PENGARUH PENGGUNAAN LIMBAH ETANOL LABORATORIUM TERHADAP KADAR SENYAWA ANDROGRAFOLID HASIL EKSTRAKSI DAN ISOLASI HERBA SAMBILOTO

Yon Haryanto[1]
[1]*Program Studi Farmasi FMIPA, Universitas Islam Indonesia*

Email: 141003408@uii.ac.id

ABSTRAK

Senyawa bioaktif yang terdapat pada tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness.) adalah andrografolid. Kandungan senyawa aktif yang berkhasiat dan berasal dari bahan alam memiliki karakteristik tertentu dalam kelarutan. Penelitian tentang metode ekstraksi dan cairan penyari yang terbaik dalam mengambil senyawa aktif dari simplisia dapat membantu proses isolasi senyawa aktif andrografolid. Jenis pelarut juga akan mempengaruhi efisiensi proses ekstraksi dan isolasi. Penggunaan pelarut limbah etanol dalam penelitian ini, yang digunakan dalam rangkaian proses ekstraksi dan isolasi diharapkan mampu mengurangi jumlah limbah laboartorium yang belum dimanfaatkan keberadaannya secara optimal.

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai pengaruh penggunaan pelarut limbah etanol laboratorium yang digunakan, terhadap kualitas senyawa andrografolid yang di hasilkan dari proses ekstraksi dan isolasi herba sambiloto.

Hasil peneltian menunjukkan bahwa Kadar senyawa andrografolid hasil proses isolasi pada masing-masing perlakuan penggunaan pelarut etanol 96% menunjukan hasil yang berbeda. Hasil penelitian menunjukkan, pelarut limbah etanol 96% menghasilkan kadar senyawa andrografolid yang lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut teknis 96%. Kadar isolat andrografolid pelarut teknis etanol 96% sebesar 98,91% dan kadar isolat andrografolid pelarut limbah etanol 96% sebesar 99,04%.

Kata kunci: limbah etanol, ektraksi, isolasi, sambiloto, andrografolid

ABSTRACT

The bioactive compound found in the bitter plant (Andrographis paniculata Ness.) is andrographolide. The content of active compounds that are efficacious and come from natural ingredients have certain characteristics in terms of solubility. Research on the best extraction methods and filter fluids for extracting active compounds from simplicia can help the process of isolating the active compound andrographolide. The type of solvent will also affect the efficiency of the extraction and isolation process. The use of ethanol waste solvent in this research, which is used in a series of extraction and isolation processes, is expected to reduce the amount of laboratory waste whose existence has not been utilized optimally.

This research is expected to provide information regarding the effect of the use of laboratory ethanol waste solvent on the quality of andrographolide compounds produced from the extraction and isolation process of bitter herbs.

The research results showed that the levels of andrographolide compounds resulting from the isolation process in each treatment using 96% ethanol solvent showed different results. The research results showed that 96% ethanol waste solvent produced higher levels of andrographolide compounds compared to 96% technical solvent. The andrographolide isolate content of the 96% ethanol technical solvent was 98.91% and the andrographolide isolate content of the 96% ethanol waste solvent was 99.04%.

e-ISSN: 2963-2277

Keywords: ethanol waste, extraction, isolation, sambiloto, andrographolide

PENDAHULUAN

Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness.) merupakan tanaman perdu yang tumbuh dengan tinggi berkisar antara 0,5-1 meter. Bagian yang digunakan adalah daun, akar dan batang. Sambiloto tumbuh subur di Asia Selatan dan Tenggara seperti India, Pakistan, , Indonesia, Malaysia dan Thailand. Di Cina dan Thailand, sambiloto dibudidayakan secara besar-besaran (Srijanto dkk., 2012). Senyawa bioaktif yang terdapat pada tanaman sambiloto adalah andrografolid yang berkhasiat untuk mengatasi penyakit diabetes mellitus (DM) (Nugroho dkk., 2012). Andrografolid termasuk senyawa diterpen lakton dan larut dalam pelarut organik. Andrografolid paling banyak di daun (kurang lebih 2,39%) dan paling sedikit di biji (Sharma, 1992). Menurut Xiao Peigen dalam Vijesehera (1991) sambiloto juga mengandung 14-deoxyandrographolide yang digunakan untuk obat infeksi lambung, andrografolid untuk gangguan pernafasan, noandrographolide untuk obat ginjal dan m.deoxy-11,12 didehyaroandrographolide untuk liver. Menurut Spelmen et al (2006) andrografolid juga mampu meningkatkan proliferasi/limfosit yang berperan dalam sistem imun. Menurut Chao dan Lin (2010) Andrografolid termasuk kedalam kelompok trihidrosilakton berupa kristal tak berwarna dan mempunyai rasa yang sangat pahit dan tersebar sekitar 4 %, 0,8–1,2 % dan 0,5–6% pada ekstrak yang di keringkan, daun dan batang.

