerpenoid, fibraurin, fibleusin, epi-8-hydroxycolumbin, fibrauretin A, B, C, E and F bersama glikosidanya, fibraurinosida, fibleusinosida dan tinofilosida, fibrauretinosa A, epi-fibrauretinosa A, epi-12-palmatosida G telah diisolasi dari spesies ini. Alkaloid protoberberin, terdiri dari berberin, palmatin, jatrorrizin, columbamin dan stefaranin juga telah berhasil diisolasi dari *Fibraurea tinctoria* Lour. Berberin telah terbukti dapat menurunkan kadar glukosa darah [6].

Penelitian kami sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol akar dan batang sekunyit (*Fibraurea tinctoria* Lour) mempunyai aktivitas antidiabetes dengan dosis 100, 200, dan 300 mg/kgBB. Pada dosis tersebut ternyata ekstrak etanol akar dan batang sekunyit mampu menurunkan kadar glukosa darah, volume urin dan volume air minum secara signifikan ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan kelompok hewan coba kontrol [7].

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar senyawa berberin yang terkandung dalam ekstrak etanol akar dan batang *Fibraurea tinctoria* Lour. Penelitian dilakukan menggunakan metoda Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dengan fase diam kolom C-18 (ODS) dan eluen berupa campuran metanol:dapar fosfat (gradien elusi). Laju alir ditentukan pada 1 ml/menit dan pengukuran dilakukan pada panjang gelombang 346 nm.

## METODE PENELITIAN

### Penyiapan Ekstrak

Akar dan batang dari tumbuhan *Fibraurea tinctoria* Lour diambil di Desa Pranap, Kabupaten Inderagiri Hulu, Propinsi Riau. Sampel tumbuhan diidentifikasi di Laboratorium Botani Jurusan Biologi Universitas Riau. Akar dan batang sekunyit dibersihkan dari pengotor kemudian

dikeringkan menggunakan oven dengan temperatur 40°C. Sampel yang telah kering dihaluskan menggunakan *grinder*, lalu dimaserasikan dengan pelarut etanol. Proses maserasi dilakukan selama tiga hari sebanyak tiga kali pengulangan sehingga didapatkan maserat etanolnya. Maserat tersebut kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental etanol.

### Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Sebanyak 2 mg sampel berberin standar dilarutkan dalam 5 ml akuades hingga diperoleh larutan berberin 100 ppm. Selanjutnya dibuat untuk konsentrasi 10 dan 1 ppm. Serapan diukur pada panjang gelombang 200–800 nm dan ditentukan panjang gelombang maksimum berberin.

### Uji Kesesuaian Sistem Fase Gerak

Metoda penentuan fase gerak dilakukan berdasarkan modifikasi dari penelitian sebelumnya [8,9]. Fase gerak yang digunakan adalah campuran fase gerak phosphate *buffer* pH 6,8 dengan metanol (gradien elusi) dengan laju aliran 1 ml/menit dengan volume penyuntikan masing-masing sampel 20 µl dan menggunakan kolom RP C18, pada panjang gelombang 346 dan 266 nm.

### Pembuatan Kurva Kalibrasi Standar Berberin

Sebanyak 25 mg senyawa berberin standar dilarutkan dalam 25 ml metanol hingga diperoleh larutan berberin 1000 ppm. Selanjutnya 0,62 ml larutan berberin 250 ppm dipipet ditambahkan dengan metanol dalam labu ukur sampai 25 ml. Kemudian dilanjutkan variasi konsentrasi untuk 1; 10; 50; 75 dan 200 µg/ml, diultrasonikasi dan disaring dengan filter milipore 0,2 µm. Filtratnya masing-masing diinjeksikan ke sistem KCKT dengan volume penyuntikan 20 µl menggunakan fase gerak *buffer* posfat pH 6,8 dengan metanol (gradien elusi) dengan laju aliran (*flow rate*) 1 ml/

menit, deteksi dilakukan pada panjang gelombang 346 dan 266 nm. Pengulangan dilakukan sebanyak lima kali. Dari data pengukuran dibuat kurva kalibrasi dengan menggunakan persamaan garis regresi linier ( $y = 174947,6292 + 308884,6864$ ) untuk berberin, dimana  $x$  adalah konsentrasi berberin dan  $y$  adalah luas puncak perbandingan.

