

## IDENTIFIKASI DAN PENETAPAN KADAR SENYAWA KUININ FRAKSI ETIL ASETAT KULIT BATANG KINA (*Cinchona succirubra* Pav. Ex Klotzsch) SECARA KLT-DENSITOMETRI

Gede Sugiarta Giri

Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana, Bali, Indonesia  
Corresponding author's email : gedesugiartagiri27@gmail.com

### ABSTRAK

Alkaloid kuinin terdapat pada tanaman kina yang menjadi bahan baku untuk pembuatan obat pil kina yang berkhasiat dalam pengobatan penyakit malaria. Pemilihan metode, pelarut, teknik identifikasi dan karakterisasi senyawa alkaloid kina di dalam tanaman kina (*Cinchona succirubra* Pav. Ex Klotzsch) perlu dilakukan dalam upaya menghasilkan senyawa dengan pemisahan terbaik. Ekstraksi dengan metode maserasi, identifikasi golongan dengan metode *screening* fitokimia. Fraksinasi dengan metode ekstraksi cair-cair dan kromatografi kolom lambat. Isolasi dengan metode kromatografi preparatif dan metode KLT-Densitometri. Ekstraksi maserasi didapat hasil filtrat dengan warna coklat kemerahan. Skrining fitokimia hasil positif golongan triterpenoid dan alkaloid. Ekstraksi cair-cair didapat hasil fraksi air, fraksi etil asetat I, dan fraksi etil asetat II. KLT dan identifikasi pereaksi kimia hasil positif mengandung kuinin pada fraksi etil asetat II. Kromatografi kolom didapat hasil berupa 4 fraksinasi dengan warna yang berbeda-beda. Kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP) dan isolasi senyawa dengan KLT-Densitometri didapat hasil kadar kuinin rata-rata fraksi etil asetat yaitu 15,30%. Fraksi etil asetat kulit batang kina (*Cinchona succirubra* Pav. Ex Klotzsch) menghasilkan kadar rata-rata kuinin sebesar 15,30% sesuai dengan tanaman kina yang dibudidayakan yang mengandung alkaloid kuinin sampai 15%.

**Kata Kunci:** Kuinin, fraksi, *Cinchona succirubra* Pav. Ex Klotzsch, KLT-Densitometri

### ABSTRACT

*Alkaloids quinine is found in the quinine plant which is the raw material for the manufacture of quinine pills that are effective in the treatment of malaria. Selection of the method, solvent, identification technique and characterization of the alkaloid quinine compound in the quinine plant (Cinchona succirubra Pav. Ex Klotzsch) need to be done in an effort to produce the compound with the best separation. Extraction by maceration method, identification of groups using phytochemical screening methods. Fractionation using liquid-liquid extraction method and column chromatography. Isolation using preparative chromatography method and TLC-Densitometry method. Maceration extraction obtained the filtrate with a reddish brown color. Phytochemical screening was positive for triterpenoids and alkaloids. Liquid-liquid extraction resulted in the water fraction, ethyl acetate fraction I, and ethyl acetate fraction II. TLC and identification of positive chemical reactions containing quinine in ethyl acetate fraction II. Column chromatography obtained results in the form of 4 fractionations with different colors. Preparative chromatography and compound isolation by TLC-Densitometry showed the average quinine content of ethyl acetate fraction was 15.30%. The ethyl acetate fraction of quinine stem bark (Cinchona succirubra Pav. Ex Klotzsch) produced average quinine alkaloids of 15.30% according to the cultivated kina plant which contains up to 15% quinine alkaloids.*

**Keywords:** Quinine, fraction, *Cinchona succirubra* Pav. Ex Klotzsch, TLC-Densitometry

## 1. PENDAHULUAN

Tanaman merupakan salah satu sumber bahan obat. Pemanfaatan tanaman sebagai bahan baku obat mulai sering digunakan terkait dengan berbagai macam metabolit sekunder yang dapat dihasilkan oleh tanaman. Metabolit sekunder berfungsi untuk mempertahankan kelangsungan hidup tanaman terhadap kondisi lingkungan dan juga merupakan zat bioaktif yang berkaitan dengan kandungan kimia dalam tumbuhan. Setiap tumbuhan memiliki metabolit sekunder yang bervariasi dan dalam jumlah yang berbeda antar tumbuhan. Senyawa metabolit sekunder yang terdapat di dalam tanaman antara lain: alkaloid, steroid, terpenoid, dan flavonoid.

