

Penetapan Kadar Andrografolid dalam Isolat dari Sambiloto dengan KLT-Spektrofotodensitometri

Warditiani, N. K.¹, Widjaja, I. N. K.¹, Gitarini, N. M.¹

¹Jurusan Farmasi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana

Korespondensi: Ni Made Gitarini

Jurusan Farmasi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana

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

Email : madegitarini@yahoo.co.id

ABSTRAK

Andrografolid merupakan kandungan aktif dari tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm. f.) Ness) yang mempunyai berbagai aktivitas farmakologi seperti penurun kadar gula darah, trigliserida dan LDL, sebagai antioksidan, antiinflamasi dan analgesik. Andrografolid telah berhasil diisolasi dari tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Ness dengan metode maserasi menggunakan etanol 90%, purifikasi bertahap dengan *n*-hexan, etil asetat dan air panas selanjutnya pemurnian dengan rekristalisasi. Penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui kadar andrografolid pada isolat yang diperoleh dari sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Ness menggunakan metode KLT-Spektrofotodensitometri.

Pada proses penetapan kadar, standar andrografolid dan sampel isolat andrografolid hasil isolasi dari sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm. f.) Ness ditotolkan pada plat KLT Silika Gel GF₂₅₄ kemudian dieluaskan dalam chamber yang berisi campuran kloroform : metanol (9:1) sebagai fase geraknya. Deteksi noda dan pengukuran kadar dilakukan dengan Densitometer. Hasil menunjukkan bahwa isolat yang diperoleh memang benar merupakan andrografolid dimana panjang gelombang serapan maksimum larutan baku standar andrografolid dan isolat adalah sama yaitu 232 nm. Kadar andrografolid pada isolat yang diperoleh adalah 89,07 % dengan SD 0,041.

Kata kunci : andrografolid, KLT-Spektrofotodensitometri, sambiloto

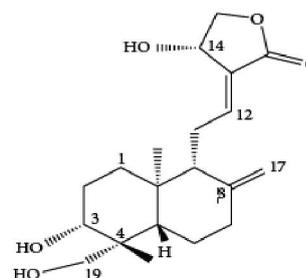
1. PENDAHULUAN

Andrografolid merupakan komponen bioaktif utama dari tanaman obat sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees). Komponen ini dapat ditemukan di semua bagian tanaman terutama pada bagian daun. Di dalam daun, kadar senyawa andrografolid sebesar 2,5-4,8% dari berat keringnya (Prapanza dan Marianto, 2003).

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

Andrografolid adalah diterpenoid lakton, berupa kristal tak berwarna dan mempunyai rasa

yang sangat pahit (Chao dan Lin, 2010). Rumus molekul andrografolid adalah C₂₀H₃₀O₅. Gambar struktur andrografolid disajikan dalam gambar 1.1.



Gambar 1.1. Struktur kimia andrografolid (Depkes RI, 2008)

Andrografolid mudah larut dalam metanol, etanol, piridin, asam asetat dan aseton, tapi sedikit larut dalam eter dan air. Telah berhasil dilakukan isolasi andrografolid dari *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Ness dengan metode kristalisasi-rekristalisasi yang diawali dengan maserasi menggunakan etanol 90% dan purifikasi bertahap dengan *n*-hexan, etil asetat dan air panas (Warditiani *et al.*, 2014). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar andrografolid dalam isolat yang diperoleh dari Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm. F.) Ness).

KLT-Densitometri merupakan salah satu metode penetapan kadar yang luas digunakan dengan hasil yang cukup memuaskan. Metode ini mudah dilakukan, sederhana, sensitif dan cukup teliti (Srivasta *et al.*, 2004).

2. BAHAN DAN METODE

2.1. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel isolat andrografolid, 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. Penyiapan Sampel isolat Andrografolid

Sampel isolat andrografolid dibuat dengan melarutkan 2,5079 mg dalam 5 mL metanol.

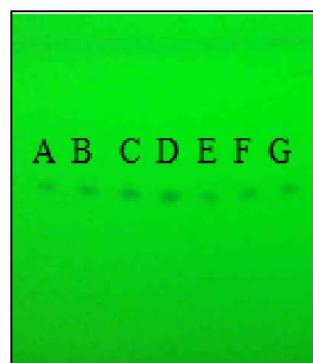
2.3.2. Pengukuran kadar andrografolid

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 dan 8 µL. Sampel isolat ditotolkan sebanyak 2 µL di 3 titik penotolan. Plat dielusi dengan kloroform : metanol (9:1) dengan jarak pengembangan 8 cm. Plat dibiarkan hingga kering kemudian spot diamati di bawah sinar UV 254. *AUC* andrografolid diukur dengan

Spektrofotodensitometer pada panjang gelombang maksimumnya. Kadar andrografolid dalam isolat dihitung dengan persamaan regresi linier dari larutan standar andrografolid.

