

Penetapan Kadar Andrografolid dalam Ekstrak Terpurifikasi Herba Sambiloto dengan KLT-Spektrodensitometri

(Warditiani, N. K.¹, Larasanty, L. P. F.¹, Siahaan, T. F.¹)

Penetapan Kadar Andrografolid dalam Ekstrak Terpurifikasi Herba Sambiloto dengan KLT-Spektrofotodensitometri

Warditiani, N. K.¹, Larasanty, L. P. F.¹, Siahaan, T. F.¹

¹Jurusan Farmasi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana

Korespondensi: Tio Fridanna Siahaan

Jurusan Farmasi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana

Jalan Kampus Unud-Jimbaran, Jimbaran-Bali, Indonesia 80364 Telp/Fax: 0361-703837

Email : tio_siahaan@ymail.com

ABSTRAK

Herba sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm. f.) Ness) memiliki kandungan utama yaitu andrografolid yang mempunyai banyak aktivitas farmakologi seperti dapat menurunkan kadar gula darah, trigliserida dan LDL, sebagai antiinflamasi, antioksidan, antidiabetes, dan antiaterosklerosis. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui kadar andrografolid yang terdapat dalam ekstrak terpurifikasi herba sambiloto. Ekstrak terpurifikasi dibuat dengan mengekstraksi serbuk herba sambiloto dengan metode maserasi dan dilakukan purifikasi bertahap menggunakan pelarut *n*-hexan, etil asetat dan air.

Pada proses penetapan kadar, standar andrografolid dan sampel ekstrak terpurifikasi herba sambiloto ditotolkan pada plat KLT Silika Gel GF₂₅₄ kemudian diekspansikan dengan menggunakan fase gerak berupa campuran kloroform : metanol (9:1). Pengukuran kadar dilakukan dengan densitometer. Hasil menunjukkan bahwa panjang gelombang serapan maksimum larutan baku standar andrografolid dan ekstrak terpurifikasi sambiloto adalah sama yaitu 230 nm. Kadar andrografolid dalam ekstrak terpurifikasi herba sambiloto mengandung 29,81% b/b andrografolid dengan SD 0,021.

Kata kunci : Ekstrak terpurifikasi, *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Ness, KLT-Spektrodensitometri

1. PENDAHULUAN

Herba sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees) mengandung diterpen lakton dan flavonoid. Komponen bioaktif utama dari sambiloto adalah andrografolid. Komponen ini dapat ditemukan di semua bagian tanaman, terutama pada bagian daun. Kadar senyawa andrografolid yang terdapat dalam daun sebesar 2,5% - 4,8% dari berat keringnya. Rumus molekul andrografolid yaitu C₂₀H₃₀O₅ dan memiliki berat molekul yaitu 350.4 (Prapanza dan Marianto, 2003; Chao and Lin, 2010).

Andrografolid mudah larut dalam metanol, etanol, piridin, asam asetat, dan aseton, tetapi sedikit larut dalam eter dan air. Titik leleh dari andrografolid adalah 228⁰C – 230⁰C dan memiliki spektrum ultraviolet dalam methanol, λ_{maks} adalah 230 nm (Wongkittipong *et al.*, 2000; DepKes RI, 2008).

Andrografolid memiliki banyak khasiat dalam dunia kesehatan karena memiliki berbagai aktivitas farmakologi seperti penurun menurunkan kadar gula darah, trigliserida dan LDL, antiinflamasi vaskuler untuk mencegah aterosklerosis, antioksidan dan analgesik (Lin *et al.*, 2009; Nugroho *et al.*, 2012; Azlan *et al.*, 2013).

KLT-Spektrodensitometri merupakan salah satu metode penetapan kadar yang sering digunakan karena metode ini mudah dilakukan, lebih sensitif dan sederhana serta memiliki tingkat ketelitian yang baik (Srivasta *et al.*, 2004).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar andrografolid dalam ekstrak terpurifikasi herba sambiloto. Perlu dilakukan purifikasi ekstrak untuk menghilangkan komponen pengganggu seperti lemak, klorofil,

Penetapan Kadar Andrografolid dalam Ekstrak Terpurifikasi Herba Sambiloto dengan KLT-Spektrodensitometri

(Warditiani, N. K.¹, Larasanty, L. P. F.¹, Siahaan, T. F.¹)

zat warna, lilin, dan resin yang dapat mempengaruhi ketidakstabilan sifat fisika ekstrak ketika akan diformulasikan (Srijanto, 2012).

