

PENETAPAN KADAR ALKALOID TOTAL EKSTRAK DAUN RAMBUSA (*Passiflora foetida* L.) DENGAN TINGKATAN FRAKSI

Nurfikriana Rahmah^{1*}, Rohama¹, Melviani¹

¹Program Studi Sarjana Farmasi, Universitas Sari Mulia, Indonesia

*Korespondensi: nurfikriana.rahmah@gmail.com

Diterima: 22 Oktober 2022

Disetujui: 04 Maret 2023

Dipublikasikan: 01 April 2023

ABSTRAK. Daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) merupakan salah tumbuhan yang sering dimanfaatkan masyarakat sebagai salah satu tanaman obat di daerah Kalimantan Selatan untuk mengobati luka atau sebagai penutup luka. Daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid. Alkaloid memiliki banyak aktivitas farmakologis didalamnya, salah satunya yaitu sebagai antibakteri. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui kadar alkaloid total ekstrak daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) dengan tingkatan fraksi, serta melihat pengaruh tingkatan fraksi terhadap kadar alkaloid. Metode yang digunakan yaitu analisis kualitatif untuk mengidentifikasi senyawa alkaloid dan analisis kuantitatif untuk menentukan kadar alkaloid dengan menggunakan spektrofotometri uv-vis, sedangkan untuk melihat pengaruh tingkatan fraksi terhadap kadar alkaloid dengan menggunakan metode *True Experimental* dengan desain penelitian *Randomized block design*. Hasil identifikasi uji warna pada ekstrak daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) dengan tingkatan fraksi positif mengandung alkaloid, dengan kadar alkaloid yang diperoleh pada fraksi n-heksan sebesar 7,161%, fraksi kloroform 3,080%, dan fraksi metanol 2,340%, serta adanya pengaruh yang signifikan pada fraksi-fraksi tertentu terhadap kadar alkaloid.

Kata kunci: daun rambusa, fraksi, kadar alkaloid

ABSTRACT. Rambusa leaf (*Passiflora foetida* L.) is one of the plants that is often used by the community as a medicinal plant in the South Kalimantan area to treat wounds or as a wound patch. Rambusa leaves (*Passiflora foetida* L.) contain secondary metabolites such as alkaloids. Alkaloids have many pharmacological activities in them, one of which is as antibacterial. The purpose of this study was to determine the total alkaloid levels of rambusa leaf extract (*Passiflora foetida* L.) with fraction levels and to see the effect of fraction levels on alkaloid levels. The method used is qualitative analysis to identify alkaloid compounds and quantitative analysis to determine alkaloid levels using UV-Vis spectrophotometry, while to see the effect of fraction level on alkaloid levels using the *True Experimental* method with *Randomized block design* research design. The results of the identification of the color test on rambusa leaf extract (*Passiflora foetida* L.) with positive fraction level containing alkaloids, with the alkaloid levels obtained in the n-hexane fraction of 7.161%, chloroform fraction 3.080%, and methanol fraction 2.340%, as well as significant effect on certain fractions to the alkaloid levels.

Keywords: alkaloid level, rambusa leaf, fraction

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara tropis yang memiliki potensi tanaman herbal yang sering digunakan secara turun-temurun sebagai obat tradisional. Terdapat sekitar 30.000 jenis tumbuhan, ada 7.000 diantaranya memiliki khasiat sebagai obat, dan 2.500 diantaranya merupakan tanaman obat (Salim & Munadi, 2017).

Salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai bahan obat dan menarik untuk diteliti adalah daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) atau

yang biasa dikenal dengan permot memiliki beragam manfaat yang jarang diketahui oleh banyak orang, diantaranya yaitu menjaga kesehatan tulang, mengontrol tekanan darah, menjaga kesehatan gusi, dan mengurangi rasa stress. Bagian tanaman yang biasanya dimanfaatkan oleh masyarakat adalah buah dan daunnya. Didalam buahnya terdapat kandungan kalsium, zat besi, antioksidan, mineral, dan berbagai vitamin seperti vitamin C (Patil et al., 2013), sedangkan pada daunnya banyak digunakan

masyarakat di daerah Kalimantan Selatan untuk mengobati luka radang kulit, batuk, dan demam. Selain di Indonesia penggunaan daun rambusa juga digunakan di berbagai negara seperti di India daunnya digunakan sebagai pembalut luka dan untuk mengobati sakit kepala, sedangkan di Brazil digunakan sebagai tapal atau lotion untuk penyakit kulit dengan peradangan (Asadujjaman et al., 2014).