Kandungan senyawa aktif yang berkhasiat dan berasal dari bahan alam memiliki karakteristik tertentu dalam kelarutan. Penelitian tentang metode ekstraksi dan cairan penyari yang terbaik dalam mengambil senyawa aktif dari simplisia dapat membantu proses isolasi senyawa aktif andrografolid (Rais, 2014). Jenis pelarut juga akan mempengaruhi efisiensi proses ekstraksi dan isolasi. Menurut Sayuti. M (2017) jumlah senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak juga dipengaruhi oleh jenis pelarut pengekstraksi. Pelarut dengan polaritas yang mirip dengan polaritas senyawa aktif akan mampu melarutkan senyawa aktif yang terkandung pada tumbuhan. Senyawa aktif dari sambiloto adalah Andrografolid (Sharma, 1992). Menurut Akbar (2011) aktivitas farmakologi Andrografolid antara lain yaitu sebagai anti parasit, anti mikrobia, anti inflamasi, anti oksidan, hepatoprotektif, menormalkan kardiovaskuler, anti hiperglikemia dan glikemia, berperan pada fertilitas, mengobati disentri dan HIV.

Proses ekstraksi dapat dilakukan dengan berbagai macam teknik, salah satunya maserasi. Maserasi adalah cara ekstraksi yang paling sederhana. Bahan simplisia yang dihaluskan sesuai dengan syarat farmakope (umumnya terpotong-terpotong atau berupa serbuk kasar) disatukan

dengan bahan pengekstraksi. Selanjutnya rendaman tersebut disimpan terlindung cahaya langsung (mencegah reaksi yang dikatalis cahaya atau perubahan warna) dan dikocok berulang-ulang (kira-kira 3 kali sehari). Waktu lamanya maserasi berbeda-beda, masing-masing farmakope mencantumkan 4-10 hari. Secara teoritis pada suatu maserasi tidak memungkinkan terjadinya ekstraksi absolut. Semakin besar perbandingan simplisia terhadap cairan pengekstraksi, akan semakin banyak hasil yang diperoleh (Voight, 1995). Menurut Depkes RI (2000) metode maserasi ialah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur suhu kamar. Pengadukan dalam proses maserasi dapat dilakukan dengan cara manual atau dengan cara mekanik. Metode maserasi konvensional dilakukan dengan merendam bahan pada pelarut. Menurut Ibrahim dan Marham (2013) sampel yang telah dihaluskan direndam dalam suatu pelarut organik selama beberapa waktu. Farmakope Herbal Indonesia (2008) menyebutkan bahwa perendaman serbuk kering simplisia pada proses maserasi dilakukan selama 18 jam dengan sesekali di lakukan pengadukan.

Proses isolasi dapat dilakukan dengan teknik kromatografi cair vakum. *Vaccum Liquid Chromatography* (VLC) atau kromatografi cair vakum adalah kromatografi kolom yang dipercepat dan bekerja pada kondisi vakum. Prinsip yang di gunakan adalah adanya perbedaan sifat fisik dan kimia dari senyawa, yaitu kecenderungan dari molekul untuk melarut dalam cairan (kelarutan), menguap (keatsirian) dan melekat pada permukaan serbuk labus (adsorpsi, penyerapan). Modifikasi kromatografi cair yang dibantu dengan menggunakan vakum dapat di aplikasikan untuk memperoleh beberapa fraksi dalam waktu yang cepat dan tidak menggunakan fase diam serta fase gerak yang terlalu banyak. Penggunaan fase gerak untuk metode kromatografi cair vakum dapat divariasi baik pelarut maupun perbandingan pelarutnya. Menurut Nugroho,dkk., (2014) Pemurnian ekstrak etanolik dari pengotor-pengotor secara kromatografi kolom untuk senyawa andrografolid digunakan fase diam silica gel, sedangkan fase gerak yang digunakan adalah metanol dan kloroform dengan perbandingan 1 : 9.

