



REVIEW: EKSTRAKSI, IDENTIFIKASI, KUANTIFIKASI ALKALOID KININ DARI KULIT BATANG KINA (*Cinchona succirubra* Cortex)

Gusti Agung Ayu Made Dwi Khania Adysti

Farmasi, Universitas Udayana

Email: khaniaadysti@gmail.com

ABSTRACT

One of the plants used for medicinal purposes is quinine, especially the bark part containing quinine alkaloids. Extraction by Soxhlet method and identification of groups by phytochemical screening method. Fractures by liquid-liquid extraction methods, thin-layer chromatography, and slow column chromatography. Isolate by the preparative chromatography method and the KLT-Densitometry method. The extraction by Soxhlet's method was obtained with a reddish-brown extract. The phytochemical screening results are positive for alkaloids and triterpenoids. Liquid extraction results in water fractions, ethyl acetate I fractions and ethyl acetate II fractions. KLT results and chemical reagent identification obtained replication fraction I and replication II containing kinin. Using the KLT Densitometry method, it is shown that the quinine stem skin extract positively contains a kinin compound with an average kinin content of 15.30%.

Keywords: *Cinchona succirubra* Cortex, Fraksi, Kinin, KLT-Densitometri, KLT-Preparatif

ABSTRAK

Tanaman yang salah satunya dimanfaatkan untuk bahan obat ialah kina terutama bagian kulit batangnya yang mengandung alkaloid kinin. Ekstraksi dengan metode Soxhlet dan identifikasi golongan dengan metode screening fitokimia. Fraksinasi dengan metode ekstraksi cair-cair, kromatografi lapis tipis, dan kromatografi kolom lambat. Isolasi dengan metode kromatografi preparatif dan metode KLT-Densitometri. Hasil ekstraksi dengan metode Soxhlet didapatkan ekstrak berwarna coklat kemerahan. Hasil skrining fitokimia yang didapatkan adalah positif alkaloid dan golongan triterpenoid. Pada ekstraksi cair didapatkan hasil fraksi air, fraksi etil asetat I dan fraksi etil asetat II. Hasil KLT dan identifikasi pereaksi kimia diperoleh fraksi replikasi I dan replikasi II mengandung kinin. Dengan metode KLT Densitometri didapatkan hasil bahwa ekstrak kulit batang kina positif mengandung senyawa kinin dengan rata-rata kadar kinin yaitu 15,30%.

Keywords: *Cinchona succirubra* Cortex, Fraksi, Kinin, KLT-Densitometri, KLT-Preparatif

1. PENDAHULUAN

Beberapa tanaman banyak yang telah dimanfaatkan sebagai bahan dasar pembuatan obat. Tanaman menghasilkan metabolit sekunder yang memiliki struktur molekul dan aktivitas biologis yang beragam serta berpotensi untuk dikembangkan menjadi obat berbagai macam penyakit. Metabolit sekunder yang terdapat dalam tanaman diantaranya alkaloid, steroid, flavonoid, dan terpenoid. Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki keanekaragaman tanaman obat di dunia. Dari total sekitar 40.000 jenis tanaman obat yang ada di dunia, 30.000 disinyalir berada di Indonesia. Jumlah tersebut mewakili 90% dari tanaman obat yang terdapat di Benua Asia. Dari jumlah tersebut, 25% diantaranya atau sekitar 7.500 jenis sudah diketahui memiliki khasiat herbal atau tanaman obat (Salim, Munadi, 2017).

Salah satu tanaman yang dimanfaatkan sebagai bahan obat adalah Kina. Kina merupakan salah satu tanaman yang berasal dari Amerika Selatan yang termasuk dalam *family Rubiaceae*. Tanaman kina juga dapat ditemukan di wilayah Vietnam, India, Kamerun, Indonesia, dan beberapa negara di Benua Afrika dan Asia. Diantara beberapa wilayah tersebut, Indonesia merupakan produsen kina terbesar di dunia. Pada tanaman kina (*Cinchona Succirubra*) bagian tanaman yang banyak dimanfaatkan sebagai bahan obat adalah kulit batang (*cortex*). Kulit batang kina memiliki ketebalan antara 2 hingga 6 cm dengan panjang antara 30 cm. Kulit batang kina memiliki kandungan 20 jenis alkaloid yang mengandung 15% kandungan *cinchonidine*, kuinidin, kuinin, dan *cinchonine* yang dikombinasikan dengan senyawa aktif utama seperti tanin (3-10%). Selain itu, kulit batang kina juga mengandung mineral, minyak atsiri, dan asam seperti triterpen (*quinovinic acid*), organik (*quinic acid*), fenol (asam kafeat), flavonoid (antiantosianidin), fitosterol (Raza et al., 2021).