Tanaman rambusa (*Passiflora foetida* L.) dapat digunakan sebagai pengobatan tradisional karena mengandung senyawa fitokimia berupa alkaloid, fenolik, glikosida, flavonoid, dan sianogenik. Alkaloid pada tanaman herbal berpotensi sebagai antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Ekstrak dari daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap empat bakteri patogen manusia, yaitu *Pseudomonas putida*, *Vibrio cholerae*, *Shigella flexneri*, dan *Streptococcus pyogenes* B (Patil et al., 2013). Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme kerja senyawa alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan cara menghambat enzim yang berperan dalam proses replikasi DNA, sehingga akan menyebabkan bakteri tidak dapat melakukan pembelahan yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Alkaloid yang terdapat dalam ekstrak suatu tanaman dapat mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk dengan utuh dan dapat menyebabkan kematian pada sel tersebut (Purwanto & Kencana Irianto, 2022).

Berdasarkan dari uraian diatas, maka diperlukan suatu penelitian untuk mengetahui kadar alkaloid total dari ekstrak daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) dengan tingkatan fraksi.

METODE

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimental, dengan jenis penelitian *True Experimental* yang bertujuan untuk membandingkan dan melihat pengaruh kadar alkaloid total dari ekstrak daun rambusa (*Passiflora foetida* L) pada masing-masing fraksi (n-heksan, kloroform, dan metanol). Desain

penelitian yang digunakan ialah *Randomized block design*.

Alat yang digunakan adalah timbangan analitik (*Simatsu*), *rotary evaporator* (*DLab*), gelas ukur, tabung reaksi, corong kaca (*Herma*), gelas beker, labu ukur, corong pisah (*Pyrex*), erlenmeyer, batang pengaduk, cawan porselin, kaca arloji, rak tabung reaksi, sendok tanduk, spatula, pipet tetes, seperangkat alat maserasi, spektrofotometer UV-Vis (*Spektroquant pharo 300*), hot plate (*Cimarex*), dan *waterbath*.

Bahan yang digunakan adalah daun rambusa (*Passiflora foetida* L.), kertas saring, etanol 96%, aquadest, asam klorida (HCL) 2N, Natrium fosfat 2M (Na_2HPO_4), asam sitrat, Natrium Hidroksida 2N (NaOH), kafein, pereaksi Dragendorff, Pereaksi Wagner, kloroform, Bromocresol Green (BCG), metanol, dan N-heksan.

Sampel daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) yang sudah diperoleh dari Kecamatan Marabahan, sebanyak 2 kg kemudian dicuci bersih dengan air mengalir kemudian dikeringkan pada sinar matahari secara langsung ditutup dengan kain hitam, selanjutnya lakukan sortasi kering dan diolah menjadi serbuk untuk dilanjutkan ketahap selanjutnya. Serbuk simplisia daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) dimasukkan kedalam toples kaca sebanyak 300 gram, kemudian diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% selama 3 x 24 jam dengan melakukan pengadukan sesekali agar simplisia dan pelarut tercampur merata. Selanjutnya simplisia disaring agar dapat diperoleh filtrat. Filtrat hasil saringan diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental kemudian hitung % rendemen ekstrak.

Pada proses fraksinasi, ekstrak kental daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) dilarutkan dengan aquades dan ditambahkan pelarut n-heksan, kemudian masukkan kedalam corong pisah lalu kocok dengan kuat. Diamkan corong pisah agar pemisahan antar dua fase terjadi dengan baik yaitu lapisan antara fraksi n-heksan dengan air. Lapisan bagian atas (fraksi n-heksan) dikeluarkan dari corong pisah, sedangkan larutan bagian bawah (lapisan air) ditambahkan dengan kloroform kemudian kocok kembali dengan kuat hingga

terbentuk dua fase lapisan antara fraksi kloroform dengan air. Lapisan bagian atas (fraksi kloroform) dikeluarkan dari corong pisah, dan lapisan air ditambahkan dengan metanol. Lakukan pengocokan kembali dengan kuat hingga menghasilkan dua fase lapisan antara fraksi metanol dengan air, sehingga hasil akhir akan diperoleh tiga fraksi yaitu fraksi n-heksan, fraksi kloroform, dan fraksi metanol, kemudian hitung % rendemen fraksi.