Banyaknya limbah hasil dari proses kegiatan di laboratorium Pengembangan Bahan Obat Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Islam Indonesia, khususnya limbah etanol hasil proses ekstraksi di laboratorium memungkinkan untuk diambil potensi kemanfaatannya, yaitu dengan melakukan optimalisasi penggunaan limbah laboratorium dalam hal ini limbah etanol 96 % hasil dari proses evaporasi ekstrak yang digunakan ulang kembali untuk proses maserasi dalam tahapan ekstraksi dan isolasi senyawa andrgrafolid dari herba sambiloto. Penggunaan limbah etanol hasil proses kegiatan di laboratorium tersebut di samping dapat mengurangi jumlah

e-ISSN: 2963-2277

limbah yang menumpuk dan tidak dimanfaatkan keberadaannya juga merupakan bentuk dan upaya dalam menjalankan riset yang ramah lingkungan.

Berdasarkan hal tersebut perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh penggunaan limbah etanol laboratorium terhadap kadar senyawa andrografolid yang dihasilkan dari rangkaian tahap ekstraksi dan isolasi herba sambiloto (Andrographidis Paniculatae Herba).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Cabinet dryer, grinder/miller, maserator, Ultrasonivikator, magetik stirer, seperangkat alat *Vaccum Liquid Chromatograpy* (VLC), rotary evaporator, TLC densitometer dan seperangkat alat gelas.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah serbuk herba sambiloto yang diperoleh dari pasar Beringharjo Yogyakarta, limbah etanol 96 % dari laboratorium, etanol teknis 96%, metanol kualitas pro analisis , etanol kualitas pro analisis, etil asetat kualitas pro analisis, kloroform kualitas pro analisis, *n-heksan* kualitas pro analisis, andrografolid (Sigma), plat KLT, serbuk silika gel dan akuades.

Tahapan Penelitian

1. **Penyiapan Bahan**

   Simplisia herba sambiloto didapat dari pasar beringharjo dilakukan sortasi kering, d engan membersihkan simplisia dari kotoran, berupa daun ranting dan benda-benda a sing selain dari simplisia herba sambiloto. Setelah bersih dilakukan penyerbukan de ngan alat penyerbuk *miller*. Serbuk ini digunakan untuk bahan penelitian. Limbah et anol 96 % yang dihasilkan dari proses kegiatan di laboratorium dikumpulkan dan dit ampung dalam wadah tersendiri agar tidak tercampur dengan limbah-limbah lain ya ng berbeda jenisnya. Untuk mengetahui kualitas limbah etanol 96 % dilakukan uji G C-MS. Proses pengujian sampel menggunakan GC-MS dilakukan dengan memasuk kan masing-masing sampel, yaitu etanol 96 % teknis pabrikan dan etanol 96% limba h ke dalam vial. Alat GC-MS disiapkan dalam kondisi operasional dengan suhu inje ctor 200^{o} C, suhu kolom 60 sampai 100^{o} C dengan kenaikan 10^{o} C per menit. Laju al ir gas helium yang digunakan 0,75 mikroliter per menit, suhu intervace 200^{o} C, suhu detector 200^{o} C dengan kolom RTX-5 MS. Kemudian sampel di injekkan kedalam al at GC-MS dengan volume 0,1 mikroliter. Output/hasil dari uji GC-MS berupa krom atogram dan fragmentasi senyawa dari detector MS. Interpretasi data dari fragmenta

si senyawa dilihat kesamaannya di *library* yang ada di MS. Limbah etanol 96% ini y ang nantinya akan digunakan sebagai bahan pelarut dalam proses maserasi serbuk h erba sambiloto pada rangkaian proses ekstraksi dan isolasi senyawa anrografolid da lam penelitian yang dilakukan.

2. Ekstraksi herba sambiloto

Ditimbang 2 kali masing-masing 200 gram serbuk herba sambiloto sebanyak 3 kali. Masing-masing serbuk herba sambiloto dilakukan maserasi secara konvensional me nggunakan pelarut teknis etanol 96 % dan pelarut limbah etanol 96% selama 25 men it. Maserasi konvensional dilakukan dengan merendam serbuk simplisia herba samb iloto dengan pelarut dalam maserator sampai terendam selama 25 menit dengan sese kali diaduk. , Selanjutnya dari masing-masing perlakuan pelarut yang digunakan ters ebut, maserat di saring dengan corong Buchner di pisahkan dengan ampas. Selanjutn ya maserat yang dihasilkan dari masing-masing perlakuan dilakukan pemekatan ekst rak dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu evaporasi 40^{o} C, tekanan vacc um 174 mbar dengan putaran rotasi 60 rpm. sampai diperoleh ekstrak kental.