Kandungan kuinin yang terdapat pada kina digunakan sebagai antimalaria. Sedangkan kandungan kuinidin digunakan sebagai obat aritmia jantung dan fibrilasi atrium (Calley, 2002). Banyaknya kandungan senyawa yang terdapat dalam kulit batang kina (*Cinchona succiruba*) menyebabkan perlunya dilakukan suatu proses identifikasi, pemisahan, dan isolasi untuk memperoleh senyawa tunggal yang diinginkan sehingga pemilihan metode yang tepat merupakan faktor penting yang akan mempengaruhi kemurnian senyawa yang diperoleh.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang tahapannya pertamanya adalah defatting dan ekstraksi dengan metode soxhlet, kemudian dilakukan skrining fitokimia (uji alkaloid, uji flavonoid, uji steroid dan triterpenoid, uji saponin), tahap ketiga adalah ekstraksi cair-cair, keempat KLT dan identifikasi alkaloid kinin dengan pereaksi kimia, selanjutnya kromatografi kolom lambat, KLT hasil fraksinasi, kromatografi lapis tipis preparatif, KLT-P hasil fraksinasi, dan terakhir adalah identifikasi KLT densitometri.

2. METODOLOGI PENELITIAN

Pembuatan *review* artikel menggunakan metode *studi literatur*. Menurut Zed (2008), metode studi literature adalah kegiatan yang mengumpulkan pustaka, membaca dan mencatat, serta mengolah bahan penelitian. Sumber pustaka dalam penyusunan review artikel ini melalui website jurnal ilmiah nasional dan internasional seperti seperti Scopus, Google Scholar, NCBI, Pubmed, dan Sciencedirect. Kata kunci yang digunakan untuk pencarian adalah *Cinchona succirubra* Cortex, kina, fraksi, kinin, KLT-Densitometri, KLT-Preparatif.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian ini proses ekstraksi dilakukan dengan mengidentifikasi, dan kuantifikasi alkaloid dari serbuk simplisia kulit batang kina (*Cinchona succirubra*). Proses diawali dengan ekstraksi. Tujuan ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi merupakan cara pemisahan komponen bioaktif dari larutannya dengan menggunakan pelarut tertentu. Tujuan ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam (Pasanda et al, 2021).

Metode sokletasi dilakukan dalam proses ekstraksi. Proses Sokletasi merupakan serangkaian ekstraksi dimana dilakukan dengan menggunakan pelarut baru yang pada umumnya dilarutkan dengan alat khusus yang disebut soklet sehingga terjadi ekstraksi berkelanjutan dengan jumlah pelarut yang relatif konstan. Metode ekstraksi sokletasi dipilih karena merupakan metode ekstraksi terbaik untuk memperoleh hasil ekstrak yang banyak dan juga pelarut yang digunakan lebih sedikit (efisiensi bahan) waktu yang digunakan lebih cepat, sampel yang diekstraksi secara sempurna karena dilakukan berulang-ulang (Nurhasanawati et al, 2017).

Tabel 1. Jumlah Ekstrak Kulit Batang Kina Hasil Ekstraksi Metode Soxhlet

Nama Bahan	Warna	Jumlah
Ekstrak methanol hasil Soxhlet	Coklat kemerahan	18,6 g

Sumber: (Pramesti et al, 2021)

Proses sokletasi pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi pada penelitian ini adalah metanol, dikarenakan sifatnya yang mampu melarutkan hampir semua zat, baik yang bersifat polar maupun non polar (Febrina et al., 2015). Selain itu karena alkaloid bersifat basa yang mudah larut dalam larutan beralkohol. Metanol dapat menarik analit berupa alkaloid, steroid, saponin dan flavonoid yang berasal dari tanaman (Agustina et al, 2018). Berdasarkan hasil ekstraksi yang didapat ekstrak berwarna coklat kemerahan dengan volume ekstrak (filtrat) yaitu sebanyak 18,6 gram.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia

Golongan Senyawa	Hasil
Flavonoid	-
Triterpenoid	+
Saponin	-
Alkaloid	+

Sumber: (Pramesti et al, 2021)

Selanjutnya dilakukan skrining fitokimia. Skrining fitokimia merupakan tahap pendahuluan yang dapat memberikan gambaran mengenai kandungan senyawa tertentu dalam bahan alam yang akan diteliti (Vifta et al., 2018). Uji skrining fitokimia yang dilakukan, yaitu uji kandungan flavonoid, uji steroid dan triterpenoid, uji kandungan saponin, dan uji kandungan alkaloid. Dari hasil pengamatan, larutan ekstrak uji mengandung endapan berwarna coklat yang menunjukkan hasil positif alkaloid dengan pereaksi Wagner. Dan pada sampel positif mengandung steroid dan triterpenoid karena terbentuk cincin berwarna violet pada batas larutan. Hasil tersebut menunjukkan bahwa larutan ekstrak uji yang digunakan tidak mengandung steroid tetapi mengandung triterpenoid.

Tabel 3. Hasil Ekstraksi Cair - Cair

No	Hasil Fraksi	Warna
1	Fase air	Coklat
2	Fase Etil Asetat I	Kuning kecoklatan
3	Fase etil asetat II	Kuning

Sumber: (Giri, 2020)

Selanjutnya dilakukan ekstraksi cair-cair (ECC). Fungsi ekstraksi cair-cair (ECC) adalah untuk memisahkan analit-analit dari komponen-komponen matriks yang mengganggu pada saat kuantifikasi dan untuk memekatkan analit yang berada dalam sampel dengan jumlah yang kecil agar memudahkan deteksi maka dilakukan dengan ekstraksi pelarut (Ganjar et al, 2012) . Terdapat 2 tahapan ekstraksi dengan metode ECC. Pertama, yaitu defatting (menghilangkan lipid dan resin) dan tahap kedua adalah purification (pemurnian) (Pramesti et al., 2021). Tahap defatting dilakukan dengan penambahan asam sulfat dipartisi dengan cara dimasukkan ke dalam corong pisah lalu ditambahkan etil asetat. Digunakan etil asetat karena etil asetat merupakan pelarut semi polar yang mudah menguap, tidak beracun. Fase air yang terbentuk berwarna coklat, berada di bagian atas dan fase etil asetat I berwarna kuning kecoklatan pada bagian bawah. Hal ini dikarenakan air memiliki bobot jenis yang lebih besar yaitu 0,9971 g/mL daripada bobot jenis etil asetat yaitu 0,894 - 0,898 g/mL. Tiga fraksi yang dihasilkan yaitu fraksi air, fraksi etil asetat I, dan fraksi etil asetat II.



Gambar 1. Fraksi yang Ditotolkan Hasil Positif mengandung Alkaloid pada Fraksi Etil Asetat II

Sumber: : (Giri, 2020)

Kemudian Identifikasi alkaloid kinin dilakukan dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang merupakan metode pemisahan campuran senyawa menjadi senyawa murninya dengan tujuan untuk mengetahui adanya alkaloid kinin pada setiap fraksi yang diperoleh dari ekstraksi cair-cair. Metode ini dipilih karena prosesnya yang terbilang cepat, memerlukan bahan sangat sedikit, baik penyerap maupun cuplikannya, dimana prinsip dari metode ini terjadi berdasarkan perbedaan daya serap (adsorpsi) dan daya partisi serta kelarutan dari komponen-komponen kimia yang akan bergerak mengikuti kepolaran eluen (Sastrohamidjojo, 1991).

Identifikasi dimulai dengan mengelusi plat yang sudah ditotolkan fraksi dan standar kinin sebelumnya dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm, yang mana telah sesuai dengan panjang gelombang kinin dapat terdeteksi, yakni 250 nm dan 350 nm (Cheon et al, 2012). Kemudian kemunculan bercak pada kertas kalkir ditandai karena merupakan hasil positif yang mengandung kinin, yang dilanjutkan dengan penyemprotan pada plat dengan pereaksi semprot, yang mana pereaksi yang digunakan disini adalah larutan Asam Sulfat (H_2SO_4) 10 % dengan tujuan untuk mengubah senyawa kinin menjadi kinin sulfat yang akan menghasilkan fluoresensi yang lebih kuat sehingga saat diamati dibawah sinar UV 366 nm warna spot yang dihasilkan akan menjadi lebih intensif atau lebih terang (Ganjar et al, 2012).