Tanaman Kina (*Cinchona succirubra* Pav. Ex Klotzsch) memiliki aktivitas sebagai anti malaria, anti piretik serta stomakik (obat sakit perut). Kandungan kimia kina berupa alkaloid dengan kadar tidak kurang dari 7% yang dihitung sebagai kuinin. Bagian tanaman yang banyak digunakan adalah kulit batangnya<sup>[1]</sup>. Alkaloid yang terdapat pada tanaman kina, salah satunya adalah alkaloid kuinin yang menjadi bahan baku untuk pembuatan obat pil kina yang berkhasiat dalam pengobatan penyakit malaria baik malaria tropikana maupun penyakit malaria kuartana<sup>[2]</sup>.

Kuinin dapat digunakan sebagai obat malaria dikarenakan memiliki efektivitas

yang baik terhadap semua jenis plasmodium dan efektif sebagai sizontosida maupun gametosida<sup>[3]</sup>. Selain kandungan kuinin, dalam kulit batang kina juga terdapat berbagai senyawa kimia lainnya, yakni kinidin, sinkonin, dan sinkonidin<sup>[4]</sup>.

Pemanfaatan alkaloid kina, seperti dalam dunia industri diawali dengan proses isolasi senyawa alkaloid kina dilakukan dari kulit tanaman kina untuk mendapatkan alkaloid yang diinginkan. Kandungan tanaman kina yang bervariasi menyebabkan diperlukannya metode untuk mengekstraksi kuinin dengan menggunakan beberapa pelarut-pelarut senyawa kimia yang cocok dan diperlukan pula teknik identifikasi dan karakterisasi senyawa alkaloid kina di dalam tanaman kina (*Cinchona succirubra* Pav. Ex Klotzsch). Metode isolasi, identifikasi dan karakterisasi yang tepat menjadi acuan dalam isolasi kuinin lebih lanjut, seperti dalam proses produksi dengan skala yang lebih besar<sup>[5]</sup>. Dengan demikian, dapat diperoleh senyawa murni dengan efek farmakologi yang diinginkan. Berbagai macam cara dapat dilakukan untuk mengisolasi senyawa. Pemisahan bertahap dengan berbagai metode perlu dilakukan dalam upaya menghasilkan senyawa dengan pemisahan terbaik.

## 2. METODE PENELITIAN

### 2.1 Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fitokimia dan Farmakognosi, Gedung AI, Program

Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana. Waktu pelaksanaan dilakukan pada bulan September hingga Desember 2019.

## 2.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu timbangan analitik (*Mettler Toledo*), alat-alat gelas (*Pyrex Iwaki Glass*), chamber KLT (*Macherey Nagel*), kolom, statif, plat KLT silica gel GF254, TLC-Scanner/ Densitometer (*CAMAG*).

Bahan yang digunakan yaitu serbuk simplisia kulit batang kina (*Cinchona succirubra* Pav. Ex Klotzsch), n-heksana, metanol, etil asetat, kloroform, standar kuinin, gelas wol, aquadest, dan serbuk silika.

## 2.3 Defatting dan Ekstraksi

Sampel berupa serbuk kulit batang kina sebanyak 25 gram di *defatting* menggunakan 100 mL n-heksana diaduk selama 10 menit, disaring dan diperoleh filtrat. Ampas hasil *defatting* dimaserasi menggunakan 62 mL metanol selama 24 jam, disaring, dan diperoleh filtrat, ampas kemudian diremaserasi kembali dengan 62 mL metanol selama 24 jam, disaring dan diperoleh filtrat. Filtrat yang didapat kemudian diupakan pelarutnya dengan oven selama 3 hari dengan suhu 40°C.

## 2.4 Skrining Fitokimia

Ekstrak metanol kulit batang kina ditimbang 10 gram dan dilarutkan dengan 10 mL metanol sebagai larutan uji. Uji flavonoid digunakan asam borat,

asam oksalat dan eter, hasil positif larutan berfluoresensi biru di sinar UV 366 nm. Uji triterpenoid digunakan asam asetat anhidrat dan asam sulfat, hasil positif terbentuk cincin kecokelatan atau violet pada batas larutan. Uji saponin digunakan air hangat dan asam klorida, hasil positif busa tidak hilang. Uji alkaloid digunakan asam klorida dan pereaksi Mayer dan Dragendroff, hasil positif Mayer endapan berwarna jingga sedangkan Dragendroff endapan kuning.