3. Pemurnian dan Isolasi andrografolid dari herba sambiloto

Ekstrak sambiloto yang di dapat dari masing-masing perlakuan pelarut yang digunak an kemudian dilakukan proses purifikasi. Ekstrak terpurifikasi kemudian di isolasi m enggunakan metode kromatografi kolom vakum dengan menggunakan fase diam sili ka gel dan fase gerak metanol dan kloroform dengan perbandingan 1 : 9 hingga sem ua andrografolid terelusi sempurna yang dideteksi dengan TLC. Fraksi yang diperol eh didiamkan, sehingga diperoleh kristal andrografolid. Kristal yang sudah terbentu k dicuci dengan menggunakan metanol dingin, kemudian dilanjutkan dengan mengg unakan heksan dingin.

4. Uji Kualitatif Kristal Andrografolid.

Uji kualitatif dilakukan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) untuk membanding kan antara andrografolid hasil isolasi dengan standar andrografoid yang dilihat diba wah lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm, dengan melihat warna dan rf (p osisi bercak) dan kemudian dibaca pola kromatogramnya dengan menggunakan TLC Scaner. Uji kualitatif dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT). KLT yang digunakan adalah plat silica gel $GF_{254.}$ Plat KLT tersebut sebelum digunakan te rlebih dahulu dilakukan *pre washing* dengan methanol pro analisis, kemudian dikeri

e-ISSN: 2963-2277

ngkan menggunakan oven pada suhu 100^{o}C selama 2 menit untuk menghilangkan a tau meminimalisir air yang terdapat pada plat KLT. Selanjutnya dilakukan preparasi untuk membuat larutan pembanding dan larutan sampel. Larutan pembanding yang d igunakan adalah larutan dari standard andrografolid, yaitu dengan menimbang 0,1 m g serbuk standard andrografolid yang dilarutkan dalam 10 ml etanol pro analisis, ke mudian dilakukan penotolan sebanyak 2 mikroliter menggunakan mikrosyring dan s elanjutnya dibaca dengan TLC Scaner 3 menggunakan panjang gelombang 423 nmm . Larutan sampel adalah larutan dari isolat andrgrafolid hasil ekstraksi dan isolasi de ngan beberapa jenis pelarut etanol 96 % yang digunakan, yaitu dengan membuat lar utan sampel pada masing-masing perlakuan pada konsentrasi 1 % dengan menimban g 0,1 mg isolat andrgrafolid yang dilarutkan dalam 10 ml etanol pro analisis. Kemud ian masing-masing sampel ditotolkan pada plat KLT untuk kemudian dibandingkan dengan standard andrografolid, yaitu dengan menotolkan pada plat KLT dan kemudi an di elusi dengan menggunakan fase gerak chloroform: metanol dengan perbanding an 9 : 1. Hasil KLT yang telah di elusi diukur secara kualitatif menggunakan TLC Sc anner 3 yang menghasilkan luas area pada sampel dan standard.

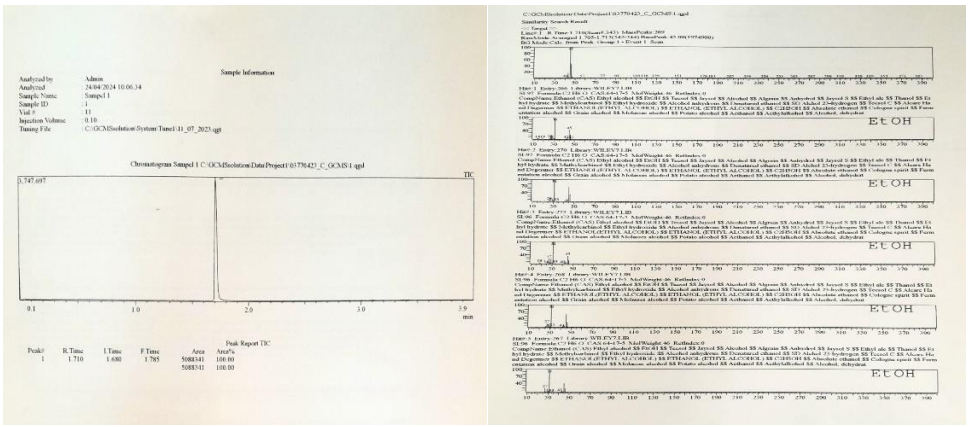
5. **Uji Kuantitatif Kristal Andrografolid.**