2. BAHAN DAN METODE

2.1. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel ekstrak terpurifikasi sambiloto, kloroform pro analisis, metanol pro analisis dan Plat KLT Silika Gel GF254 merk *Merck*.

2.2. Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas, gelas pengembang KLT merk *Camag* dan spektrodensitometer merk *Camag*.

2.3. Prosedur Penelitian

2.3.1. Pengukuran kadar andrografolid dalam ekstrak terpurifikasi herba sambiloto

Pengukuran dilakukan dengan membuat seri standar baku andrografolid dari larutan standar konsentrasi 200 µg/mL, dimana kemurnian standar andrografolid tersebut adalah 98%, sehingga konsentrasi andrografolid dalam larutan standar adalah 196 µg/mL. Larutan standar ditotolkan sebanyak 2 µL, 4 µL, 6 µL, 8 µL, dan 10 µL. Sampel ekstrak terpurifikasi ditotolkan sebanyak 2 µL di 3 titik penotolan. Plat dielusi dengan fase gerak kloroform : metanol (9:1) dengan jarak pengembangan 8 cm. Plat dibiarkan hingga kering dan dilakukan pengukuran nilai *AUC* andrografolid dengan Spektrofotodensitometer pada panjang gelombang maksimumnya. Kadar andrografolid dalam ekstrak terpurifikasi herba sambiloto dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier dari seri larutan standar andrografolid.

3. HASIL

Tabel 3.1. Hasil pengamatan KLT-densitometri seri standar andrografolid pada 230 nm

A	B
0,4	-
0,8	2732,6
1,2	3843,8
1,6	4557,8
2	4658,4

Ket :

A : Massa standar andrografolid dalam totolan (µg)

B : nilai *AUC* standar andrografolid

Berdasarkan tabel diatas, diperoleh persamaan regresi linier $y=1622,8x + 1676,16$ dengan nilai $r=0,944$.

Tabel 3.2. Hasil Pengamatan Sampel Ekstrak Terpurifikasi Herba Sambiloto

A	B	C
1	2	4056,8
2	2	3945,9
3	2	4554,6

Ket :

A : Replikasi sampel ekstrak terpurifikasi sambiloto

B : Volume penotolan (µL)

C : Nilai UAC

Kadar andrografolid dihitung menggunakan persamaan regresi dengan memasukkan nilai *AUC* dari sampel ekstrak terpurifikasi herba sambiloto sebagai y pada persamaan regresi sehingga diperoleh nilai x sebagai massa andrografolid pada sampel ekstrak terpurifikasi herba sambiloto. Berdasarkan perhitungan diperoleh kadar andrografolid seperti pada tabel 3.3.

Penetapan Kadar Andrografolid dalam Ekstrak Terpurifikasi Herba Sambiloto dengan KLT-Spektrodensitometri

(Warditiani, N. K.¹, Larasanty, L. P. F.¹, Siahaan, T. F.¹)

Tabel 3.3. Hasil Penetapan kadar andrografolid dalam ekstrak terpurifikasi herba sambiloto

Parameter Pengukuran	Hasil
Massa rata-rata andrografolid dalam sampel	1,61 µg
Kadar andrografolid dalam ekstrak terpurifikasi herba sambiloto (%)	29,81 %
SD	0,021

4. PEMBAHASAN

Pengukuran kadar andrografolid dalam ekstrak terpurifikasi dilakukan menggunakan metode KLT-Spektrofotodensitometri. Analisis kuantitatif dengan KLT-Spektrofotodensitometri dilakukan berdasarkan hubungan antara luas area puncak (*Area Under Curve AUC*) kromatogram senyawa tersebut dengan konsentrasinya. Semakin tinggi kadar senyawa maka luas area puncak kromatogram suatu senyawa akan semakin besar (Sherma and Fried, 1996).

Sebelum plat KLT digunakan, terlebih dahulu dielusi dengan metanol untuk menghilangkan pengotor-pengotor yang menempel pada plat. Setelah plat dielusi dengan metanol, plat diaktivasi pada suhu 110°C selama 30 menit untuk meminimalisir kelembaban pada plat. Fase diam yang berupa silika merupakan komponen yang mudah menyerap lembab yang dapat terjadi selama penyimpanan. Kelembaban pada plat dapat mengganggu proses pemisahan dan pengukuran karena kelembaban udara yang dipengaruhi oleh gugus OH dari uap air dapat berikatan dengan silika yang mengakibatkan terjadinya perubahan polaritas dari fase diam. Selain itu, gugus OH merupakan auksokrom yang apabila berikatan dengan analit dapat menyebabkan perubahan spektrum dari analit tersebut (Deinstrop, 2007).