## 2.5 Ekstraksi Cair-Cair

Sebanyak 620 mg ekstrak metanol kulit batang kina ditambahkan 10 mL asam sulfat 10% b/v, dipartisi dengan 20 mL etil asetat, ditambahkan 10 mL amonia cair dan ditampung kedua fase hingga diperoleh fraksi air dan fraksi etil asetat. Fraksi diupakan dalam oven suhu 40°C.

## 2.6 Identifikasi Alkaloid Kuinin

Dielusi plat yang sudah ditotolkan semua fraksi sebanyak 6 µL dan standar kuinin 4 µL dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm dengan fase gerak kloroform:metanol (9:1) dan fase diam silica gel GF 254. Ditandai bercak positif mengandung kuinin pada kertas kalkir selanjutnya plat disemprot dengan asam sulfat 10%, dideteksi di UV 366 nm dan ditanda bercak yang mendandung kuinin pada kertas kalkir serta dihitung Rf dan hRf.

## 2.7 Kromatografi Kolom Lambat

Fraksi etil asetat yang positif mengandung kuinin dielusi dengan campuran kloroform:metanol (9:1) dengan 4 replikasi hingga didapat fraksi yang terpisah.

## 2.8 KLT Hasil Fraksinasi

Fraksi hasil fraksinasi kolom lambat dan standar kuinin ditotolkan pada plat dan dielusi dengan fase gerak kloroform:metanol (9:1) dan fase diam silika gel GF 254 dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm dan disemprot plat dengan asam sulfat 10% serta ditandai spot yang diduga kuinin dan dihitung Rf dan hRf.

## 2.9 Kromatografi Lapis Tipis Preparatif

Larutan uji fraksinasi dan standar kuinin ditotolkan bentuk pita. Dielusi dengan fase gerak kloroform:metanol (9:1) dan fase diam silika gel GF 254. Diamati di UV 254 nm dan 366 nm, dipotong plat 2 cm dari batas yang mengandung kuinin dan disemprot dengan asam sulfat 10%, diamati kembali di UV 254 nm dan 366 nm dan ditandai bercak yang mengandung kuinin dan dikerok silika plat KLT kemudian diekstraksi dengan 1 mL metanol dan didiamkan selama 1 malam, disaring.

## 2.10 KLT Hasil Fraksinasi

Fraksi etil asetat dan standar kuinin ditotolkan sebanyak 6 µL, dielusi dengan fase gerak kloroform:metanol (9:1) dan fase diam silika gel GF 254, disemprot plat dengan asam sulfat 10%,

dideteksi di UV 254 nm dan 366 nm. Ditandai spot yang mengandung kuinin dan dihitung Rf dan hRf.

## 2.11 Identifikasi KLT-Densitometri

Fraksi etil asetat yang positif mengandung kuinin dan standar ditotolkan sebanyak 6 µL, fase gerak kloroform:metanol (9:1) dan fase diam silika gel GF 254. Diamati pada TLC scanner dan dianalisis pada densitometer pada panjang gelombang 250 nm, dibuat kurva kalibrasi dan persamaan regresi linier dan dihitung kadar kuinin dalam sampel.

## 3. HASIL

### 3.1 Defatting dan Ekstraksi

Tabel 1. Hasil *Defatting* dan Ekstraksi

Pengamatan	Warna Filtrat
Serbuk kina + n-heksana	Coklat
Ampas + 62,5 mL Metanol	Coklat kemerahan
Ampas + 62,5 mL Metanol	Coklat kemerahan

### 3.2 Skrining Fitokimia

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia

Golongan Senyawa	Hasil
Flavonoid	-

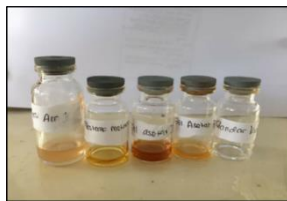
Triterponoid	+
Saponin	-
Alkaloid	+

### 3.3 Ekstraksi Cair-Cair

**Tabel 3.** Hasil Ekstraksi Cair-Cair

N	Hasil Fraksi	Warna
1	Fraksi Air	Coklat
2	Fraksi Etil Asetat I	Kuning kecokelatan
3	Fraksi Etil Asetat II	Kuning

### 3.4 Identifikasi Alkaloid Kuinin



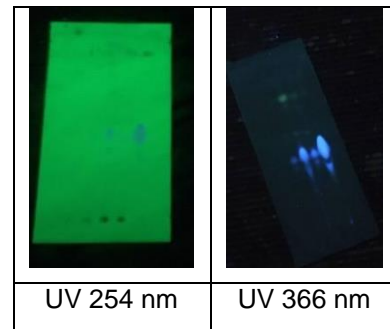
Gambar 1. Fraksi yang Ditotolkan Hasil positif mengandung alkaloid pada fraksi etil asetat II.