### Penetapan Kadar Berberin Ekstrak

Ekstrak etanol ditimbang sebanyak 2 mg dilarutkan dalam 5 ml metanol HPLC *grade*, kemudian diultrasonikasi dan disaring dengan filter milipore 0,2  $\mu$ m. Pengukuran pada sistem KCKT (Shimadzu 20 AD) dilakukan dengan prosedur yang sama dengan pengukuran berberin standar.

### Analisis data

#### Analisa kualitatif

Data kualitatif ditentukan dengan melihat perbandingan kromatogram senyawa berberin standar dengan ekstrak etanol dan dilihat pada waktu retensi yang sama.

#### Analisa kuantitatif

Analisa kuantitatif dengan menghitung kadar dari persamaan regresi :

$$Y = a+bx$$

Kemudian, perbandingan luas area konsentrasi dan kadar total senyawa berberin dihitung dalam jumlah gram ekstrak :

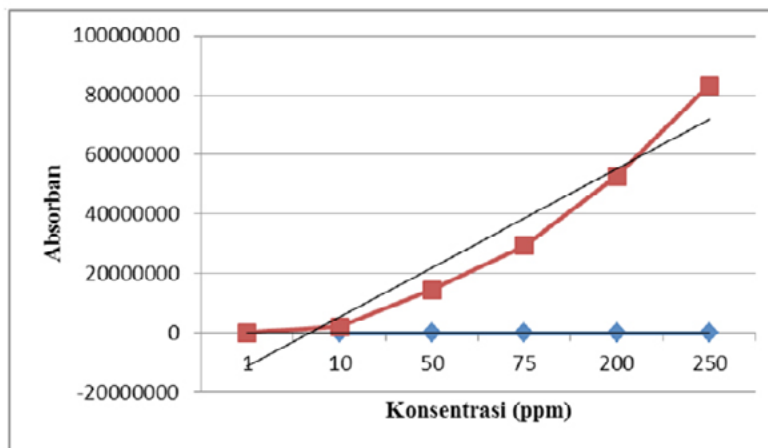
$$\% \text{ Berberin} = \frac{\text{berat berberin}}{\text{berat ekstrak}} \times 100\%$$

## HASIL DAN DISKUSI

Pada penelitian ini, analisa senyawa berberin dilakukan menggunakan KCKT fase terbalik. Untuk dapat memberikan hasil analisis yang baik, pengujian menggunakan KCKT memerlukan

optimasi terlebih dahulu yang meliputi panjang gelombang analisa, komposisi fase gerak dan laju alir. Penentuan panjang gelombang maksimum analisa senyawa berberin dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Sebanyak 2 mg senyawa berberin standar dilarutkan dalam 5 ml metanol diukur pada panjang gelombang 200 sampai 800 nm. Diperoleh serapan tertinggi senyawa berberin pada panjang gelombang 346 dan 266 nm. Panjang gelombang ini kemudian digunakan pada instrument KCKT untuk mendeteksi sampel yang akan dianalisa. Pada penelitian sebelumnya panjang gelombang 266 nm telah digunakan untuk mendeteksi senyawa berberin sesuai dengan literatur [8]. Analisa senyawa berberin juga telah dilakukan pada panjang gelombang 346 nm [9]. Untuk itu panjang gelombang 266 nm tetap dilakukan dan pengukuran dilanjutkan pada panjang gelombang 346 nm.