Tiga buah sampel yang masing-masing berisi 1 mL ekstrak daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) dengan masing-masing fraksi (n-heksan, kloroform, dan metanol) ditambahkan dengan 1 ml HCL 2N, kemudian larutkan dengan aquades lalu saring. Filtrat hasil saringan dibagi menjadi 2 sampel. Masukkan masing-masing sampel kedalam tabung reaksi yang berbeda. Tabung pertama ditambahkan 2 tetes pereaksi Wagner, positif alkaloid jika menghasilkan endapan coklat. Tabung kedua ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorff, jika menghasilkan endapan merah bata maka menandakan positif mengandung alkaloid.

Timbang masing-masing 10 mg ekstrak daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) untuk setiap fraksi (n-heksan, kloroform, dan metanol). Larutkan dengan etanol sampai volume 10 ml, kemudian kocok hingga homogen sehingga didapatkan konsentrasi 1000 ppm. Pipet larutan baku induk 1000 ppm untuk setiap fraksi (n-heksan, kloroform, dan metanol) masing-masing 1 ml dan larutkan dengan etanol sampai volume 10 ml, kemudian kocok sampai homogen, sehingga akan didapatkan konsentrasi 100 ppm.







Penentuan kadar alkaloid total untuk masing-masing fraksi dengan memipet 2 ml ekstrak daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) fraksi n-heksan, fraksi kloroform dan fraksi metanol 100 ppm. Tambahkan larutan dapar fosfat dan larutan BCG masing-masing 5 ml, kemudian ekstraksi dengan 5 ml kloroform dengan menggunakan corong pisah. Ambil fase kloroform kemudian masukkan ke dalam labu ukur 10 ml dan tambahkan kloroform sampai tanda batas. Hitung nilai absorbansi pada panjang gelombang 290 nm dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dan lakukan tiga kali replikasi.

HASIL

Serbuk simplia daun rambusa yang diperoleh sebesar 313 gram, dengan ekstrak kental yang diperoleh sebanyak 45,14 gram dan % rendemen ekstrak yaitu 14,42%. Pada proses fraksinasi diperoleh ekstrak kental fraksi n-heksan sebesar 4,12 gram, fraksi kloroform 10,85 gram, dan fraksi metanol 6,54 gram. Sedangkan untuk % rendemen fraksi yang didapat yaitu 13,73% untuk fraksi n-heksan, 36,16% fraksi kloroform, dan 21,8% fraksi metanol.

Identifikasi alkaloid dilakukan dengan menggunakan dua jenis reagen yang berbeda. Hasil uji identifikasi alkaloid dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Identifikasi Alkaloid

Fraksi	Pereaksi	Gambar	Hasil	Deskripsi
Fraksi N-heksan	Wagner		+	Endapan Coklat
	Dragendorff		+	Endapan Merah Bata
Fraksi Kloroform	Wagner		+	Endapan Coklat
	Dragendorff		+	Endapan Merah Bata
Fraksi Metanol	Wagner		+	Endapan Coklat
	Dragendorff		+	Endapan Merah Bata

Dari tabel diatas dapat diketahui bahwa semua fraksi dengan menggunakan dua reagen yang berbeda positif mengandung alkaloid.

Tabel 2. Hasil Kurva Standar Kafein

Konsentrasi (ppm)	Rata-rata Absorbansi	Persamaan Regresi Linier
2	0,009	$y = 0,0473x - 0,0817$
4	0,114	

6	0,218	$R^2 = 0,9776$
8	0,259	
10	0,409	

Dari hasil kurva standar kafein dengan perbedaan konsentrasi, dapat diperoleh rumus persamaan regresi linier $y = 0,0473x - 0,0817$.

Tabel 3. Hasil Absorbansi Masing-Masing Fraksi

Replikasi	Absorbansi		
	N-heksan	Kloroform	Metanol
I	0,320	0,063	0,026
II	0,244	0,065	0,031
III	0,209	0,066	0,032
Rata-rata	0,257	0,064	0,029

Tabel 4. Kadar Alkaloid Masing-Masing Fraksi

Fraksi	% Kadar Alkaloid
N-heksan	7,161%
Kloroform	3,080%
Metanol	2,340%

Dilihat dari nilai kadar alkaloid pada masing-masing fraksi diatas dapat diketahui bahwa kadar alkaloid paling tinggi berada pada fraksi n-heksan dengan nilai kadar alkaloid sebesar 7,161%.