### 3.5 Kromatografi Kolom Lambat

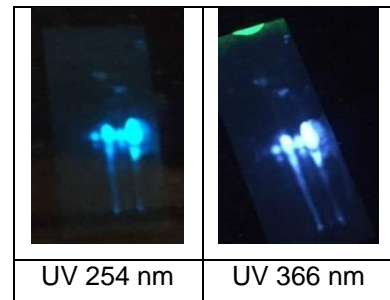
**Tabel 4.** Hasil Kromatografi Kolom Lambat

Fraksi Etil Asetat	Warna
Replikasi I	Jingga tua
Replikasi II	Jingga
Replikasi III	Kuning
Replikasi IV	Bening

### 3.6 KLT Hasil Fraksinasi

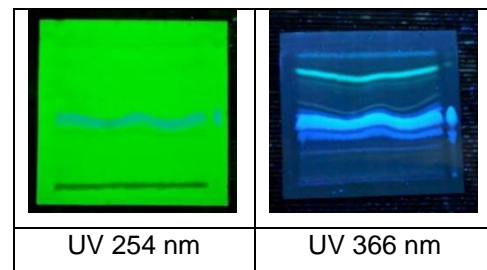


Gambar 2. Identifikasi KLT Sebelum Disemprot Asam Sulfat 10%

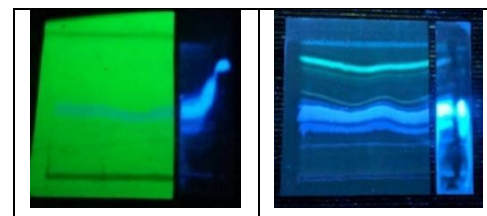


Gambar 3. Identifikasi KLT Setelah Disemprot Asam Sulfat 10%

### 3.7 KLT Preparatif

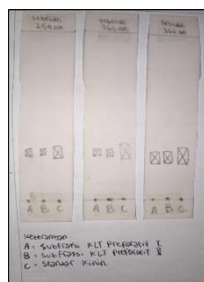


Gambar 4. Identifikasi KLT Sebelum Disemprot Asam Sulfat 10%



Gambar 5. Identifikasi KLT Setelah Disemprot Asam Sulfat 10%

### 3.8 KLT Hasil Fraksinasi



Gambar 6. A:Fraksi Replikasi I, B:Fraksi Replikasi II, dan C:Standar Kuinin

Tabel 5. Sebelum Disemprot H<sub>2</sub>SO 10%

Sampe	UV 254 nm		UV 366 nm	
	Rf	hRf	Rf	hRf
I				
A	0,3	30	0,3	30
B	0,302 5	30, 25	0,3	30
C	0,3	30	0,3125	31,25

Tabel 6. Setelah Disemprot H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10%

Sampe	UV 254 nm		UV 366 nm	
	Rf	hRf	Rf	hRf
I				
A	-	-	0,3	30
B	-	-	0,3123	31,25
C	-	-	0,2875	28,75

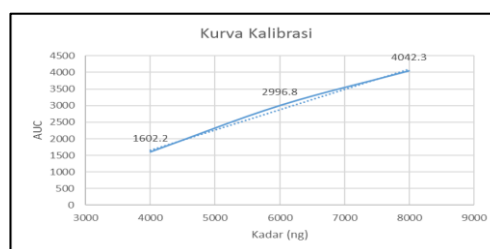
#### Interpretasi:

Fraksi Replikasi I dan Replikasi II mengandung kuinin karena menunjukkan hasil positif dimana HRf yang dihasilkan dari sebelum dilakukan dan setelah dilakukan penyemprotan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10% b/v yaitu 28,75 sampai 31,25. HRf telah berada pada rentang HRf kuinin 25 sampai 35.

### 3.9 Identifikasi KLT-Densitometri

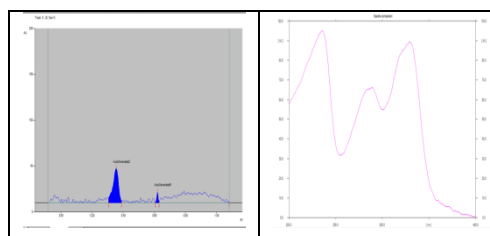
Tabel 7. Kadar AUC Larutan Seri Standar

Seri Kuinin	Konsentrasi (ng)	AUC
I	2000	855,1
II	4000	1602,2
III	6000	2996,8
IV	8000	4042,3
V	10000	6059,8