Uji kuantitatif dilakukan dengan analisis menggunakan HPLC dengan menghitung kadar senyawa andografolid yang terdapat pada hasil isolat. Uji kuantitatif senyawa andrografolid menggunakan HPLC dilakukan dengan menimbang 5 mg sampel isolat andrografolid hasil isolasi pada masing-masing sampel. 5 mg sampel dilarutkan dengan etanol pro analis pada labu takar 50 ml. larutan disaring dengan microfilter ukuran 0,45 mikroliter dan ditampung dalam vial. Larutan sampel di injeckan sebanyak 10 mikroliter pada HPLC dengan menggunakan fase gerak methanol: aquades (60:40), fase diam silica C8 dan detector jenis DAD (*Deode Array Detector*). Output dari hasil uji HPLC berupa kromatogram yang di sertai dengan nilai RT (*Retention Time*), nilai luas area dan relative area (%) yang dapat di interpolasikan sebagai kadar sampel dalam hal ini kadar sampel senyawa andrografolid. RT (*Retention Time*) adalah waktu munculnya puncak dari senyawa yang diuji.

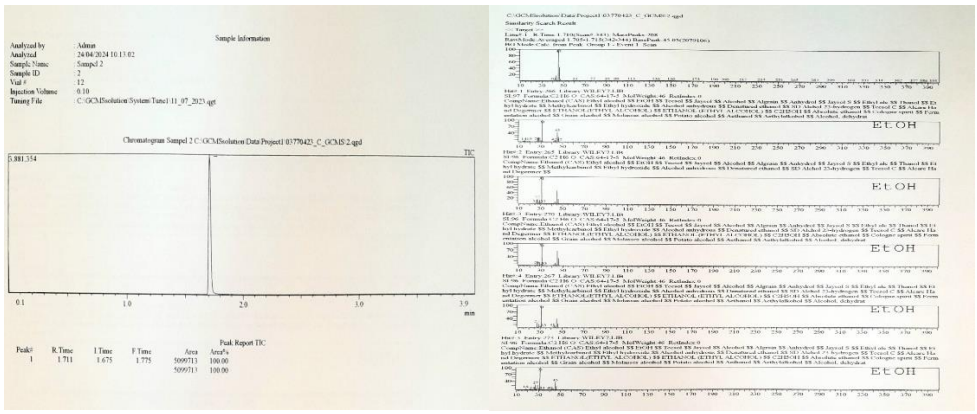
HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS) pelarut etanol 96% .

Hasil Uji GC-MS pada pelarut teknis pabrikan etanol 96 % dan pelarut limbah etanol 96 % dapat dilihat pada gambar 1 dan 2 berikut.



Gambar 1. Hasil Uji GCMS pelarut teknis pabrikan etanol 96 %



Gambar 2. Hasil Uji GC-MS pelarut limbah etanol 96 %

Hasil uji GC-MS (*Gas Chromatography Mass Spectrometry*) terhadap pelarut etanol 96% dapat di interpolasikan sebagai data kualitatif keberadaan senyawa yang ada di dalam sampel. Dari hasil uji GC-MS untuk sampel pelarut tenis etanol 96 % dan pelarut limbah 96 % seperti yang pada gambar 1 dan 2 menunjukkan bahwa profil kromatografi pada masing-masing sampel terbaca 1 puncak/*pick* yang berarti hanya ada satu senyawa. Jika dilihat dari data MS nya yang dikaitkan dengan angka *similarity index* nya (SI) pada *library* yang ada di MS, sampel dalam hal ini etanol yang diuji mempunyai kesamaan dengan etanol pada *library*. Kesamaan/kemiripan tersebut menunjukan secara kualitatif bahwa sampel tersebut adalah etanol.

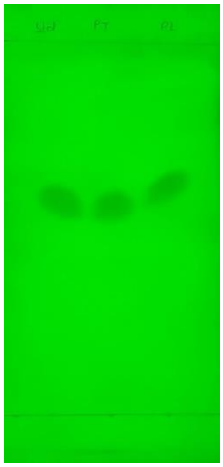
Dari data MS (*Mass Spectrometry*) diketahui bahwa *Similarity index* (SI) antara sampel pelarut teknis etanol 96% dan pelarut limbah etanol 96 % memiliki angka yang sama, yaitu pada angka 97. Hasil tersebut menunjukkan bahwa secara kualitatif pelarut teknis etanol 96 % dan pelarut limbah etanol 96 % adalah senyawa yang sama atau sejenis. Kualitas pelarut limbah

