

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Di Indonesia penggunaan obat tradisional masih dipercaya oleh beberapa kalangan untuk mengobati berbagai macam penyakit (Adiyasa & Meiyanti, 2021). Obat tradisional merupakan ramuan yang terdiri dari bahan tumbuhan, hewani, mineral, ekstrak herbal (jamu) atau kombinasi dari berbagai bahan tersebut yang telah digunakan secara turun-temurun sebagai pengobatan berdasarkan norma yang berlaku di masyarakat (Indrayani & Shakila, 2025). Penggunaan obat tradisional di Indonesia tergolong tinggi dan berdasarkan hasil survei persentase penduduk yang menggunakan obat tradisional meningkat dari 45,17% pada tahun 2010 menjadi 49,53% pada tahun 2011 (BPS, 2015). Berbagai daerah di Indonesia, termasuk Sulawesi Selatan masih memanfaatkan pengobatan tradisional, salah satu tumbuhan yang dimanfaatkan oleh masyarakat setempat ialah paliasa (*Kleinhovia hospita*) (Wahyuni et al., 2017).

Tumbuhan *K. hospita* (Suku Malvaceae) telah lama dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Secara tradisional daun *K. hospita* dimanfaatkan oleh masyarakat terutama yang berada dipedesaan Sulawesi Selatan untuk mengobati penyakit kuning (liver), hipertensi, diabetes, dan kolesterol dengan cara meminum air rebusannya (Ma'ruf Dedy et al., 2023). Berbagai penelitian juga menunjukkan bahwa *K. hospita* memiliki aktivitas farmakologis berupa antikanker, antioksidan, hepatoprotektif, antibakteri, dan antiinflamasi (Paramita, 2016; Saputra, 2021).

Tumbuhan *K. hospita* dilaporkan mengandung berbagai macam senyawa aktif antara lain yaitu alkaloid, flavonoid, kaempferol, saponin, scopoletin, steroid, sianogenik, tanin dan kuersetin (Hanum & Maesen, 1997 ; Ramayana, 2022). Penelitian yang dilakukan oleh Rahim *et al.* (2018) berhasil mengidentifikasi adanya senyawa triterpenoid sikloartan sebagai komponen baru yang ditemukan pada daun *K. hospita*. Senyawa ini mempunyai berbagai aktivitas farmakologis antara lain antiplasmodium, antiproliferasi, hepatoprotektif dan sitotoksik (Budiarti & Jokopriyambodo, 2020; Rahim, 2018).

Selama ini analisis komponen kimia daun *K. hospita* banyak dilakukan dengan menggunakan kromatografi konvensional, seperti kromatografi lapis tipis (KLT). Teknik konvensional ini membutuhkan waktu analisis yang lama dan hasil pemisahan yang kurang bagus sehingga dibutuhkan metode analisis yang lebih cepat dan hasil yang lebih akurat. Salah satu metode yang dapat digunakan adalah metode *High Performance Thin Layer Chromatography* (HPTLC). Metode HPTLC memiliki kemampuan menghasilkan pemisahan yang lebih efisien dengan waktu analisis yang singkat serta penggunaan pelarut yang lebih hemat (Badri et al., 2023). Dengan menggabungkan metode HPTLC dan densitometri, hasil pemisahan pada pelat dapat diukur berdasarkan intensitas bercak yang terbentuk, sehingga memungkinkan penentuan kadar senyawa akurat serta mendukung analisis kualitatif metabolit sekunder pada *K. hospita* (Jumain, 2025).

Berdasarkan uraian di atas, perlu dilakukan penelitian untuk melihat profil dan analisis metabolit sekunder dari ekstrak daun *K. hospita* dengan menggunakan metode HPTLC. Hasil penelitian ini tentunya akan melengkapi penelitian-penelitian ilmiah *K. hospita* yang selama ini telah dilaporkan

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana profil metabolit sekunder dari ekstrak daun *K. hospita* dengan menggunakan metode HPTLC?
2. Bagaimana hasil analisis senyawa triterpenoid sikloartan yang terdapat dalam ekstrak daun *K. hospita* menggunakan HPTLC?

1.3 Tujuan

1. Untuk mengetahui profil metabolit sekunder ekstrak daun *K. hospita* dengan metode HPTLC
2. Untuk mengetahui hasil analisis triterpenoid sikloartan dari ekstrak daun *K. hospita* dengan metode HPTLC

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas , alat ekstraksi maserasi, blender (Phillips®), chamber, corong pisah, instrumen HPTLC-Densitometer (Camag®), Linomat-5 (Camag®), *microtube*, oven (Memmert®), *rotary evaporator* (Heidolph®), timbangan analitik, dan *waterbath* (Memmert®).

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah air, daun paliasa (*Kleinhovia hospita* Linn.), etanol 70%, etil asetat, lempeng HPTLC silika gel 60 GF₂₅₄, metanol, n-heksan, pembanding triterpenoid sikloartan.

2.2 Metode Kerja

2.2.1 Pengambilan dan penyiapan sampel

Dalam penelitian ini digunakan sampel daun *K. hospita* yang diperoleh dari Universitas Hasanuddin, Kota Makassar, Provinsi Sulawesi Selatan dan di determinasi di Laboratorium Farmakognosi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Sampel yang telah diperoleh dilakukan sortasi basah, kemudian dicuci menggunakan air mengalir untuk menghilangkan pengotor yang masih menempel pada tanaman. Tahap selanjutnya dilakukan perajangan dengan menggunakan gunting, lalu dikeringkan pada oven suhu 40°C selama 24 jam. Setelah dikeringkan, dilakukan sortasi kering dan diserbukkan menggunakan blender. Selanjutnya serbuk simplisia disimpan ke dalam wadah tertutup (Budiarti, 2020).

