

2020

MODUL PRAKTIKUM FARMAKOLOGI ANALITIK



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
BANDUNG**

PARAMETER DAN METODE UJI EKSTRAK
UJI KANDUNGAN KIMIA EKSTRAK
(Kadar Total Golongan Kandungan Kimia)

Tujuan

1. Mahasiswa mampu melakukan uji penetapan kadar total golongan kandungan kimia di dalam simplisia dan ekstrak
2. Memberikan informasi kadar golongan kandungan kimia sebagai parameter mutu ekstrak dalam kaitannya dengan efek farmakologi

Dengan penetapan metode spektrofotometri, titrimetri, gravimetric atau lainnya, dapat ditetapkan kadar golongan kandungan kimia. Ada beberapa golongan kandungan kimia yang dapat dikembangkan dan ditetapkan metodenya, yaitu:

- | | |
|------------------|-----------------|
| 1. Minyak atsiri | 4. Flavonoid |
| 2. Steroid | 5. Alkaloid |
| 3. Tannin | 6. antrakininon |

Prosedur

1. Penetapan Kadar Minyak Atsiri

Timbang seksama sejumlah bahan yang diperkirakan mengandung 0,3 ml minyak atsiri, masukkan ke dalam labu alas bulat 1L, tambahkan 200 sampai 300 ml air suling, hubungkan labu dengan pendingin dan buret bersekala. Untuk minyak atsiri dengan bobot jenis lebih kecil dari 1, tambahkan 0,2 ml toluene atau xylem ke dalam buret. Panaskan dengan tangas udara, sehingga penyulingan berlangsung dengan lambat tetapi teratur. Setelah penyulingan selesai, biarkan selama tidak kurang 15 menit, catat volume minyak atsiri pada buret. Kadar minyak atsiri dihitung dalam % v/b.

2. Penetapan kadar steroid

Prosedur

Larutan baku

Timbang seksama 1 mg sitosterol, larutkan dalam etanol P secara bertingkat sehingga diperoleh kadar 5µg per ml, 10 µg per ml dan 20 µg per ml.

Larutan uji

Timbang seksama 1 gram ekstrak, larutkan dalam 20 ml etanol dalam labu takar. Ulangi tiga kali dengan cara yang sama. Ke dalam dua labu yang masing-masing berisi larutan uji dan larutan baku dan ke dalam labu ke tiga yang berisi 20 ml etanol P sebagai belanko, tambahkan 2 ml larutan yang dibuat dengan melarutkan 50 mg biru tetrazolium P dalam 10 ml methanol P, dan campur. Kemudian ke dalam tiap labu tambahkan 2 ml campuran etanol P dan tetrametilen ammonium hidroksida LP (9:1), campur, dan biarkan dalam gelap selama 90 menit. Ukur segera serapan larutan yang diperoleh dari larutan uji dan larutan baku pada panjang gelombang lebih kurang 525 nm dibandingkan terhadap belanko.

3. Penetapan kadar tannin

Prosedur

Larutan asam indigo sulfonat LP

Larutkan 1 gram indigo karmin P dalam 25 ml asan sulfat P. tambahkan 25 ml asam sulfat P lagi dan encerkan dengan air secukupnya hingga 1000 ml (pengenceran dilakukan dengan menuangkan larutan ke dalam sebagian besar air, kemudian encerkan dengan air secukupnya hingga 1000 ml).

Larutan uji

Lebih kurang 2 gram ekstrak yang ditimbang seksama, panaskan dengan 50 ml air mendidih di atas tangas air selama 30 menit sambil diaduk. Diamkan selama beberapa menit, enap tuangkan melalui segumpal kapas ke dalam labu takar 250 ml. sari sisa dengan air mendidih, saring larutan ke dalam labu takar yang sama. Ulangi penyarian beberapa kali hingga larutan bila direaksikan dengan besi (III)

ammonium sulfat tidak menunjukkan adanya tannin. Dinginkan cairan dan tambahkan air secukupnya hingga 250 ml. pipet 25 ml larutan ke dalam labu 1000 ml tambahkan 750 ml air dan 25 ml asam indigo sulfonat LP, titrasi dengan kalium permanganate 0,1 N hingga larutan berwarna kuning emas. 1 ml kalium permanganate 0,1 N setara dengan 0,004157 gram tannin. Lakukan percobaan blangko.

4. Penetapan kadar flavonoid

Sebanyak 10 mg kuersetin (pembanding) ditimbang dan dilarutkan dalam 100 mL metanol sebagai larutan stok, kemudian dibuat pengenceran kuersetin dengan konsentrasi 40 µg/mL hingga 160 µg/mL sebagai larutan kuersetin pembanding. Sebanyak 0,5 mL larutan pembanding diencerkan dengan 1,5 mL metanol kemudian ditambahkan 0,1 mL aluminium (III) klorida 10%, 0,1 mL natrium asetat 1M dan 2,8 mL aquadest. Setelah diinkubasi selama 30 menit, absorbansi dari larutan pembanding diukur dengan spektroskopi UV- sinar tampak pada panjang gelombang 415 nm. Masing-masing larutan pembanding diukur tiga kali. Setelah diperoleh absorbansi dari masing-masing larutan pembanding, dibuat kurva kalibrasi dan diperoleh persamaan regresi linear.

Sampel uji dilarutkan dalam metanol dengan konsentrasi 1000 µg/mL untuk ekstrak n-heksana, konsentrasi 1500 µg/mL ekstrak etil asetat, dan konsentrasi 4000 µg/mL untuk ekstrak etanol. Sebanyak 0,5 mL sampel uji ditambahkan dengan 1,5 mL metanol, kemudian ditambahkan 0,1 mL aluminium (III) klorida 10%, 0,1 mL natrium asetat 1 M, dan 2,8 mL aquadest. Setelah diinkubasi selama 30 menit, absorbansi dari larutan pembanding diukur dengan spektrofotometer UV-sinar tampak pada panjang gelombang 415 nm. Flavonoid total dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier dari kurva kalibrasi kuersetin (Chang, 2002).