e-ISSN: 2963-2277

etanol 96 % yang sama dengan etanol teknis 96 % kemungkinan disebabkan karena limbah etanol 96% sisa proses kegiatan evapoarasi ekstrak yang menggunakan rotary evaporator dengan suhu 40 sampai 60^{o}C dengan tekanan vacuum 174 mbar mampu terdestilasi dengan baik. Proses tersebut akan memisahkan etanol 96 % dengan ekstrak dan komponen-komponen pengotor lain yang terdapat pada sisa/limbah pelarut hasil proses evapoarasi dalam hal ini limbah etanol 96 %. Sehingga dapat diketahui bahwa pelarut limbah etanol 96 % yang secara tidak langsung telah melalui proses destilasi dalam proses evaporasi ekstrak mempunyai kualitas yang sama dengan etanol teknis 96 %. Destilasi merupakan proses pemisahan suatu campuran/larutan yang terjadi berdasarkan pada perbedaan titik didih komponen-komponen penyusun pada campuran/larutan tersebut. Proses destilasi merupakan proses pemisahan campuran/larutan yang memungkinkan menggunakan tekanan tertentu dengan melalui tahapan pemanasan, penguapan dan pengkondensasian. Proses destilasi mutlak terjadi pada proses evaporasi menggunakan alat rotary evaporator. Menurut Afanasyev, Orlova dan Feoktistov (2015) pada proses rotary evaporator, pelarut akan terpisah dari maserat atau larutan ekstrak akibat adanya proses vakum bertekanan pada alat. Untuk memisahkan dan mengeluarkan pelarut etanol dari maserat/larutan ekstrak dapat juga dilakukan dengan mempercepat aliran udara pada permukaan larutan ekstrak.

Uji Kualitatif dengan Kromatografi Lapis Tipis senyawa andrografolid

Profil KLT senyawa andrografolid yang dihasilkan dari proses ekstraksi dan isolasi dari tanaman sambiloto dengan menggunakan pelarut teknis pabrikan etanol 96 % dan pelarut limbah etanol 96% dapat dilihat pada gambar 3 berikut.



Keterangan :

Fase diam : silica gel F_{254}

Fase gerak : kloroform : metanol (9:1)

S : Standard Andrografolid

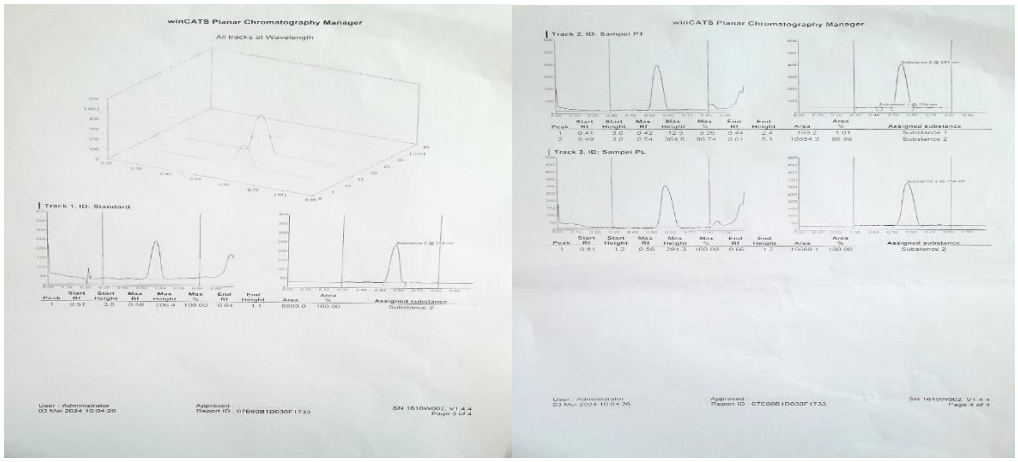
PT : Isolat Andrografolid pelarut teknis

PL : Isolat Andrografolid pelarut limbah

S PT PL

Gambar 3. Profil KLT dibawah UV_{254}.

Standard andrografolid dan isolat andrografolid hasil dari proses ekstraksi dan isolasi menggunakan pelarut teknis pabrikan etanol 96 % dan pelarut limbah etanol 96 % dibaca dengan TLC Scaner dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Profil kromatogram isolat andrografolid dibaca dengan TLC Scaner.

Data yang diperoleh dari penelitian berupa Nilai Rf dan warna noda hasil KLT senyawa andrografolid dapat dilihat pada tabel 1 di bawah ini.