3. HASIL

Pada pengamatan di bawah UV₂₅₄ disajikan pada gambar 3.1. terlihat adanya satu spot pada setiap penotolan dengan Rf pada standar 1, 2, 3 dan 4 serta sampel 1, 2 dan 3 berturut-turut adalah 0,55, 0,54, 0,53, 0,52, 0,52, 0,53 dan 0,54.

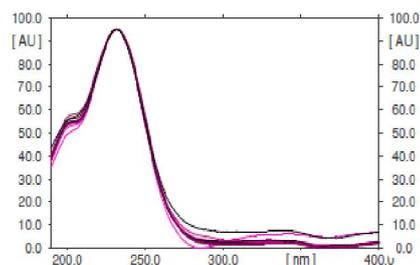


Gambar 3.1. Hasil Pengamatan Standar dan Sampel Isolat Andrografolid pada UV 254 nm

Keterangan :

- A : Standar andrografolid 1 (0,392 µg)
- B : Standar andrografolid 2 (0,78 µg)
- C : Standar andrografolid 3 (1,176 µg)
- D : Standar andrografolid 4 (1,568 µg)
- E : Sampel isolat 1 (1 µg)
- F : Sampel isolat 2 (1 µg)
- G : Sampel isolat 3 (1 µg)

Hasil pengamatan spektrum standar andrografolid dan sampel isolat andrografolid ditampilkan pada gambar 3.2.



Gambar 3.2. Spektrum standar dan sampel isolat andrografolid dengan λ_{maks} 232 nm

Selanjutnya spot dideteksi pada panjang gelombang maksimumnya yaitu 232 nm untuk memperoleh nilai *AUC* dari setiap seri dan sampel. Hasil pengamatan terhadap seri standar andrografolid untuk memperoleh kurva kalibrasi disajikan dalam tabel 3.1.

Tabel 3.1. Hasil pengamatan KLT-densitometri seri standar andrografolid pada 232 nm untuk pembuatan kurva kalibrasi

A	B	C
0,392	1812,3	$y = 3030x + 741,2$
0,78	3300,4	$R^2 = 0,992$
1,176	4261,8	
1,568	5456,7	

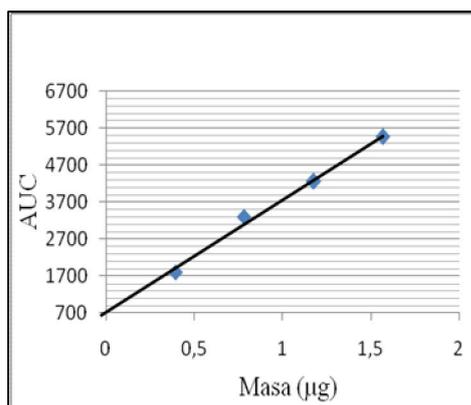
Ket :

A : Masa standar andrografolid dalam totolan (μg)

B : nilai *AUC* standar andrografolid

C : Persamaan Regresi linier

Dengan memasukkan nilai *AUC* sebagai y dan massa andrografolid sebagai x diperoleh kurva kalibrasi seperti pada gambar 3.3.



Gambar 3.3. Kurva kalibrasi seri standar andrografolid

Kadar andrografolid dihitung menggunakan persamaan regresi dengan memasukkan nilai *AUC* dari sampel isolat sebagai y pada persamaan regresi sehingga diperoleh nilai x sebagai massa andrografolid pada sampel isolat. Hasil pengamatan nilai *AUC* pada sampel isolat andrografolid dan massa andrografolid disajikan pada tabel 3.2.

Tabel 3.2. Hasil Pengamatan Sampel Isolat

A	B	C	D
1	1	3448,6	0,8935
2	1	3576,7	0,9358
3	1	3295,3	0,8429

Ket :

A : Replikasi sampel isolat andrografolid

B : Massa sampel isolat dalam totolan (μg)

C : Nilai *AUC*

D : Massa andrografolid dalam totolan (μg)

Berdasarkan hasil pada tabel 3.2 diperoleh massa rata-rata andrografolid dalam tototal sebesar 0,8907 μg dan diperoleh hasil bahwa sampel isolat mengandung 89,07 % andrografolid sengan SD 0,041.