2.2.2 Pembuatan ekstrak

Serbuk simplisia daun *K. hospita* ditimbang sebanyak 100 gram dan dimasukkan ke dalam wadah maserasi. Kemudian, serbuk simplisia direndam dengan 1000 mL pelarut etanol 70%. Setelah itu, campuran diaduk hingga merata. Wadah tersebut ditutupi oleh aluminium foil dan ditutup rapat, proses maserasi dilakukan selama 3×24 jam dengan sesekali dilakukan pengadukan. Kemudian, maserat disaring hingga didapatkan ekstrak cair. Ekstrak cair yang diperoleh diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental dipindahkan ke cawan porselen dan diuapkan di atas *waterbath* hingga mendapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental yang didapatkan dimasukkan ke dalam eksikator. Kemudian, ekstrak kental ditimbang dan dihitung %rendemennya.

$$\text{Persen rendemen (\%)} = \frac{\text{bobot ekstrak (gram)}}{\text{bobot sampel (gram)}} \times 100\%$$

2.2.3 Ekstraksi cair-cair

Sebanyak 3 gram ekstrak kental hasil maserasi dilarutkan dengan metanol:air (9:1) sebanyak 10 mL, setelah itu dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan n-heksan 10 mL lalu dikocok dan diambil bagian atas (n-heksan). Ekstraksi cair-cair

dilakukan berulang hingga 4x dan fraksi n-heksan digabung menggunakan cawan porselen dan di uapkan di atas *waterbath*.

2.2.4 Uji kualitatif metabolit sekunder

2.2.4.1 Pembuatan larutan uji

Ekstrak kental ditimbang sebanyak 60 mg lalu dilarutkan menggunakan alkohol 70% sebanyak 3 mL, sehingga diperoleh larutan uji 20.000 ppm.

2.2.4.2 Analisis kualitatif HPTLC Densitometri

Larutan uji dengan konsentrasi 20.000 ppm diaplikasikan menggunakan *autosampler* (CAMAG®) Linomat 5 sebanyak 5 totolan dengan volume totolan 6 µL pada lempeng KLT. Selanjutnya proses elusi dilakukan menggunakan fase gerak n-heksan : etil asetat (1:1). Setelah proses elusi, lempeng akan dilihat di bawah UV 254 dan 366 untuk dilihat bercak noda. Kemudian disemprot dengan berbagai reagen seperti Liebermann–Burchard, KOH, FeCl₃, sitroborat dan Dragendorff.

2.2.5 Uji kuantitatif senyawa triterpenoid sikloartan

2.2.5.1 Pembuatan larutan stok

Larutan stok dibuat dengan menimbang 1 mg baku triterpenoid sikloartan lalu dicukupkan hingga 2 mL menggunakan pelarut metanol dalam *microtube* dan didapatkan larutan stok dengan konsentrasi 500 ppm.

2.2.5.2 Pembuatan larutan uji

Larutan uji dibuat dengan menimbang ekstrak hasil ECC daun *K. hospita* sebanyak 60 mg lalu dilarutkan dengan 3 mL menggunakan pelarut n-heksan dalam vial sehingga didapatkan larutan uji dengan konsentrasi 20.000 ppm dan saring menggunakan kertas saring.

2.2.6 Analisis kuantitatif HPTLC Densitometri

Larutan pembanding berupa triterpenoid sikloartan dengan konsentrasi 500 ppm diaplikasikan menggunakan *autosampler* (CAMAG®) Linomat 5 dengan kurva kalibrasi 2,4,6,8, dan 10 µL. Larutan uji fraksi n-heksan hasil ECC ekstrak daun *K. hospita* dengan konsentrasi 20.000 ppm ditotolkan 6 µL sebanyak tiga totolan. Penotolan dilakukan pada lempeng HPTLC silika gel 60 GF₂₅₄. Selanjutnya, proses elusi dilakukan menggunakan fase gerak berupa campuran n-heksan : etil asetat (1:1). Setelah proses elusi selesai, visualisasi bercak dilakukan secara otomatis di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm menggunakan alat *documentation system*. Kemudian, pelat dipindai menggunakan densitometri.

2.2.7 Validasi metode analisis

2.2.7.1 Linearitas

Linearitas ditentukan dengan menotolkan larutan baku dengan konsentrasi 500 ppm pada volume 2,4,6,8 dan 10 µL. Setiap konsentrasi dianalisis menggunakan

densitometri, kemudian dibuat kurva kalibrasi antara jumlah baku dan luas area untuk memperoleh persamaan regresi dan koefisien korelasi (r^2).

2.2.7.2 Spesifisitas

Spesifisitas ditentukan dengan membandingkan nilai R_f dan profil densitometri antara baku dan sampel untuk memastikan bahwa respon yang terukur berasal dari analit yang dituju serta tidak terdapat interferensi dari komponen matriks lainnya

2.2.7.3 LOD (*Limit of Detection*) dan LOQ (*Limit of Quantification*)

LOD dan LOQ dihitung berdasarkan simpangan baku respon dan slope kurva kalibrasi sesuai dengan rumus pada pedoman ICH Q2(R2)

$$LOQ = \frac{10 \times SD}{Slope}$$

$$LOD = \frac{3,3 \times SD}{Slope}$$

2.2.8 Analisis data

Data yang diperoleh dari hasil pengujian akan dilakukan perhitungan kadar triterpenoid sikloartan dengan cara memasukkan nilai luas area (AUC) pada persamaan linear ($Y = bx + a$) dan menghitung metode validasi. Selanjutnya, data dianalisis dan dibuat kesimpulan.