Berdasarkan hasil yang didapatkan, Fraksi metanol, fraksi air, dan fraksi etil asetat I tidak menunjukkan adanya bercak sedangkan fraksi etil asetat II menunjukkan hasil positif, namun pada pengamatan dibawah sinar UV 254 nm fraksi etil asetat II yang positif tersebut memiliki Rf 0,2 menunjukkan hasil yang kurang sesuai dengan standar kinin yang memiliki Rf 0,075. Hasil tersebut dapat dikatakan tidak sesuai dengan pustaka, dimana standar kinin yang diidentifikasi menggunakan fase gerak kloroform : metanol (9:1 v/v) akan menghasilkan nilai Rf kinin 0,77 dan hRf 77 (Wall, 2005). Menurut peneliti sendiri, yakni Giri pada tahun 2020, menyebutkan bahwa perbedaan hasil ini kemungkinan dikarenakan oleh proses analisis KLT yang dilakukan pada waktu, suasana, dan penggunaan alat yang berbeda dengan pustaka sehingga hasilnya pun tidak akan akurat atau sama persis.

Selain KLT, dilakukan juga metode kromatografi kolom lambat, dimana kromatografi kolom lambat merupakan metode pemisahan preparatif dengan menggunakan alat berupa kolom sebagai alat untuk memisahkan komponen-komponen dalam campuran yang tujuannya untuk memisahkan suatu sampel berupa campuran dengan massa yang hanya beberapa gram (Sastrohamidjojo, 1991). Fase diam yang dipilih pada kromatografi kolom lambat ini adalah silika, yang merupakan fase diam yang bersifat polar dan fase geraknya berupa campuran kloroform dan metanol bersifat non-polar, dimana sistem ini dipilih karena sifat dari alkaloid kinin yang cenderung non-polar sehingga harus dibawa keluar dari sistem kromatografi dengan fase gerak non-polar (Setyaningrum et al, 2016).

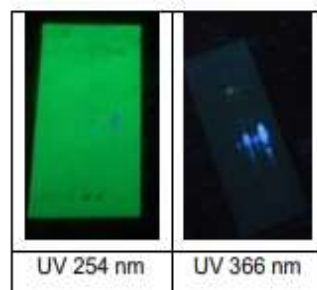
Tabel 4. Hasil kromatografi kolom lambat

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

Sumber: (Giri, 2020)

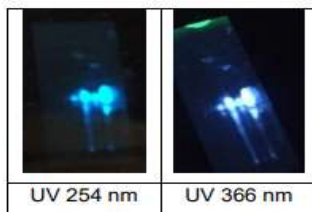
Komposisi fase gerak yang dibuat adalah 9:1 v/v, 8:2 v/v, 7:3 v/v, 6:4 v/v dan 5:5 v/v, dimana tiap-tiap komposisi fase gerak tersebut memiliki tingkat kepolaran yang lebih polar dibandingkan dengan komposisi sebelumnya. Penggunaan fase gerak bergradien ini bertujuan untuk memisahkan solut-solut pada fraksi etil asetat sesuai dengan tingkat kepolaran tersebut, dimana solut yang bersifat non polar akan keluar lebih dulu. Berdasarkan hasil yang diperoleh, ditunjukkan fraksi-fraksi pada kromatografi kolom adalah sebagai berikut: replikasi I berwarna jingga tua, replikasi II berwarna jingga, replikasi III berwarna kuning dan replikasi IV yang berwarna bening, maka dapat dikatakan semakin banyak replikasi yang dilakukan maka akan semakin menghilangkan warna hasil replikasinya (Giri, 2020).