Penentuan komposisi fase gerak dan laju alir dilakukan juga berdasarkan modifikasi dari penelitian yang telah dilaporkan [8,9]. Campuran metanol dan phosphate *buffer* (pH 6,8) memberikan kromatogram terbaik. Dengan sistem fase gerak ini menghasilkan puncak yang lebih sedikit pada garis alas dan cepat mencapai kondisi kromatografi yang stabil. Penggunaan *buffer* posfat dengan pH 6,8 sebagai campuran dalam fase gerak adalah untuk mempertahankan atau mendapatkan pH yang stabil untuk berberin. Penambahan *buffer* posfat yang sesuai dengan pH stabilitas analit bertujuan untuk mencegah terurainya atau terionnya analit yang akan menyulitkan proses pemisahan analit oleh fase gerak. Konsentrasi metanol dalam fase gerak berpengaruh terhadap waktu retensi senyawa berberin standar. Hal ini disebabkan kekuatan pelarut, dimana pada kromatografi fase terbalik, konsentrasi metanol yang lebih besar dapat mengakibatkan fase gerak semakin kuat dan elusi menjadi semakin cepat, makanya waktu retensi menjadi lebih singkat.

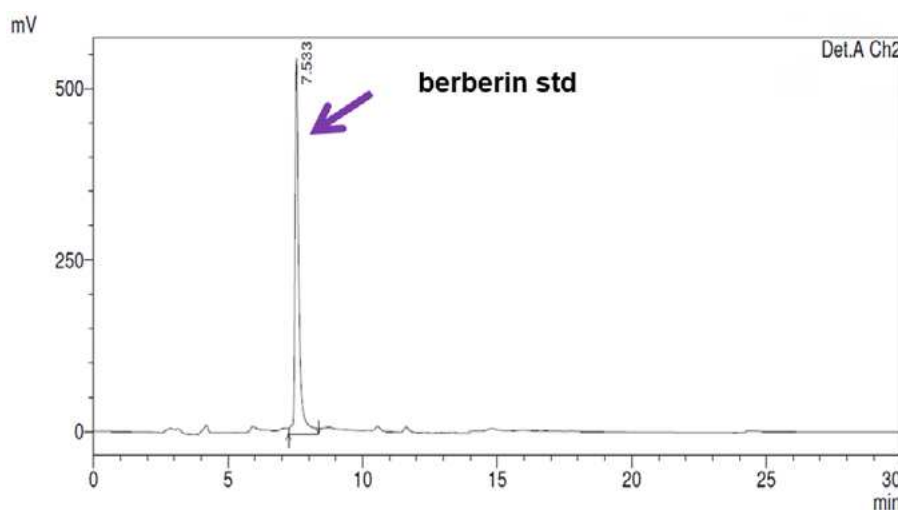


Gambar 1. Kurva kalibrasi berberin standar

Dari hasil penyuntikan senyawa berberin standar diperoleh waktu retensi dengan 1 puncak yaitu 7,533 menit. Sedangkan waktu retensi yang diperlihatkan oleh puncak berberin dalam ekstrak adalah 7,691 menit.

Pada sampel ekstrak etanol Untuk penetapan kadar senyawa terlebih dahulu dilakukan pembuatan kurva kalibrasi. Hasil kurva kalibrasi diperoleh hubungan yang linear antara konsentrasi dan serapan dengan persamaan regresi  $y = 308884,6864x + 174947,6292$  dan nilai koefisien korelasi (r) adalah 0,984. Linieritas dari kurva kalibrasi juga dilihat dengan menghitung koefisien variasi dari fungsi regresi (Vxo). Linearitas

antara konsentrasi dan serapan menunjukkan hubungan yang cukup baik yang juga dapat dilihat dari nilai koefisien variasi dari fungsi (Vxo) 0,20% dimana syarat dari nilai Vxo untuk senyawa murni < 2% [10]. Parameter selanjutnya yang menggunakan data kurva kalibrasi yaitu parameter batas deteksi dan batas kuantitasi. Batas deteksi (LOD) adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan. Hasil batas deteksi adalah 61,331 ppm, Sedangkan batas kuantitas (LOQ) merupakan parameter pada analisa sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama.



