

Pengaruh Jenis Pelarut Pengekstraksi Terhadap Kadar Sinensetin Dalam Ekstrak Daun *Orthosiphon stamineus* Benth.

Lusiana Arifianti*, Rice Disi Oktarina, Idha Kusumawati

Departemen Farmakognosi dan Fitokimia, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga
Email: l.arifianti@gmail.com

ABSTRACT

Orthosiphon stamineus Benth. is a medicinal plant which grown in Southeast Asia and cultivated in Indonesia. The leaves of this plant are used by name of "kumis kucing" in traditional medicine as a diuretics, rheumatism, urinary tract infection, chronic and acute kidney infection and biliary lithiasis. This study was aimed to determinate the content of sinensetin on varying hydroalcoholic eluent (96%, 70%, 50% ethanol and water). Analytical method for the determination of sinensetin using a thin layer chromatography-densitometry method. TLC densitometry quantification is performed by external standard on silica gel plates GF 254. Selectivity tested results that using chloroform-ethyl acetate (15:1) as developing solvent and UV detection at 338 nm (top peak), showed a component of sinensetin ($Rf_{std} = 0,39$; $Rf_{sample} = 0,38$) and an identical spectra ($MF = 0,99817$). The %yield of sinensetin in extract from *Orthosiphon stamineus* Benth. leaves on each eluent were 1,9%; 1,3%; 1,1% and 0,3% (ethanol 96%, 70%, 50% and water) respectively. The highest concentration of sinensetin was in ethanol 96%. From the present study, it may be concluded that ethanol 96% is the best eluent for manufacture of herbal medicine from *Orthosiphon stamineus* Benth.

Key word: *Orthosiphon stamineus* Benth, sinensetin, TLC densitometry

PENDAHULUAN

Salah satu tanaman yang telah dimanfaatkan sebagai obat tradisional adalah *Orthosiphon stamineus* Benth. atau dikenal dengan kumis kucing. Oleh masyarakat asia tenggara banyak digunakan sebagai obat tradisional dengan khasiat infeksi saluran kemih, infeksi ginjal akut dan kronis, kencing batu dan rematik gout (Awale, et.al., 2001). Telah dilakukan berbagai penelitian untuk mengetahui kandungan kimia dari kumis kucing.

Orthosiphon mengandung senyawa komponen bioaktif, yaitu mineral yang sebagian besar adalah mineral kalium, sekitar flavon lipofil (sinensetin dan isosinensetin), glikosida flavonol, asam kafeat (asam rosmarinat), minyak esensial, diterpen (Awale, et.al., 2001) orthosiphon d, orthosiphon E (Takeda, et.al., 1993), triterpen dan chromene seperti metilpariochromene A (Guerin, et.al., 1989). Komponen baru 5, 6, 7, 8-tetra hidroksi-6-metoksi-flavon diisolasi dari tanaman ini (Hossain, et.al., 2008).

Ekstrak tumbuhan obat yang dibuat dari simplisia, dapat digunakan sebagai bahan awal, bahan antara atau bahan produk jadi. Untuk itu ekstrak yang dibuat harus memenuhi standar mutu, mulai bahan baku, proses sampai pengujian produk. Beberapa faktor yang mempengaruhi mutu ekstrak diantaranya yaitu faktor kimia seperti jenis dan jumlah senyawa kimia, metode ekstraksi dan pelarut yang digunakan (Depkes RI, 2000).

Untuk mendapatkan ekstraksi yang menyeluruh dan mendapatkan senyawa-senyawa yang mempunyai aktivitas farmakologi maka pemilihan pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi merupakan faktor yang penting. Pelarut ideal yang sering digunakan adalah alkohol atau campurannya dengan air karena merupakan pelarut pengekstraksi yang terbaik untuk hampir semua senyawa dengan berat molekul rendah

seperti saponin dan flavonoid (Wijesekera, 1991). Jenis pelarut pengekstraksi juga mempengaruhi jumlah senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak, sesuai konsep *like dissolve like*, dimana senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar dan senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut non polar.

BAHAN DAN METODE

Bahan. Bahan Tanaman. Tanaman *Orthosiphon stamineus* Benth diperoleh dari Bogor, Jawa Barat. Bagian tanaman yang digunakan adalah daun yang dipanen pada umur 2,3 dan 5 bulan.

Bahan Kimia Yang Digunakan

Bahan kimia yang digunakan antara lain, etanol 96% (teknis), metanol (pro analisis, Merck), kloroform (pro analisis, Merck), etil asetat (pro analisis, Merck) dan N-heksan (pro analisis, Merck).