Selanjutnya dilakukan metode fraksinasi, yang merupakan metode pemisahan komponen campuran yang berasal dari ekstrak hasil ekstraksi itu sendiri yang bertujuan untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama yang lainnya berdasarkan perbedaan kepolaran (Sastrohamidjojo, 1991). Pada penelitian yang dilakukan oleh (Giri, 2020), Proses Fraksinasi kembali menggunakan metode KLT untuk mengidentifikasi ada tidaknya alkaloid kinin dalam hasil fraksinasi kromatografi kolom lambat, dimana hal tersebut dikarenakan metode KLT juga dapat berguna untuk mencari eluen untuk kromatografi kolom, analisis fraksi yang diperoleh dari kromatografi kolom, identifikasi senyawa secara kromatografi, dan isolasi senyawa murni skala kecil.



Gambar 2. Identifikasi KLT Sebelum Disemprot Asam Sulfat 10%

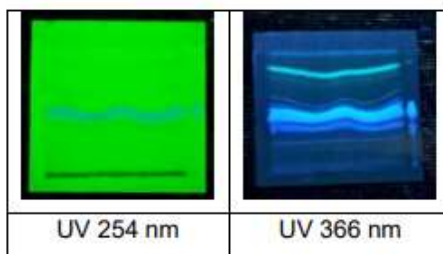
Sumber: (Giri, 2020)



Gambar 3. Identifikasi KLT Setelah Disemprot Asam Sulfat 10%

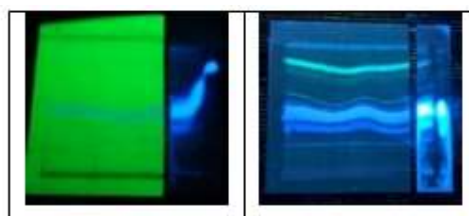
Sumber: (Giri, 2020)

Proses fraksinasi diawali dengan penotolan fraksi hasil kolom lambat dan standar kinin pada plat KLT, lalu dielusi dengan fase gerak kloroform : metanol (9:1) dan fase diam silika gel GF 254 dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm, sama seperti sebelumnya pada metode ini juga dilakukan penyemprotan pada plat dengan pereaksi asam sulfat 10% yang kemudian dilakukan penandaan spot pada bercak yang diduga memiliki kandungan alkaloid kinin didalamnya. Berdasarkan hasil yang didapatkan pada plat KLT setelah penyemprotan, bahwa bercak-bercak yang dihasilkan pada ketiga fraksi, teridentifikasi adanya kinin yang ditunjukkan dengan adanya fluoresensi biru intensif pada UV 366 nm (Eagleson, 1993).



Gambar 4. Identifikasi KLT Sebelum Disemprot Asam Sulfat 10%

Sumber: (Giri, 2020)



Gambar 5. Identifikasi KLT Setelah Disemprot Asam Sulfat 10%

Sumber: (Giri, 2020)

Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLT-P) dilakukan untuk pemurnian senyawa (Saidi, Ginting, dkk. 2018). Prinsip pemisahan dalam KLT-P yaitu didasarkan pada 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 (Giri, 2020).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Giri (2020), KLT-P diawali dengan melarutkan uji fraksinasi dan standar kinin kemudian ditotolkan bentuk pita. Sampel yang ditotolkan harus berbentuk pita yang sesempit mungkin karena baik tidaknya pemisahan juga bergantung pada lebar pita (Kristianti et al, 2008). Semakin sempit pita yang ditotolkan maka pemisahan akan semakin baik. Plat KLT-P dielusi dengan fase gerak kloroform : metanol (9:1) dan fase diam silika gel GF 254. Kemudian, diamati di UV 254 nm dan 366 nm. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa terdapat pendaran warna biru pada UV 366 nm, namun pada UV 254 nm tidak terdapat pendaran warna biru. Hal ini dikarenakan alkaloid kinin apabila dideteksi di bawah sinar UV 254 nm akan menghasilkan pemadaman bercak sehingga spot akan terlihat gelap sedangkan pada sinar UV 366 nm akan memberikan fluoresensi berwarna biru.



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

Selanjutnya plat dipotong 2 cm dari batas yang mengandung kinin kemudian disemprot dengan asam sulfat 10%, dan diamati kembali di UV 254 nm dan 366 nm. Penggunaan pereaksi semprot H_2SO_4 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_2SO_4 10%. Saat pengamatan dibawah sinar UV, ditandai bercak kinin dan dikerok silika plat KLT, kemudian diekstraksi dengan 1 mL metanol dan didiamkan selama 1 malam, disaring. Pengerokan seluruh pita dilakukan untuk mencegah terjadinya kesalahan ketika dilakukan identifikasi pita yang mengandung alkaloid kinin 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 (Giri, 2020).