Tabel 5. Uji One way ANOVA

Kadar Alkaloid					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,090	2	,045	41,969	,000
Within Groups	,006	6	,001		
Total	,097	8			

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi. Pemilihan metode ini dikarenakan maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi dingin yang paling mudah dilakukan dan cocok untuk bahan yang tidak tahan terhadap pemanasan, sehingga dapat mengurangi terjadinya kerusakan senyawa metabolit sekunder selama proses ekstraksi berlangsung (Fadhly et al., 2015). Pelarut yang digunakan pada proses maserasi ini yaitu etanol 96%. Pemilihan pelarut etanol 96% karena pelarut ini mudah didapatkan dan merupakan pelarut yang paling efektif, tidak bersifat toksik, penyerapannya baik, dan jarang ditumbuhi oleh kapang atau jamur. Selain mudah

didapatkan etanol juga mempunyai sifat universal, artinya pelarut ini dapat menyari senyawa-senyawa metabolit sekunder yang bersifat non polar, semi polar, dan polar. Semakin tinggi konsentrasi pelarut yang digunakan maka pelarut akan lebih mudah berpenetrasi ke dalam sel simplisia, sehingga ekstrak yang akan dihasilkan menjadi lebih pekat (Nanda Mujipradhana et al., 2018). Ekstrak kental yang didapatkan kemudian ditimbang dan dihitung % rendemen ekstrak. Rendemen ekstrak dapat memberikan gambaran terkait kandungan senyawa metabolit sekunder yang tersari dalam suatu sampel, sehingga jika semakin besar rendemen ekstrak yang dihasilkan maka semakin banyak senyawa metabolit sekunder yang tersari dalam suatu sampel (Ramadhani et al., 2020).

Pada proses fraksinasi dengan menggunakan tiga jenis pelarut yang berbeda berdasarkan tingkat kepolarannya, yaitu n-heksan, kloroform, dan metanol diperoleh ekstrak kental fraksi n-heksan sebesar 4,12 gram, fraksi kloroform 10,85 gram, dan fraksi metanol 6,54 gram. Sedangkan untuk % rendemen fraksi yang didapat yaitu 13,73% untuk fraksi n-heksan, 36,16% fraksi kloroform, dan 21,8% fraksi metanol. Fraksinasi merupakan proses pemisahan senyawa dengan menggunakan prinsip *like dissolve like* artinya, suatu senyawa akan larut dalam pelarut yang sesuai dengan kepolarannya. Proses fraksinasi dilakukan dengan menggunakan metode corong pisah, dimana akan terbentuk dua lapisan atau dua fase pelarut yang berbeda bobot jenisnya, fraksinasi bertujuan untuk memisahkan senyawa-senyawa yang berbeda tingkat kepolarannya sehingga dapat terekstrak kedalam pelarut yang sesuai (Pramesti et al., 2021). Dari perhitungan % rendemen fraksi yang didapatkan dapat diketahui bahwa fraksi kloroform lebih banyak menarik senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak daun rambusa. Kloroform itu sendiri bersifat semi polar, sehingga selain dapat menarik senyawa-senyawa metabolit sekunder yang bersifat semi polar kloroform juga dapat menarik senyawa-senyawa metabolit sekunder yang bersifat polar dan non polar.

Pada identifikasi alkaloid dengan pereaksi wagner dan pereaksi dragendorff didapatkan hasil

semua fraksi positif mengandung alkaloid, ditandai dengan terbentuknya endapan coklat dan endapan merah bata. Setelah semua fraksi positif mengandung alkaloid, dilanjutkan dengan menentukan kadar alkaloid untuk masing-masing fraksi.

Pengukuran kadar alkaloid ekstrak daun rambusa dengan tingkatan fraksi dilakukan secara kuantitatif dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Larutan baku standar yang digunakan pada penelitian ini yaitu kafein. Larutan baku kafein diukur panjang gelombangnya dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada rentang 200-400 nm. Panjang gelombang kafein yang didapatkan yaitu 290 nm. Kemudian dibuat kurva standar kafein dengan perbedaan konsentrasi, sehingga dari hasil tersebut dapat diperoleh rumus persamaan regresi linier $y = 0,0473x - 0,0817$.

Dari hasil perhitungan dengan menggunakan rumus $y = 0,0473x - 0,081$ diperoleh kadar alkaloid pada fraksi n-heksan sebesar 7,161%, fraksi kloroform sebesar 3,080%, dan fraksi metanol sebesar 2,340%. Dilihat dari nilai kadar alkaloid pada masing-masing fraksi dapat diketahui bahwa kadar alkaloid paling tinggi berada pada fraksi n-heksan dengan nilai kadar alkaloid sebesar 7,161%. N-heksan itu sendiri bersifat non polar, sehingga alkaloid yang terdapat pada fraksi n-heksan adalah alkaloid yang bersifat non polar. Jenis alkaloid bebas relatif banyak dapat mudah terlarut pada pelarut yang non polar. Hal ini menandakan bahwa pada saat proses fraksinasi senyawa metabolit yang paling banyak tersari adalah alkaloid, walaupun pada perhitungan % rendemen fraksi, fraksi n-heksan memiliki % rendemen paling sedikit. Akan tetapi senyawa-senyawa metabolit sekunder yang tersari pada fraksi n-heksan didominasi oleh alkaloid sehingga kadar alkaloid paling tinggi berada pada fraksi n-heksan, karena rendemen fraksi yang tinggi belum pasti menunjukkan bahwa alkaloid yang tersari didalamnya juga dalam jumlah yang banyak. Hal ini menunjukkan bahwa tingkatan fraksi memiliki pengaruh terhadap kadar alkaloid.