5. Penetapan kadar alkaloid.

Prosedur

Timbang seksama 1 gram ekstrak, masukkan dalam corong pisah 125 ml pertama, kemudian tambahkan 20 ml larutan asam sulfat P (1 dalam 350) dan kocok kuat selama 5 menit. Tambahkan 20 ml eter P, kocok hati-hati, saring lapisan asam ke dalam corong pisah 125 ml kedua. Kocok lapisan eter dua kali, tiap kali dengan 10 ml larutan asam sulfat P (1 dalam 350), saring tiap lapisan asam ke dalam corong pisah 125 ml kedua dan buang lapisan eter. Pada ekstrak asam tambahkan 10 ml natrium hidroksida LP dan 50 ml eter P, kocok hati-hati, pindahkan lapisan air ke dalam corong pisah 125 ml ketiga berisi 50 ml eter P. kocok corong pisah ketiga hati-hati, buang lapisan air, cuci lapisan eter pada corong pisah kedua dan ketiga berturut-turut dengan 20 ml air, buang lapisan air. Ekstraksi kedua lapisan eter masing-masing dengan 20 ml, 20 ml dan 5 ml larutan asam sulfat P (1 dalam 70). Lakukan ekstraksi pada corong pisah ketiga lebih dahulu, setelah itu corong pisah kedua. Campur ekstrak asam dalam labu terukur 50 ml, encerkan dengan asam sampai tanda. Lakukan hal yang sama terhadap 25 mg alkaloid pembanding yang tersedia. Encerkan masing-masing 5 ml larutan uji dan larutan pembanding dengan larutan asam sulfat P (1 dalam 70) hingga 100 ml dan tetapkan serapan tiap larutan pada panjang gelombang tertentu menggunakan larutan asam sulfat P (1 dalam 70) sebagai blanko.

6. Penetapan kadar antrakinon

Prosedur

Timbang 0,1 gram ekstrak kocok dengan 10 ml air panas selama 5 menit, saring dalam keadaan panas, dinginkan filtrate, dan ekstraksi dengan 10 ml benzene. Pisahkan lapisan benzene. Tambahkan pada lapisan air 10 ml larutan feri klorida 5% dan 5 ml asam klorida. Panaskan campuran pada penangas air selama 10 menit dalam tabung refluks. Dinginkan dan ekstraksi dengan 10 ml benzene. Uapkan cairan hingga habis pada cawan porslen dengan pemanasan lemah. Larutkan residu dalam 5 ml larutan kalium hidroksida 5% dalam

methanol.Ukur resapan pada 515 nm. Hitung kadar total antrakinon glikosida berdasarkan kurva baku antrakinon pembandingan.

Pustaka

-, 2000, Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, hal 32-37

-, 1980, Materia Medika Indonesia, jilid IV, Departemen Kesehatan Republik Indonesia : 151.

-, 2008, Farmakope Herbal, edisi I, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta : 168-174

PENETAPAN INDEKS IKAN

1. Pendahuluan

Disamping dapat memberikan busa dan menghemolisis darah, saponin juga dapat berfungsi bagi hewan berdarah dingin, seperti katak dan ikan. Konsentrasi dan atau kekuatan saponin dalam simplisia dapat diperkirakan dengan menggunakan toksisitasnya terhadap ikan atau kecebong. Efek toksisitas terhadap ikan ini erat kaitannya dengan kemampuan saponin dalam menghemolisis darah.

2. Bahan dan Alat

- Bejana 4 liter, 4 buah
- Ikan seribu dengan ukuran 2-2,5 cm, 40 ekor
- Air suling 4 liter

3. Prosedur

1. Tiga bejana 1 liter diisi dengan larutan saponin dalam air sebanyak 500 ml. buat seduhan simplisia 10 % b/v dan hasil seduhan dimasukkan bejana hingga konsentrasi simplisia dalam larutan 0,01 % dan 1%
2. Ke dalam masing-masing bejana dimasukkan 10 ikan seribu dengan ukuran 2 – 2.5 cm
3. Amati jumlah ikan yang mati setelah 6, 12 dan 24 jam dan hitung LC 50 nya

4. Pustaka

Apandi, A. (1959), Penentuan kekuatan beberapa bahan tumbuhan dengan cara biologi, *Arena Ars Praeparadi*, 1 hal. 23-28

Katawinata, T.G, (1977). Isolasi Saponin dari Buah *Averrhoa carambola* Linn, *Skripsi Departemen Farmasi FMIPA ITB*, hal 24-25

DATA PENGAMATAN

Tabel 1.

Konsentrasi	Ikan mati			Ikan hidup			Total mati	Total hidup
	6 jam	12 jam	24 jam	6 jam	12 jam	24 jam		

Tabel 2

Konsentrasi	Log konsentrasi (X)	Ikan mati (A)	Ikan hidup (B)	Blanko yg mati (C)	Jumlah total (D=A+B)	Rasio mati total (A-C/D)	% Mortality

CATATAN:

Perhitungan ikan mati untuk tabel 2 diperoleh dari jumlah ikan mati pada konsentrasi yang diamati ditambah dengan total ikan mati pada konsentrasi sebelumnya. Perhitungan dilakukan dari konsentrasi terendah. Begitupun dengan ikan hidup, tetapi perhitungan dilakukan dari konsentrasi tertinggi.

Buat grafik antara log konsentrasi dengan % mortalitas senyawa

Tentukan persamaan garisnya dan tentukan nilai LC50