Alat. Densitometer Scanner Camag 3 dengan software WIN CATS, timbangan mikrobalance Librator

Metode Penelitian.

1. Pembuatan simplisia. Tanaman diperoleh dari daerah Bogor, Jawa Barat. Bagian tanaman yang digunakan daun, selanjutnya dilakukan pengeringan hingga diperoleh simplisia kering dan kemudian diserbuk.

2. Pembuatan ekstrak. Serbuk daun *Orthosiphon stamineus* Benth. sebanyak 50 g diekstraksi secara maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%, 70%, 50% dan air sebanyak 500 ml selama 3 x 24 jam. Ekstrak-ekstrak cair tersebut kemudian diuapkan dengan roravapour (untuk pelarut pengekstraksi 50%, 70% dan 96%) dan freeze dryer (untuk pelarut air). Ekstrak yang diperoleh selanjutnya digunakan sebagai sampel.

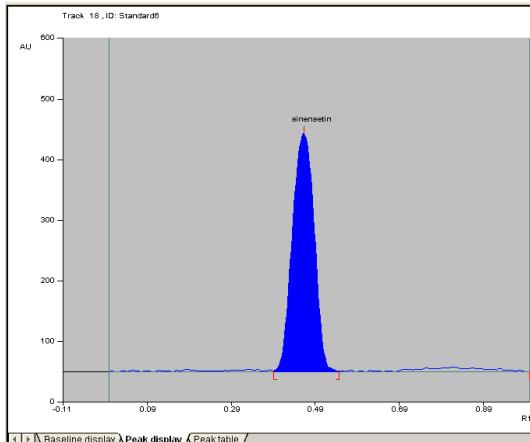
3. Penetapan kadar sinesetin. Sampel ekstrak ditimbang sebanyak 5,0 mg dilarutkan dengan etanol 96% dalam labu ukur 5,0 ml. Selanjutnya ditotol

sebanyak 10 μ l sedangkan standard sinensetin ditol sedbanyak 1 μ l. Plate silika gel F254 kemudian dieluasi dengan menggunakan eluen kloroform : etil asetat= 15: 1 tetes untuk 10 ml eluen (hasil uji selektivitas). Selanjutnya kadar sinensetin dalam sampel ekstrak ditentukan berdasarkan kurva baku linieritas 5; 50; 75; 100 dan 200 ppm dengan menggunakan densitometer Camag scanner 3 dan dikontrol melalui komputer dengan program software winCATS.

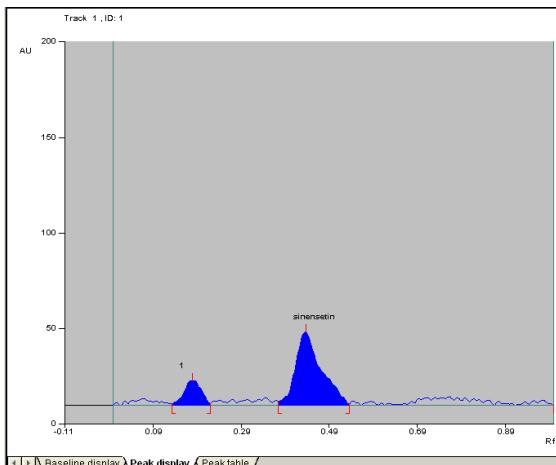
4. Analisa Data. Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan konsentrasi sinensetin pada tanaman *Orthosiphon stamineus* Benth. dengan berbagai macam pelarut pengekstraksi (etanol 96%, 70%, 50% dan air), maka dilakukan uji anova atau analisis varian.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebelum penetapan kadar sinensetin dilakukan uji selektivitas pelarut yaitu pemilihan jenis dan komposisi pelarut yang dapat memisahkan senyawa sinensetin dengan komponen-komponen yang lain pada masing-