Berdasarkan hasil uji tersebut terdapat pengaruh yang signifikan terhadap kadar alkaloid pada tingkatan fraksi tertentu. Hal ini dapat dilihat

dari nilai p yang didapatkan yaitu 0,000. Jika nilai $p < 0,005$ maka terdapat pengaruh yang signifikan terhadap kelompok uji (Saputri & Hakim, 2021).

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan dapat disimpulkan bahwa kadar alkaloid total pada masing-masing fraksi yaitu, untuk fraksi n-heksan sebesar 7,161%, untuk fraksi kloroform sebesar 3,080%, dan untuk fraksi metanol sebesar 2,340%. Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa kadar alkaloid paling tinggi berada pada fraksi n-heksan, yaitu sebesar 7,161%, dan berdasarkan hasil uji *One Way Anova* dapat diketahui bahwa tingkatan fraksi memiliki pengaruh yang signifikan terhadap kadar alkaloid, karena nilai p yang didapatkan $< 0,005$.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Universitas Sari Mulia yang sudah memberikan kesempatan kepada saya untuk melakukan penelitian.

REFERENSI

- Asadujjaman, M., Mishuk, A. U. Ila., Hossain, M. A. sla., & Karmakar, U. K. uma. (2014). Medicinal potential of *Passiflora foetida* L. plant extracts: biological and pharmacological activities. *Journal of Integrative Medicine*, 12(2), 121–126. [https://doi.org/10.1016/S2095-4964\(14\)60017-0](https://doi.org/10.1016/S2095-4964(14)60017-0)
- Fadhly, E., Kusriani, D., & Fachriyah, E. (2015). Isolasi, Identifikasi Senyawa Alkaloid dari Daun *Rivina humilis* L. serta Uji Sitotoksik Menggunakan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 18(2), 67–72. <https://doi.org/10.14710/jksa.18.2.67-72>
- Nanda Mujipradhana, V., Wewengkang, D. S., & Suryanto, E. (2018). Aktivitas Antimikroba Dari Ekstrak *Ascidian Herdmania Momus* Pada Mikroba Patogen Manusia. In *Pharmacognosy Ilmiah Farmasi-UNSRAT* (Vol. 7, Issue 3).
- Patil, Paikrao, & S., P. (2013). *Passiflora foetida* Linn: A complete morphological and phytopharmacological review. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 4(1), 285–296. <https://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download>

- oad?doi=10.1.1.637.7542&rep=rep1&type=pdf
- Pramesti, N. K. A., Putri, N. P. V. G., Dewi, I. A. M. L., Moreira, M. V., & Antarini, L. R. (2021). Identifikasi dan Penetapan Kadar Alkaloid Kinin Ekstrak Kulit Batang Kina (*Cinchona succirubra*) secara KLT Spektrofotodensitometri. *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 7(2), 118–128. <https://doi.org/10.36733/medicamento.v7i2.1510>
- Purwanto, & Kencana Irianto, I. D. (2022). *Senyawa Alam Sebagai Antibakteri dan Mekanisme Aksinya*. UGM Press.
- Ramadhani, M. A., Hati, A. K., Lukitasari, N. F., & Jusman, A. H. (2020). Skrining Fitokimia Dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Serta Fenolik Total Ekstrak Daun Insulin (*Tithonia diversifolia*) Dengan Maserasi Menggunakan Pelarut Etanol 96 %. *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, 3(1). <https://doi.org/10.35473/IJPNP.V3I1.481>
- Salim, Z., & Munadi, E. (2017). Info Komoditi Tanaman Obat. In *Badan Pengkajian dan Pengembangan Perdagangan Kementerian Perdagangan Republik Indonesia* (Vol. 5, Issue 4). <https://doi.org/10.7748/ldp.5.4.28.s16>
- Saputri, R., & Hakim, A. R. (2021). *Metodologi Penelitian Kesehatan*. CV.Pena Persada.