4. PEMBAHASAN

Pengukuran kadar andrografolid dalam isolat dilakukan menggunakan metode KLT-Spektrofotodensitometri berdasarkan hubungan antara luas area puncak (*AUC*) kromatogram senyawa tersebut dengan konsentrasinya. Luas area puncak suatu senyawa berbanding lurus dengan kadar senyawa yang terkandung dalam noda. Semakin tinggi kadar senyawa maka luas area puncak kromatogram suatu senyawa akan semakin besar (Sherma dan Fried, 1994).

Pada pengamatan di bawah UV_{254} terlihat adanya satu spot pada setiap penotolan dengan *Rf* pada standar 1, 2, 3 dan 4 serta sampel 1, 2 dan 3 berturut-turut adalah 0,55, 0,54, 0,53, 0,52, 0,52, 0,53 dan 0,54 (Gambar 3.1.) dimana nilai *Rf* tersebut telah mendekati nilai *Rf* pada pustaka yaitu nilai *Rf* andrografolid pada plat KLT Silika Gel GF₂₅₄ dan fase gerak kloroform : metanol (9:1) adalah 0,55 (Depkes RI, 2008). Dari gambar spektrum standar andrografolid dan isolat yang diperoleh pada rentang 200 nm sampai 400 nm (Gambar 3.2) dapat dilihat bahwa terdapat kesamaan pola spektrum dari seri standar andrografolid dengan sampel isolat andrografolid dengan panjang gelombang maksimum yaitu 232 nm sehingga dikatakan bahwa memang benar isolat yang diperoleh merupakan senyawa andrografolid.

Dengan membuat kurva kalibrasi antara konsentrasi dengan luas area puncak (*AUC*) dapat dihitung konsentrasi analit (Deinstrop,

2007). Kurva kalibrasi dibuat dengan membandingkan antara konsentrasi senyawa dengan luas area puncak dari 4 larutan senyawa standar yang telah diketahui konsentrasinya. Berdasarkan kurva tersebut diperoleh nilai R^2 sebesar 0,992 yang menandakan bahwa data memiliki linieritas yang baik. Kadar andrografolid dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier dan diperoleh hasil bahwa isolat mengandung 89,07% andrografolid dengan standar deviasi 0,041.

5. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh panjang gelombang maksimum seri standar andrografolid dan sampel isolat andrografolid adalah sama yaitu 232 nm. Kadar andrografolid dalam isolat adalah 89,07 % dengan standar deviasi 0,41.

DAFTAR PUSTAKA

- Lin, F.L., Wu, S.J. & Lee, S.C. (2009). Antioxidant, Antioedema and Analgesic Activities of *Andrographis paniculata* extracts and their active constituent andrographolide. *Phytother Res*, Vol. 23(7) : 958-64
- Azlan, A., Younis, L., Mahmud, N.H. & Dardiri, N.A. (2013). Mechanism of Action of *Andrographis paniculata* as Anti-atherosclerotic Agent. *European International Journal of Science and Technology*, Vol. 2(2) : 1-6
- Deinstrop, E.H. (2007). *Applied Thin Layer Chromatography*, 2nd Edition. Weinheim: Wiley VCH Verlag. Hal : 101-121
- Depkes RI. (2008). *Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal : 126-127
- Chao, W. dan Lin, B. (2010). Isolation and Identification of Bioactive Compounds in *Andrographis paniculata*. *Chinese Medicine*, Vol. 5(17) : 1-15
- Nugroho, A.E., Andrie, M., Warditiani, K., Siswanto, E., Pramono, S. & Lukitaningsih, E. (2012). Antidiabetic and Antihyperlipidemic Effect of *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees and Andrographolide in High-fructosa-fat-fed Rats. *Indian Journal Pharmacol*, Vol. 44(3) : 377-381
- Prapanza, E. & Mariantio, L.M.. (2003). *Khasiat & Manfaat Sambiloto: Raja Pahit Penakluk Aneka Penyakit*. Jakarta: AgroMedia Pustaka. Hal : 3-9
- Sherma, J. & Fried, B. (1996). *Handbook of Thin-Layer Chromatography*. 3rd Edition. New York: Marcel Dekker, Inc. Hal : 135-139
- Srivasta, A., Misra, H., Verma, R.K., & Gupta, M.M. (2004). Chemical finger printing of *Andrographis paniculata* using HPLC, KLTKT and Densitometry., *Phytochemical Analysis*, 15 : 280-285
- Warditiani, N.K., Widjaja, I.N.K. & Noviyanti, N.W.R. (2014). Isolasi Andrografolid dari *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Ness menggunakan Metode Purifikasi dan Kristalisasi. *Jurnal Farmasi Udayana*, Vol.III(1)