Tabel 1. Nilai Rf dan warna noda hasil KLT

No	Noda	Nilai Rf	Warna Noda di bawah UV 254 nm
1.	Standar Andrografolid	0.58	ungu
2.	Isolat Andrografolid pelarut teknis etanol 96%	0.54	ungu
3.	Isolat Andrografolid pelarut limbah etanol 96%	0.58	ungu

Hasil dari uji kualitatif senyawa andrografolid dapat dilihat pada gambar 3, gambar 4 dan tabel 1. Gambar 3 menunjukkan bahwa antara standard dan sampel mempunyai profil KLT yang sama, terlihat warna noda ungu di bawah UV 254 nm. Sedangkan gambar 4 juga menunjukkan pola kromatogram yang sama antara standard dan sampel. Data pada tabel 1 menunjukkan nilai Rf yang relatif sama antara standard dan sampel. Nilai Rf pada standard adalah 0,58, nilai Rf untuk Isolat Andrografolid pelarut teknis etanol 96% adalah 0,54 sedangkan nilai Rf untuk Isolat Andrografolid pelarut limbah etanol 96% adalah 0,58. Nilai Rf yang relatif sama antara standard dan sampel menunjukkan bahwa senyawa tersebut sejenis atau sama. Menurut Peter (2010) nilai Rf dapat dijadikan bukti dalam mengidentifikasi suatu senyawa. Senyawa-senyawa dengan nilai Rf yang sama atau hampir sama dapat menunjukkan

e-ISSN: 2963-2277

bahwa senyawa tersebut memiliki karakteristik yang sama, sejenis atau memiliki kemiripan. Dari warna noda dan nilai Rf antara standard dan sampel yang menunjukkan kemiripan atau kesamaan, sehingga dapat diketahui dan bisa dikatakan bahwa standard dan sampel merupakan senyawa yang sejenis atau sama. Standard yang digunakan sebagai senyawa pembanding dalam penelitian ini adalah andrografolid.

Uji Kuantitatif dengan High Performance Liquid Chromatography (HPLC) senyawa andrografolid

Profil kromatogram dan hasil uji kuantitatif menggunakan HPLC pada isolat andrografolid dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 5. Hasil Uji kuatitatif standard dan isolat andrografolid dengan HPLC

Kadar senyawa andrografolid yang diuji secara kuantitatif dengan HPLC dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Kadar senyawa andrografolid

Sampel	Luas area	Waktu retensi	Kadar (%)
Standar Andrografolid	224.134	4.257	99.48
Isolat Andrografolid pelarut teknis etanol 96%	219.882	4.233	98.91
Isolat Andrografolid pelarut limbah etanol 96%	222.161	4.233	99.04

Data tabel 2. dapat diketahui bahwa nilai RT (*Retention Time*) atau waktu retensi standard andrografolid adalah 4,257 sedangkan nilai RT untuk isolat andrografolid pelarut teknis etanol 96% sebesar 4,233 dan nilai RT untuk isolat andrografolid pelarut limbah etanol 96% adalah 4,233. Nilai RT yang relatif sama antara standard dan sampel, hal tersebut menunjukkan antara standard dan sampel adalah senyawa yang sejenis atau sama. Data pada tabel 2. juga menunjukkan bahwa luas area berhubungan dengan relatif area (yang dibaca

sebagai prosentase kadar). Semakin besar nilai luas area maka semakin tinggi kadar sampel yang diuji. Dari data tabel 2. diketahui bahwa kadar senyawa andrografolid untuk standard sebesar 99,48%, sedangkan kadar isolat andrografolid pelarut teknis etanol 96% sebesar 98,91% dan kadar isolat andrografolid pelarut limbah etanol 96% sebesar 99,04%. Data menunjukkan bahwa kadar senyawa andrografolid yang dihasilkan dari pelarut limbah etanol 96% memiliki angka yang cenderung lebih tinggi di banding dengan senyawa andrografolid yang dihasilkan dari pelarut teknis. Hal tersebut kemungkinan disebabkan karena pada proses sebelumnya pelarut limbah etanol 96% mengalami proses destilasi lebih baik dibandingkan dengan pelarut teknis etanol 96% sehingga relatif lebih tinggi kemurniannya, sehingga kemampuan dalam menembus dinding sel pada saat proses maserasi untuk melakukan proses difusi sel dan menarik senyawa aktif yang ada pada serbuk simplisia herba sambiloto lebih baik dan lebih maksimal. Pelarut etanol memiliki sifat untuk menembus bahan dinding sel sehingga mampu melakukan difusi sel dan menarik senyawa bioaktif lebih cepat (Prayitno dan Rahim, 2020). Menurut Popuri dan Pagala (2013) semakin tinggi konsentrasi pelarut semakin tinggi juga kemurnian etanol dalam pelarut, sehingga semakin banyak senyawa yang terekstrak kedalam etanol yang menyebabkan rendemen semakin besar. Hal tersebut menyebabkan senyawa bioaktif sambiloto dalam hal ini andrografolid dapat tersari lebih maksimal dan akan mempengaruhi hasil akhir proses isolasi senyawa andrografolid yang dilakukan, dalam hal ini kadar senyawa adrografolid yang dihasilkan.