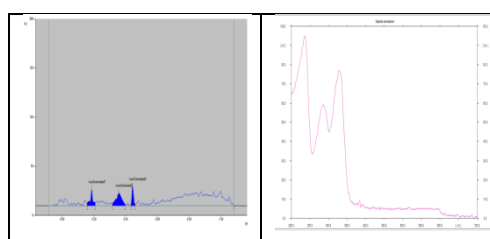


Gambar 7. Kurva Kalibrasi Larutan Seri Standar

Persamaan regresi linier  $y = 0,610026x - 779,7167$



Gambar 8. Spektrum Standar Kuinin



Gambar 9. Spektrum Hasil KLTP I

**Tabel 8.** Penetapan Kadar Fraksi Hasil KLTP I

Sampel	Rf	AUC	Kadar sampel (%)	Konsentrasi (mg/mL)
1	0,3	328,6	15,135	0,3027
2	0,3	314,0	14,94	0,2988
3	0,3	379,9	15,83	0,3167
<b>Rata-rata</b>			15,30	0,3060

## 4. PEMBAHASAN

### 4.1 Defatting dan Ekstraksi

Proses pemisahan, isolasi dan identifikasi alkaloid dari serbuk simplisia kulit batang kina (*Cinchona succinubra* Pav. Ex Klotzsch) diawali dengan proses *defatting* dan ekstraksi dengan metode maserasi. Pelarut n-heksana digunakan untuk proses *defatting* yaitu suatu proses yang bertujuan untuk menghilangkan lemak, klorofil dan lipid yang terkandung dalam matriks tumbuhan<sup>[6]</sup>.

Pemilihan metode maserasi karena mudah dikerjakan, alat yang digunakan sederhana, analit dapat diperoleh karena penyari mampu menembus dinding sel kemudian menuju rongga sel yang mengandung analit, setelah itu melarutkannya dan membawa analit tersebut keluar dari sel sampel uji<sup>[7]</sup>.

Pelarut metanol digunakan karena metanol merupakan pelarut yang bersifat semipolar, dimana terdiri dari gugus OH yang bersifat polar dan CH<sub>3</sub> yang bersifat nonpolar. Disamping itu metanol dapat melarutkan senyawa

alkaloid dalam bentuk basa bebas maupun garamnya<sup>[8]</sup>.

### 4.2 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia bertujuan untuk pemeriksaan kimia secara kualitatif terhadap golongan senyawa - senyawa aktif biologis yang terdapat dalam simplisia. Metanol dapat menarik alkaloid, saponin, dan flavonoid dari tanaman<sup>[9]</sup>. Dalam skrining fitokimia pemilihan pelarut merupakan hal yang penting karena pelarut berperan dalam melarutkan senyawa yang kita inginkan dan apabila pemilihan pelarut sudah tepat maka skrining fitokimia akan menunjukkan hasil yang tepat. Pada uji alkaloid dengan pereaksi Dragendorff, nitrogen digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan K<sup>+</sup> yang merupakan ion logam<sup>[10]</sup>.

### 4.3 Ekstraksi Cair-Cair

Ekstraksi cair-cair merupakan metode pemisahan yang dapat memisahkan alkaloid dari senyawa lain dan pengotor dengan menggunakan dua jenis pelarut yang tidak saling campur, dimana senyawa-senyawa dalam ekstrak akan terpisah dengan prinsip *like-dissolve-like*<sup>[11]</sup>.

Fase air yang terbentuk berwarna coklat, berada di bagian atas dan fase etil asetat I berwarna kuning kecokelatan pada bagian bawah. Hal ini dikarekan air memiliki bobot jenis yang lebih besar yaitu 0,9971 g/mL daripada bobot jenis etil asetat yaitu 0,894 - 0,898 g/mL<sup>[12]</sup>. Tiga fraksi yang

dihasilkan yaitu fraksi air, fraksi etil asetat I, dan fraksi etil asetat II.

#### 4.4 Identifikasi Alkaloid Kuinin

Metode kromatografi lapis tipis dan pereaksi semprot dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui adanya alkalkoid kuinin pada setiap fraksi yang diperoleh dari ekstraksi cair-cair. Tujuan dari penyemprotan larutan pereaksi  $H_2SO_4$  10 % untuk mengubah senyawa kuinin menjadi kuinin sulfat yang mempunyai sifat fluoresensi lebih kuat sehingga saat di amati dibawah sinar UV 366 nm warna spot yang dihasilkan akan menjadi lebih intensif atau lebih terang<sup>[13]</sup>.