Pada Tabel 3.1. menunjukkan spot andrografolid tidak dapat terdeteksi pada seri konsentrasi standar 1. Hal ini mungkin diakibatkan konsentrasi andrografolid pada standar 1 terlalu kecil sehingga spot tidak dapat terdeteksi. Selanjutnya dilakukan analisis data

untuk melihat linieritas data dan persamaan regresi linier dengan menggunakan seri konsentrasi yang dapat terdeteksi. Linearitas adalah kemampuan metode analisis yang memberikan respon yang secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel (Harmita, 2004). Dari analisis data, diperoleh persamaan regresi linier $y=1622,8x + 1676,16$ dengan nilai $r=0,944$.

Berdasarkan persamaan regresi linier yang diperoleh, dihitung kadar andrografolid dalam sampel dan diperoleh hasil bahwa dalam ekstrak terpurifikasi herba sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees) mengandung 29,81% b/b andrografolid dengan standar deviasi 0,021.

5. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh kadar andrografolid dalam ekstrak terpurifikasi sambiloto adalah 29,81% b/b andrografolid dengan standar deviasi 0,021.

DAFTAR PUSTAKA

- Azlan, A., L. Younis, N. H. Mahmud, and N. A. Dardiri. 2013. Mechanism of Action of *Andrographis paniculata* As Anti-Atherosclerotic Agent. *European International Journal of Science and Technology*. Vol. 2. No. 2. pp.1-6
- Chao, W. W. and B. F. Lin. 2010. Isolation and Identification of Bioactive compounds in *Andrographis paniculata* (Chuanxinlian). *Chin. Med. J.* Vol. 5. pp. 1-15
- Deinstrop, E. H. 2007. *Applied Thin Layer Chromatography*, 2nd Edition. Weinheim: Wiley VCH Verlag. pp. 101-121
- DepKes RI. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. p. 126
- Harmita. 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. Vol. I. No. 3. Desember 2004. pp. 117-135
- Lin, F. L., S. J. Wu, and S.C. Lee. 2009. Antioxidant, Antioedema and Analgesic

Penetapan Kadar Andrografolid dalam Ekstrak Terpurifikasi Herba Sambiloto dengan KLT-Spektrodensitometri

(Warditiani, N. K.¹, Larasanty, L. P. F.¹, Siahaan, T. F.¹)

- Activities of *Andrographis paniculata* extracts and their active constituent andrographolide. *Phytother Res.* Vol. 23. No. 7. pp. 958-964
- Nugroho, A. E., M. Andrie, N. K. Warditiani, E. Siswanto, and E. Lukitaningsih. 2012. Antidiabetic and Antihiperlipidemic Effect of *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees and Andrographolide in High Fructose Fat Fed Rats. *Indian Journal of Pharmacology*, Vol. 44. No. 3. pp. 377-381
- Prapanza, E. dan L. M. Marianto. 2003. *Khasiat & Manfaat Sambiloto: Raja Pahit Penakluk Aneka Penyakit*. Jakarta: AgroMedia Pustaka. pp. 3-9
- Sherma, J. and B. Fried. 1996. *Handbook of Thin-Layer Chromatography* 3rd Edition. New York: Marcel Dekker, Inc. pp. 5-6, 135-139, 143-145
- Srijanto, B, O.B. Pri, L. Khojayanti, E. Rismana, dan Sriningsih. 2012. *Pemurian Ekstrak Etanol Sambiloto (Andrographis paniculata Ness.) dengan Teknik Ekstraksi Cair-Cair*. Pusat Teknologi Farmasi dan Medika-BPPT. Jakarta 29-30 November 2012
- Srivasta, A., H. Misra, R. K. Verma, and M. M. Gupta. 2004. Chemical finger printing of *Andrographis paniculata* using HPLC, KLTKT and Densitometry. *Phytochemical Analysis*. Vol. 15. pp. 280-285
- Wongkittipong, R., L. Prat, S. Damronglerd, and C. Gourdon. 2000. Solid-liquid extraction of andrographolide from plants-experimental study, kinetic reaction and model. *Separation and Purification Technology*, Vol. 40. pp. 147-154