KESIMPULAN

Kadar senyawa andrografolid hasil proses isolasi pada masing-masing perlakuan penggunaan pelarut etanol 96% menunjukkan hasil yang berbeda. Hasil penelitian menunjukkan pelarut limbah etanol 96% menghasilkan kadar senyawa andrografolid yang relatif lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut etanol teknis 96%. Hal tersebut kemungkinan disebabkan karena pelarut limbah etanol 96% telah mengalami proses destilasi yang lebih baik pada saat proses evaporasi, sehingga menghasilkan pelarut dengan kemurnian yang relatif lebih tinggi dibanding pelarut etanol teknis pabrikan. Hal tersebut kemungkinan akan berpengaruh pada tahapan proses ekstraksi dan isolasi, sehingga mempengaruhi kemurnian isolat andrografolid sebagai hasil akhirnya. Kadar isolat andrografolid pelarut teknis etanol 96% sebesar 98,91% sedangkan kadar isolat andrografolid pelarut limbah etanol 96% sebesar 99,04%.

e-ISSN: 2963-2277

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih diucapkan kepada DPPM UII yang telah memberikan dukungan dan mendanai penelitian ini dan kepada Laboratorium Pengembangan Obat Bahan Alam Jurusan Farmasi FMIPA UII atas sarana dan prasarana yang diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

Akbar, S. (2011). *Andrographis paniculata*: A review of pharmacological activities and clinical effect. *Alternative Medicine Review*, 16(1), 66-77.

Afanasyev, I., Orlova, E., & Feokistov, D. (2015). Evaporation of stationary alcohol layer in minichannel under air flow. *EPJ Web of Conferences*, 82, 01054. https://doi.org/10.1051/epjconf/20158201054

Chao, W. W., & Lin, B. F. (2010). Isolation and identification of bioactive compounds in *Andrographis paniculata* (Chuan xin Lian). *Chinese Medicine*, 5(1), 17.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2000). *Acuan sediaan herbal*. Jakarta: Direktorat Jenderal POM Depkes RI.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2008). *Farmakope herbal Indonesia* (Edisi I). Jakarta: Direktorat Jenderal POM Depkes RI.

Ibrahim, S., & Marham, S. (2013). *Teknik laboratorium kimia organik*. Yogyakarta: Graha Ilmu.

Nugroho, A., Warditiani, N., Pramono, S., Andrie, M., Siswanto, E., & Lukitaningsih, E. (2012). Antidiabetic and antihyperlipidemic effect of *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees and andrographolide in high-fructose-fat-fed rats. *Indian Journal of Pharmacology*, 44(3), 377-381.

Peter, L. (2010). Thin layer chromatography characterization of the active ingredients in Excedrin and Anacin. Hoboken: Stevens Institute of Technology.

Popuri, A. K., & Pagala, B. (2013). Extraction of curcumin from turmeric roots. *International Journal of Innovative Research & Studies*, 2(5), 293-297.

Prayitno, S. A., & Rahim, A. R. (2020). The comparison of extracts (ethanol and aqueous solvent) *Muntingia calabura* leaves on total phenol, flavonoid, and antioxidant (IC50) properties. *Kontribusia (Research Dissemination for Community Development)*, 3(2), 319. https://doi.org/10.30587/kontribusia.v3i2.1451

Rais, R. I. (2014). Ekstraksi andrograflid dari *Andrographis paniculata* Ness menggunakan ekstraktor Soxhlet. *Pharmaçiana*, 4(1), 85-92.

Sayuti, M. (2017). Pengaruh perbedaan metode ekstraksi, bagian, dan jenis pelarut terhadap rendemen dan aktivitas antioksidan bambu laut (*Isis hippuris*). *Tecnol Sci Eng J*, 1(1), 2549-1601.

Sharma, A., Krishan, L., & Handa, S. S. (1992). Standardization of the Indian crude drug Kalmegh by high-pressure liquid chromatographic determination of andrographolide. *Phytochemical Analysis*, 3(3), 129-131.

Srijanto, B., Bunga, O., Khojayanti, L., Rismana, E., & Sriningsih. (2012). Pemurnian ekstrak etanol sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) dengan teknik ekstraksi cair-cair. *Prosiding InSINas*, Jakarta.

Vijesekera, R. O. B. (1991). Plant-derived medicine and their role in global health. In *The medicinal plant industry* (pp. 1-8). Florida: CRC Press.

Voight, R. (1995). *Teknologi farmasi* (S. N. Soewandhi, Trans.). Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.

e-ISSN: 2963-2277