Fraksi metanol, fraksi air, dan fraksi etil asetat I tidak menunjukkan adanya bercak sedangkan fraksi etil asetat II menunjukkan hasil positif. Dari hasil pada UV 254 nm ditunjukkan bahwa fraksi etil asetat II memiliki  $R_f$  0,2 menunjukkan hasil yang kurang sesuai dengan standar kuinin yang memiliki  $R_f$  0,075. Jika dibandingkan dengan pustaka, nilai  $R_f$  standar kuinin yang diperoleh dalam hasil KLT ini berbeda, dimana menurut pustaka, dengan menggunakan fase gerak kloroform: metanol (9:1 v/v) akan menghasilkan nilai  $R_f$  kuinin 0,77 dan  $hR_f$  77<sup>[14]</sup>.

Perbedaan hasil ini dikarenakan proses analisis KLT dilakukan pada waktu, suasana, dan dengan menggunakan alat yang berbeda sehingga hasilnya pun kemungkinan tidak akan akurat atau sama persis dengan pustaka.

#### 4.5 Kromatografi Kolom Lambat

Sistem kormatografi yang digunakan pada praktikum ini adalah sistem normal, dimana silika merupakan fase diam yang bersifat polar dan campuran kloroform dan metanol bersifat non-polar. Pemilihan sistem ini dilakukan karena kuinin bersifat cenderung non-polar sehingga harus dibawa keluar dari sistem kromatografi dengan fase gerak non-polar<sup>[15]</sup>.

Komposisi fase gerak yang digunakan adalah 9:1 v/v, 8:2 v/v, 7:3 v/v, 6:4 v/v dan 5:5 v/v, tiap komposisi fase gerak memiliki tingkat kepolaran yang lebih polar dibandingkan dengan komposisi sebelumnya. Penggunaan fase gerak bergradien ini bertujuan untuk memisahkan solut-solut pada fraksi etil asetat sesuai dengan tingkat kepolaran tersebut, dimana solut yang bersifat non polar akan keluar lebih dulu. Fraksi-fraksi kromatografi kolom yang diperoleh adalah fraksi I, fraksi II, fraksi III dan fraksi IV.

#### 4.6 KLT Hasil Fraksinasi

Tujuan dilakukannya metode KLT yaitu untuk mengidentifikasi ada tidaknya alkaloid kuinin dalam hasil fraksinasi kromatografi kolom lambat. Pada pengamatan di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm setelah disemprot dengan  $H_2SO_4$  10%, spot menjadi berwarna biru yang lebih intensif. Hal ini sesuai dengan pustaka yang ada dimana disebutkan bahwa alkaloid kuinin apabila bereaksi dengan  $H_2SO_4$  akan memberikan fluoresensi biru



intensif Berdasarkan proses identifikasi tersebut maka bercak-bercak yang dihasilkan kemudian dihitung nilai Rf-nya, diperoleh pada ketiga fraksi teridentifikasi adanya kuinin yang ditunjukkan dengan adanya fluoresensi biru intensif pada UV 366 nm<sup>[16]</sup>.

#### 4.7 KLT Preparatif

Prinsip pemisahan dalam KLT Preparatif didasarkan atas perbedaan daya serap dan daya partisi serta kelarutan dari komponen-komponen kimia yang akan bergerak mengikuti kepolaran eluen atau fase gerak oleh karena daya serap adsorben terhadap komponen kimia tidak sama, maka komponen kimia akan bergerak dengan kecepatan yang berbeda sehingga hal inilah yang menyebabkan terjadinya pemisahan<sup>[17]</sup>.

Penotolan dalam bentuk pita dilakukan dengan jarak sesempit mungkin karena pemisahan dalam KLT Preparatif tergantung pada lebar pita, dimana semakin sempit pita yang ditotolkan maka pemisahan akan semakin baik. Pengerokan seluruh pita dilakukan untuk mencegah terjadinya kesalahan ketika dilakukan identifikasi pita yang mengandung alkaloid kuinin dibawah sinar UV. Hal yang harus diperhatikan dalam KLT Preparatif yaitu pelarutan hasil pita yang dikerok harus segera dilakukan karena semakin lama analit terikat pada fase diam atau adsorben maka semakin besar kemungkinan dari analit untuk terurai<sup>[18]</sup>.