Gambar 5.1. Kromatogram standard sinensetin, Rf = 0,39

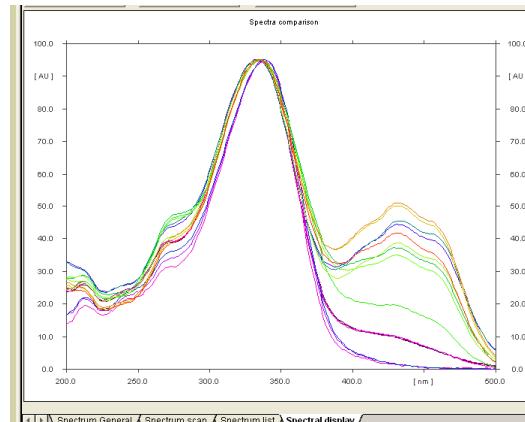


Gambar 5.2. Contoh kromatogram sampel, Rf = 0,38

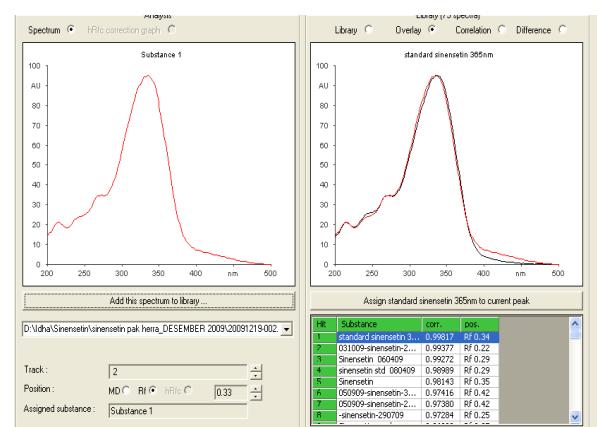
masing sampel ekstrak (etanol 96%, 70%, 50% dan air).

Hasil uji selektivitas pelarut diperoleh pada pelarut kloroform : etil asetat (15 : 1) ditambah asam formiat 1 tetes untuk 10 ml eluen, di scanning pada panjang gelombang 338 nm. Kemudian dilakukan perbandingan antara dengan standar berdasarkan harga Rf, warna bercak, dan spektrum spektrofotometri ultraviolet.

Berdasarkan perbandingan antara standar sinensetin dengan sampel, diperoleh hasil harga Rf Standard 0,39 dan Rf sampel 0,38. Hasil analisis dengan KLT menunjukkan bercak berfluoresensi biru terang. Dan pada spektrum spektrofotometri ultraviolet menunjukkan gambar spektrum yang identik antara sampel dengan spektrum standard sinensetin. Dua spektrum dikatakan identik apabila memiliki harga MF (*Match Factor*) > 95. Pada penelitian ini harga *match factor* dari sampel terhadap standard sinensetin diperoleh 0,99817 sehingga dapat dikatakan identik.



Gambar 5.3. Spektrum standard sinensetin dan semua sampel



Gambar 5.4. Match Factor spektrum sampel terhadap spektrum standard = 0,99817

Spektrum ultraviolet pada sampel menunjukkan adanya dua puncak yaitu 267 nm dan 338 nm. Pita tersebut khas untuk flavonoid terutama golongan flavon, dimana pada panjang gelombang 267 nm menunjukkan adanya glikosida flavon sedangkan pada panjang gelombang 338 nm menunjukkan adanya polimetoksiflavon termasuk didalamnya sinensetin (3',4',5,6,7 pentametoksi flavon).

Penetapan kadar sinensetin dalam ekstrak etanol dari daun *Orthosiphon stamineus* Benth. dilakukan dengan metode dengan metode TLC-Densitometri. Keuntungan menggunakan metode ini antara lain mudah, cepat, akurat dan murah serta paling sesuai untuk analisis bahan alam. Metode pengukuran kadar menggunakan metode standar eksternal. Standard yang digunakan yaitu 5 ppm, 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm dan 200 ppm (dalam etanol 96%) dengan volume totolan masing-masing 10 μ l. Dari linieritas baku standard diperoleh harga linieraritas (r) = 0,98823 (lebih besar dari r tabel = 0,878, $p \leq 0,05$). Sehingga dapat dilakukan penentuan kadar sinensetin pada sampel.

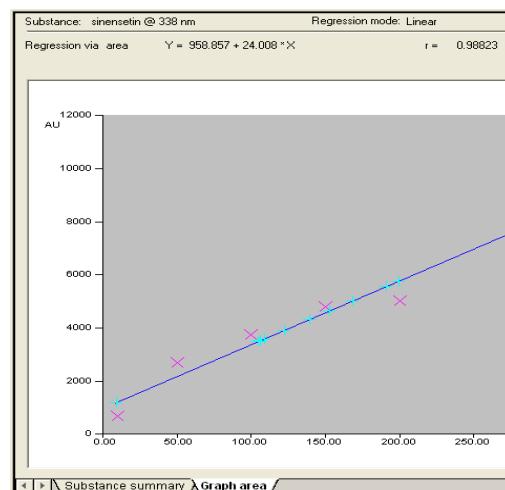
Kadar sinensetin dalam masing-masing sampel ekstrak sebagai berikut:

Tabel 5.1 Kadar sinensetin dalam ekstrak daun *Orthosiphon stamineus* Benth.