Gambar 2. Kromatogram berberin standar menggunakan fase gerak metanol:buffer posfat pH 6,8 pada panjang gelombang 346 nm

Hasil batas kuantitas adalah 204,438 ppm. Dari hasil tersebut masih bisa memberikan kecermatan yang baik. Hasil nilai batas deteksi dan batas kuantitas ini dapat dipengaruhi oleh pelarut yang digunakan, kelarutan dari senyawa dalam pelarut yang digunakan, dalam proses pengerjaan seperti pengadukan yang tidak stabil, tidak konstan dan suhu yang sangat mempengaruhi besar kecilnya nilai batas deteksi. Hasil pengujian KCKT ekstrak etanol menghasilkan kadar berberin sebesar 25,8 %.

## KESIMPULAN

Berdasarkan analisa ekstrak etanol akar dan batang sekunyit (*Fibraurea tinctoria* Lour) menggunakan metode KCKT dengan fase gerak berupa campuran eluen metanol : *buffer* fosfat pH 6,8 (gradien elusi), laju alirnya 1 ml/menit dideteksi dengan detektor UV pada panjang gelombang 346 nm yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak mengandung senyawa berberin dengan kadar 25,8%.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi, atas bantuan dana penelitian melalui Program Penelitian Hibah Bersaing Tahun 2016. Terima kasih kepada Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau atas fasilitas yang disediakan. Kepada Dr. Fitmawati, M.Si dari Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Riau untuk identifikasi sampel tumbuhan.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Priyadi, H., Takao, G., Rahmawati, I., Supriyanto, B., Nursal, W I., and Rahman, I. (2010). Five Hundred Plant Species in Gunung Halimun Salak National Park, West Java: A Checklist including Sundanese Names, Distribution and Use. Bogor, Indonesia: Cifor. Page 91-92.
2. Anonim. (2012). Riset Khusus Eksplorasi Pengetahuan Lokal Etnomedisin dan Tumbuhan Obatdi Indonesia Berbasis Komunitas, Laporan Provinsi Riau dan Kepulauan Riau. Pekanbaru: Lembaga Penelitian Universitas Riau.
3. Su, C. R., Chen, Y. F., Liou, M. J., Tsai, H. Y., Chang, W. S., & Wu, T. S. (2008). Anti-inflammatory activities of furanoditerpenoids and other constituents from *Fibraurea tinctoria*. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 16(21), 9603-9609.
4. Su, C. R., Ueng, Y. F., Dung, N. X., Vijaya Bhaskar Reddy, M., & Wu, T. S. (2007). Cytochrome P3A4 inhibitors and other constituents of *Fibraurea tinctoria*. *Journal of natural products*, 70(12), 1930-1933.
5. Keawpradub, N., Dej-adisai, S., & Yuenyongsawad, S. (2005). Antioxidant and cytotoxic activities of Thai medicinal plants named *Khaminkhruea*: *Arcangelisia flava*, *Coscinium blumeianum* and *Fibraurea tinctoria*. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 27(Suppl 2), 455-467.
6. Sharma, A. And Batra, A. (2013). Berberine a novel anti-diabetic drug. *International Journal of Research and Review in Pharmacy and Applied Sciences*, 3(2), 216-230.
7. Utami, R., Sandi, N.H., Hasti, S. And Delvia, S. (2015). Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol dari Akar dan Batang Tumbuhan sekunyit (*Fibraurea Tinctoria* Lour). *Jurnal Farmasi Indonesia*, 7(4), 216-222.
8. Srinivasan, G. V., Unnikrishnan, K. P., Rema Shree, A. B., and Balachandran, I. (2008). HPLC Estimation of Berberine in *Tinospora cordifolia* and *Tinospora sinensis*. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 70(1), 96-99.
9. Tsai, P. L., and Tsai, T. H. (2002). HPLC Determination Of Berberine In Medicinal Herbs And A Related Traditional Chinese Medicine. *University of Malaya: Analytical Letter*.
10. Rohman, A. (2007). *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Penerbit UGM.