#### 4.8 KLT Hasil Fraksinasi

Identifikasi alkaloid kuinin hasil pemisahan KLT preparatif dengan metode KLT dan pereaksi semprot dilakukan untuk memastikan bahwa fraksi hasil pemisahan KLT preparatif mengandung senyawa yang diinginkan yaitu alkaloid kuinin. Alkaloid kuinin apabila dideteksi di bawah sinar UV 254 nm akan menghasilkan pepadaman bercak sehingga spot akan terlihat gelap sedangkan pada sinar UV 366 nm akan memberikan fluoresensi berwarna biru. Kuinin mampu berfluoresensi karena memiliki struktur yang kaku dan kromofornya yang diperpanjang. Sistem rangkap terkonjugasi memiliki struktur yang planar dan kaku sehingga akan mampu menyerap secara kuat di daerah 200-800 nm pada radiasi elektromagnetik<sup>[19]</sup>.

Identifikasi bercak yang dihasilkan dilanjutkan dengan menggunakan pereaksi semprot H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10%. Penggunaan pereaksi semprot H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10% karena mempunyai sifat sebagai reduktor dalam merusak gugus kromofor dari zat aktif simplisia sehingga panjang gelombangnya akan bergeser ke arah yang lebih panjang sehingga noda menjadi tampak oleh mata, sehingga bercak akan tampak lebih jelas setelah direaksikan dengan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10%<sup>[20]</sup>.

#### 4.9 Identifikasi KLT-Densitometri

Standar kuinin memiliki konsentrasi sebesar 1 mg/mL atau setara dengan 1000 ng/μL dan kadar seri 1, 2, 3, 4, 5

berturut-turut yaitu 2000 ng, 4000 ng, 6000 ng, 8000 ng, 10000 ng. Penetapan kadar sampel dengan metode KLT-spektrofotodensitometri menggunakan alat densitometer pada panjang gelombang maksimum kuinin yaitu 250 nm<sup>[21]</sup>.

Berdasarkan data AUC dari standar maka diperoleh kurva kalibrasi dengan persamaan  $y = 0,6 (10025) - 799,716$  dengan nilai  $r = 0,99660$ . Dilihat dari nilai  $r$  yang mendekati 1, maka persamaan regresi I memenuhi persyaratan linieritas. Penetapan kadar sampel pada hasil fraksi replikasi I dengan konsentrasi kuinin dalam sampel I 0,3023 mg/mL; sampel II 0,2988 mg/mL; sampel III 0,3167 mg/mL dan kadar yang diperoleh pada sampel I 15,135 %; sampel II 14,94 %; sampel III 15,83 %. Dengan rata-rata kadar kuinin yaitu 15,30%.

Sampel fraksi replikasi II tidak terdeteksi pada instrumen dikarenakan proses penotolan yang semakin ke kanan menyebabkan jarak semakin berkurang sehingga jarak total terakhir ke tepi plat kurang dari 1 cm sedangkan pada instrumen diatur batas kanan dan kiri 1 cm maka sampel isolat II tidak dapat terbaca oleh instrumen<sup>[22]</sup>.

Berdasarkan pustaka, kandungan kuinin dalam kulit batang kina liar adalah 7% sedangkan untuk tanaman kina yang dibudidayakan dapat mengandung kadar alkaloid kuinin sampai 15%. Sehingga dapat disimpulkan bahwa penetapan kadar

kuinin fraksi etil asetat replikasi I menghasilkan rata-rata kadar kuinin yaitu 15,30% yang sudah sesuai dengan pustaka yaitu kadar alkaloid kuinin 15%<sup>[23]</sup>.

## 5. KESIMPULAN

Fraksi etil asetat kulit batang kina (*Cinchona succirubra* Pav. Ex Klotzsch) replikasi I menghasilkan kadar rata-rata kuinin sebesar 15,30% yang mana sesuai dengan hasil penelitian Misra *et al.*, (2008) menyebutkan tanaman kina yang dibudidayakan dapat mengandung kadar alkaloid kina sampai 15%.

## 6. SARAN

Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut dengan menggunakan instrument spektrofotometer massa, Inframerah, HPLC, dan NMR untuk mengidentifikasi isolat yang didapat merupakan senyawa murni kuinin *Cinchona succirubra* Pav. Ex Klotzsch golongan alkaloid.