Identifikasi alkaloid kinin hasil pemisahan KLT preparatif dengan metode KLT dan pereaksi semprot dilakukan untuk memastikan bahwa fraksi hasil pemisahan KLT-P mengandung senyawa yang diinginkan yaitu alkaloid kinin. Setelah plat disemprot dengan H₂SO₄ 10% terjadi perubahan pendaran warna pada UV 366 nm, yaitu pada sinar UV 366 nm bercak yang dihasilkan lebih banyak dari sebelum disemprotkan dengan H₂SO₄ 10%. Hal tersebut dapat terjadi karena H₂SO₄ 10% dapat meningkatkan intensitas fluoresensi senyawa kinin, sehingga bercak akan tampak lebih banyak setelah direaksikan (Pramesti et al, 2021). Kinin 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 (Giri, 2020).

Tabel 5. Sebelum Disemprot H₂SO₄ 10%

Sampel	UV 254 nm		UV 366 nm	
	Rf	hRf	Rf	hRf
A	0,3	30	0,3	30
B	0,3025	30,25	0,3	30
C	0,3	30	0,3125	31,25

Sumber: (Giri, 2020)

Tabel 6. Setelah Disemprot H₂SO₄ 10%

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

Sumber: (Giri, 2020)

Analisis kualitatif dilakukan juga dengan menghitung nilai Rf dan hRf fraksi yang akan dibandingkan dengan nilai Rf dan hRf standar kinin yang digunakan. Berdasarkan tabel 5 dan 6, diperoleh fraksi replikasi I dan replikasi II mengandung kinin karena menunjukkan hasil positif dimana hRf yang dihasilkan dari sebelum dilakukan dan setelah dilakukan penyemprotan H₂SO₄ 10% b/v yaitu 28,75 sampai 31,25. Nilai hRf ini telah berada pada rentang hRf kinin yaitu 25 sampai 35 (Giri, 2020).

Fraksi etil asetat yang positif mengandung kinin dan standar, selanjutnya diamati pada *TLC-scanner* dan dianalisis pada densitometer pada panjang gelombang 250 nm. Densitometri adalah metode analisis instrumental yang berdasarkan interaksi radiasi elektromagnetik dengan analit yang merupakan bercak atau noda pada lempeng KLT (Suharsanti dkk., 2020). Pengukuran kadar suatu senyawa dengan sistem Densitometri mode absorpsi dilakukan dengan mengukur serapan dari analit yang menyerap sinar UV sebab senyawa yang ditentukan kadarnya tidak berfluoresensi. Hasil yang diperoleh dengan menggunakan metode KLT-densitometri yaitu nilai Rf, spektrum dan AUC. Rf dan spektrum digunakan untuk analisis kualitatif sedangkan AUC dipergunakan untuk analisis kuantitatif (Pramesti et al, 2021).

Hasil dari proses pengukuran menggunakan densitometer tersebut ditemukan *peak* baik itu larutan uji standar kinin, dan larutan fraksinasi hasil KLT-P I dan II. Namun, pada penelitian ini sampel KLT-P II tidak terdeteksi pada instrumen dikarenakan proses penotolan yang semakin ke kanan menyebabkan jarak semakin berkurang sehingga jarak totalan 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 instrument (Giri, 2020). Sehingga, yang diperoleh hanya spektrum standar kinin dan standar hasil KLT-P I. Standar kinin memiliki konsentrasi sebesar 1 mg/mL atau setara dengan 1000 ng/ μ L dan kadar seri 1, 2, 3, 4, 5 berturut-turut yaitu 2000 ng, 4000 ng, 6000 ng, 8000 ng, 10000 ng. Kemudian, dapat dibuat kurva kalibrasinya (gambar 7). Nilai regresi linier yang diperoleh yaitu, $y = 0,610026x - 799,7167$. Nilai r^2 yang yang diperoleh yaitu 0,99660, maka persamaan regresi telah memenuhi persyaratan linieritas menurut Farmakope Indonesia Edisi VI (2020) yaitu nilai r^2 lebih besar atau sama dengan 0,98.