Ekstrak dg pelarut air			Ekstrak dg pelarut alkohol 50%			Ekstrak dg pelarut alkohol 70%			Ekstrak dg pelarut alkohol 96%		
Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 1	Rep 2	Rep 3
0,04	0,02	0,02	1,0	1,1	1,1	1,4	1,3	1,3	1,9	1,7	1,9
Rerata = 0,3 %b/b						Rerata = 1,1 %b/b					
SD = 0,009						SD = 0,01					

Berdasarkan analisis data dengan menggunakan anova one way, maka dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan bermakna kadar sinensetin antar kelompok dengan derajat kepercayaan (α) 95% yang ditunjukkan dengan nilai signifikansi $\leq 0,05$ (lampiran 2).

Rerata kadar sinensetin tertinggi dalam ekstrak daun *Orthosiphon stamineus* Benth. diperoleh pada kelompok ekstrak dengan pelarut pengekstraksi etanol 96%. Hal ini sesuai dengan teori awal, dimana pelarut ideal yang sering digunakan adalah alkohol atau campurannya dengan air yang merupakan pelarut pengekstraksi yang mempunyai *extractive power* yang terbaik untuk hampir semua senyawa yang mempunyai berat molekul rendah seperti alkohol, saponin dan flavonoid. Pada pelarut campuran alkohol air dengan perbandingan 7:3 (alkohol 70%) paling sesuai untuk bahan baku simplisia yang berupa akar, batang atau bagian berkayu dari tanaman, sedangkan perbandingan 1:1 (alkohol 50%) sangat berguna untuk menghindari klorofil, senyawa resin atau polimer yang biasanya tidak mempunyai aktivitas berarti tetapi seringkali menimbulkan masalah-masalah farmasetis misalnya terjadinya pengendapan yang *gummy* yang sulit untuk dihilangkan (Wijesekera, 1991), sehingga dalam penetapan kadar sinensetin pada bagian daun hasil tertinggi diperoleh dengan menggunakan pelarut pengekstraksi etanol 96%



Gambar 5.5. Kurva liniearitas standard sinensetin dan sampel

dibanding pelarut pengekstraksi lainnya. Hal ini juga didukung dengan adanya penelitian lain yang melakukan uji aktivitas diuretik dengan menggunakan ekstrak air, baru menunjukkan efek diuretik setelah penggunaan jangka panjang, hal ini disebabkan karena kandungan sinensetin yang paling sedikit dalam ekstrak dibanding menggunakan pelarut pengekstraksi lainnya.

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa jenis pelarut pengekstraksi yang dapat menyari sinensetin dalam jumlah paling banyak pada daun *Orthosiphon stamineus* Benth. adalah pelarut etanol 96%. Dengan demikian maka dapat dikatakan bahwa etanol 96% merupakan pelarut pengekstraksi yang terpilih untuk pembuatan ekstrak sebagai bahan sediaan *herbal medicine*.

PUSTAKA

- Awale S, Tesuka Y, Banskota A.H, Kouda K, Tun KM, Kadota S. 2001. Five Novel Highly Oxigenated Diterpenes of *Orthosiphon stamineus* from Myanmar. *Journal of Natural Product* 64(5) p. 592-596
Depkes RI, 2000. **Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat**, Jakarta : Depkes RI,hal 10-11

- Guerin, JC, Reveillere HP, Ducrey P, and Toupet L, 1989. Orthosiphon stamineus as a potent source of methylpariachromene A. *Journal of Natural Product*, No. 1, Vol. 52, pp171-173
- Hossain MA, Ismail Z, Rahman A, and Kang SC, 2008. Chemical composition and anti-fungal properties of the essential oils and crude extracts of *Orthosiphon stamineus*. *Industrial Crop and Product*, Vol. 27, p. 328-334
- TaTakeda Y, Matsumoto T, Terao H, Shingu T, FutatsuishiY, Nohara T, Kajimoto T, 1993. Orthosiphon D and E, Minor Diterpens from *Orthosiphon stamineus*. *Phytochemistry* 33, p.411-415
- Wijesekera, ROB, 1991. *The Medicinal Plant Industry*. Washington DC : CRC Press, pp. 85-90