## 7. UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis ucapkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, keluarga, pihak yang telah memberikan dukungan secara moral maupun material sehingga artikel ini dapat tersusun dengan baik. Terima kasih penulis ucapkan kepada dosen Program Studi Farmasi, FMIPA, Universitas Udayana serta teman-teman yang tidak bisa disebutkan satu persatu.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] Depkes RI. *Materia Medika Indonesia*, Jilid IV. Jakarta:

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1980.
- [2] Jhon, N. "Analisis dan Karakterisasi Senyawa Alkaloid dari Tanaman Kina (*Chinchona ledgeriana*)". *Jurnal Penelitian Universitas Jambi Seri Sains*. 14:2 (2012.): 59-64.
- [3] Harijanto, P. N. *Perubahan Radikal dalam Pengobatan Malaria di Indonesia, Cermin Dunia Kedokteran*. Jakarta: PT Kalbe Farma, 2006.
- [4] Amalia, E., T. Parwati dan P. Simanjuntak. *Produksi Asam Lemak Oleat Oleh Mmroba Endofit Sporodiobolus Salmonicolor dan Tumbuhan Kina (Cinchona pubescens Vahl.)*. Bogor: Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI, 2004.
- [5] Wibisana, A. *Difusi Teknologi Ekstraksi Kinin dan Sinkonin dari Produk Samping Industri Kina dan Sintesis Turunannya*. Tangerang: Balai Pengkajian Bioteknologi, 2010.
- [6] Depkes RI. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 1986.
- [7] Kusmardiyani, S. dan A. Nawawi. *Kimia Bahan Alam*. Jakarta: Pusat Antar Universitas Bidang Ilmu Hayati, 1992.
- [8] Depkes RI. *Farmakope Indonesia*, Edisi III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1979.
- [9] Thompson, E.B. *Drug Bioscreening*. America. Inc: Graceway Publishing Company, 1985.
- [10] Marlina, S. D., V. Suryanti, dan Suyono. "Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule Jacq. Swartz.*) dalam Ekstrak Etanol". *Biofarmasi*. 3:1 (2005): 26-31.
- [11] Gandjar, I. G. dan A. Rohman. *Analisis Kimia Farmasi*. Yogyakarta: Pustaka Penerbit, 2007.
- [12] Moffat, C. A., M. D. Osselton, and B. Widdop. *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons, In Pharmaceuticals, Body Fluids, and Postmortem Material*, 3 Edition. London: Pharmaceutical Press, 2005.
- [13] Gandjar, I. G. dan A. Rohman. *Analisis Obat secara Spektrofotometri dan* 2012.
- [14] Wall, P. *Thin-Layer Chromatography. United: A Modern Practical Approach*, 2005.
- [15] Setyaningrum, M. dan E. Chayono. "Pemisahan Sitronelal menggunakan Kromatografi Kolom dengan Fasa Diam Siklodekstrin Terasetilasi". *Indonesian Journal of Chemical Science*. 5:2 (2016).
- [16] Eagleson, M. *Concise Encyclopedia Chemistry*. New York: Walter de Gruyter, 1993.
- [17] Misra, H., B. K. Metha, dan D. C. Jain. "Optimization of Extraction Conditions and HPTLC-UV

- Method for Determination of Quinine in Different Extracts of Cinchona species Bark". *Rec. Nat. Prod.* 2:4 (2008): 107-115.
- [18] Dewi, N. L. A., L. P. S. Adnyani, R. B. R. Pratama, N. N. D. Yanti, J. I. Manibuy, N. K. Warditiani. "Pemisahan, Isolasi, dan Identifikasi Senyawa Saponin dari Herba Pegagan (*Centella asiatica* L. Urban)". *Jurnal Farmasi Udayana.* 7:2 (2018): 68-76
- [19] Stahl, E. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi.* Bandung.: Penerbit ITB, 1985.
- [20] Ambarwati, N., R. Rakhmawati, D. S. C. Wahyuni. "Uji Toksisitas Fraksi Daun Ambre (*Geranium radula*) terhadap Artemia Salina dan Profil Kandungan Kimia Fraksi Teraktif". *Biofarmasi.* 13:1 (2015.): 15-24.
- [21] Moffat, A. C., M. D. Osselton dan B. Widdop. "*Clarke's Analysis of Drugs and Poisons in Pharmaceutical, Body Fluids, and Postmortem Material*". Fourth Edition. London: Pharmaceutical Press, 2011.
- [22] Achan, J., A. O. Talisuna, A. Erhart, A. Yeka, J. K. Tibenderana, F. N. Baliraine, P. J. Rosenthal, dan U. D'Alessandro. "Quinine, An Old Anti-Malarial Drug in A Modern World: Role in The Treatment of Malaria", *Malaria Journal.* 10:1 (2011): 144
- [23] Bhusal, R. D., D. M. Nahor, P. B. Dalri. "Review on: Flash Column Chromatography". *Pharmaceutical Research.* 7:1 (2017): 7353-7358