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

Sumber: (Giri, 2020)

Tabel 8. Penetapan Kadar Fraksi Hasil KLTP I

Sampel	Rf	AUC	Kadar Sampel (%)	Konsentrasi (mg/mL)
1	0,36	328,5	15,135%	0,3027
2	0,36	314,0	14,94	0,2988
3	0,39	379,5	15,83	0,3167
Rata- rata			15,30	0,3060

Sumber: (Giri, 2020)

Konsentrasi kinin pada sampel I; II; dan III berturut-turut adalah 0,3027 mg/mL; 0,2988 mg/mL; dan 0,3167 mg/mL, dengan konsentrasi rata-rata yaitu 0,3060 mg/mL. Selanjutnya dilakukan penetapan kadar kinin dalam sampel. Berdasarkan perhitungan, diperoleh kadar sampel I; II; dan III berturut-turut adalah 15,135%; 14,94%; dan 15,83%, dengan rata-rata kadar kinin yaitu 15,30% (Giri, 2020). Berdasarkan pustaka, kandungan kinin dalam kulit batang kina liar adalah 7% sedangkan untuk tanaman kina yang dibudidayakan dapat mengandung kadar alkaloid kinin sampai 15%. Sehingga dapat disimpulkan bahwa penetapan kadar kinin fraksi etil asetat replikasi I sudah sesuai dengan pustaka yaitu kadar alkaloid kinin yang diperoleh sebesar 15,30%.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil uji coba ekstraksi, identifikasi, dan kuantifikasi alkaloid dari serbuk simplisia kulit batang kina (*Cinchona succirubra*) diawali dengan ekstraksi metode sokletasi. Sokletasi adalah proses ekstraksi dengan jumlah pelarut yang relatif konstan yang pada umumnya dilarutkan dengan alat khusus (soklet). Uji skrining fitokimia dengan pereaksi Wagner pada larutan ekstrak uji terjadi endapan berwarna coklat yang menunjukkan hasil positif alkaloid. Pada ekstraksi cair-cair dengan tahapan defatting dan *purification* dihasilkan tiga fraksi yaitu fraksi air, fraksi etil asetat I, dan fraksi etil asetat II. Proses identifikasi alkaloid kinin dilakukan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang merupakan metode pemisahan campuran senyawa menjadi senyawa murninya dengan tujuan untuk mengetahui adanya alkaloid kinin pada setiap fraksi yang diperoleh dari ekstraksi cair-cair. Identifikasi dilakukan dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm. Penyemprotan pereaksi semprot larutan Asam Sulfat (H_2SO_4) 10% menghasilkan fluoresensi yang lebih kuat dan pengamatan dibawah sinar UV 366 nm warna spot yang dihasilkan menjadi lebih intensif atau lebih terang. Selain itu, dilakukan pemisahan preparatif dan pemurnian senyawa dengan metode kromatografi kolom lambat dan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLT-P). Hasil analisis kualitatif diperoleh fraksi replikasi I dan replikasi II mengandung kinin karena menunjukkan hasil positif dimana hRf yang dihasilkan dari sebelum dilakukan dan setelah dilakukan penyemprotan H_2SO_4 10% b/v yaitu 28,75 sampai 31,25. Nilai hRf tersebut telah berada pada rentang hRf kinin yaitu 25 sampai 35. Selanjutnya, dilakukan pengukuran kadar senyawa dengan densitometri. Densitometri adalah metode analisis instrumental yang berdasarkan interaksi radiasi elektromagnetik dengan analit yang merupakan bercak atau noda pada lempeng KLT. Pengamatan spektrum ditemukan *peak* baik pada larutan uji standar kinin, dan larutan fraksinasi hasil KLT-P I dan II. Hasil penetapan kadar kinin yang diperoleh pada fraksi etil asetat replikasi I sebesar 15,30%. Sehingga dapat disimpulkan, nilai kadar tersebut sudah sesuai dengan hasil uji coba pada tanaman kina yang dibudidayakan bisa mengandung kadar alkaloid kinin sebesar 15%.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, E, F Andiarna, N Lusiana, R Purnamasari, and M Hadi. 2018. "Identifikasi senyawa aktif dari ekstrak daun Jambu Air (*Syzygium aqueum*) dengan perbandingan beberapa pelarut pada metode Maserasi." *Jurnal Biotropic* 2 (2): 108-118.
- Cheon, T M, H G Cheong, J H Cho, and K S Kim. 2012. "Quinine Assay with Home-Built UV-LED Fluorometer: Quantitative Analysis, Photo-Bleaching, Fluorescence Quenching, and Urine Analysis." *Journal of the Korean Chemical Chemistry* 56 (5): 577-582.
- Depkes RI. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi Keempat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Eagleson, M. 1993. *Concise Encyclopedia Chemistry*. New York: Walter de Gruyter.
- Febrina, L, R Rusli, and F Muslihah. 2015. "Optimalisasi ekstraksi dan uji metabolit sekunder tumbuhan libo (*Ficus variegata* Blume)." *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry* 3 (2): 74-81.
- Gandjar, I G, and A Rohman. 2012. *Analisis Obat Secara Spektrofotometri dan Kromatografi*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Giri, G S. 2020. "Identifikasi dan Penetapan Kadar Senyawa Kuinin Fraksi Etil Asetat t Kulit Batang Kina (*Cinchona succirubra* Pav. Ex Klotzsch) Secara KLT-Densitometri." *Berkala Ilmiah Mahasiswa Farmasi Indonesia (BIMFI)* 7 (2): 1-12.
- Kemenkes RI. 2020. *Farmakope Indonesia*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kristianti, A V, S Aminah, M Tanjung, and B Kurniadi. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Airlangga University Press.
- McCalley, D V. 2002. "Analysis of The Cinchona Alkaloids By High-Performance Liquid Chromatography And Other Separation Techniques." *Journal of Chromatography* 967: 1-19.
- Nurhasnawati, H S, S Sukarmi, and F Handayani. 2017. "Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Bol (*Syzygium malaccense* L.)." *Jurnal Ilmiah Manuntung* 3 (1).

- Pasanda, O M, M Syahrir, S Indriati, A Fauzi, and C Adelia. 2021. "Ekstraksi Antioksidan Bawang Dayak (*Eleutherine Palmifolia*) ." *Seminar Nasional Hasil Penelitian & Pengabdian Kepada Masyarakat (SNP2M)*. 121-126.
- Pramesti, N K A, N P V G Putri, I A M L Dewi, M V Moreira, and L R Antarini. 2021. "Identifikasi dan Penetapan Kadar Alkaloid Kinin Ekstrak Kulit Batang Kina (*Cinchona succirubra*) secara KLT-Densitometri." *Jurnal Ilmiah Medicamento* 7 (2): 118-128.
- Raza, M A, F U Rehman, S Anwar, A Zahra, A Rehman, E Rashid, A Kalsoom, and H Ilahi. 2021. "The Medicinal and Aromatic Activities of Cinchona: A Review." *Asian Journal of Advances in Research* 8 (2): 42-45.
- Saidi, N, B Ginting, and Mustanir. 2018. *Analisis Metabolis Sekunder*. Syiah Kuala University Press.
- Salim, Z, and E Munadi. 2017. *Info Komoditi Tanaman Obat*. Jakarta: Badan Pengkajian dan Pengembangan Perdagangan Kementerian Perdagangan Republik.
- Sastrohamidjojo, S. 1991. *Kromatografi*. Yogyakarta: Liberty.
- Sayuti, M. 2017. "Pengaruh perbedaan metode ekstraksi, bagian dan jenis pelarut terhadap rendemen dan aktivitas antioksidan bambu laut (*Isis hippuris*)." *Technology Science and Engineering Journal* 1 (3): 166-173.
- Setyaningrum, M, and E Chayono. 2016. "Pemisahan Sitronelal Menggunakan Kromatografi Kolom dengan Fasa Diam Siklodekstrin Terasetilasi." *Indonesian Journal of Chemical Science* 5 (2): 81-85.
- Suharsanti, R, C Astutiningsih, and N D Susilowati. 2020. "Kadar Kurkumin Ekstrak Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica*) Secara KLT Densitometri Dengan Perbedaan Metode Ekstraksi." *Jurnal Wiyata: Penelitian Sains dan Kesehatan*, 7 (2): 86-93.
- Vifta, R L, and Y D Advistasari. 2018. "Skrining Fitokimia, Karakterisasi dan Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* B.)." *Prosiding Seminar Nasional Unimus*. 8-14.