

Pengembangan Metode Baru Analisis Zat Aktif Parasetamol Menggunakan Ekstrak Braktea Bougenvil (*Bougainvillea spectabilis* Chois.)

Development the New Method of Paracetamol Anaysis using Braktea Bougenvil Extract (Bougainvillea spectabilis Chois.)

¹Riri Indri Septiani, ²Hilda Aprilia, ³Esti Rachmawati Sadiyah

^{1,2,3}Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Jl. Tamansari No.1 Bandung 40116

email: ¹ririindriseptiiani@gmail.com, ²hilda.aprilia@gmail.com, ³esti_sadiyah@ymail.com

Abstract. The research was aimed to develop novel methods for paracetamol colorimetric analysis by using *Bougainvillea spectabilis* bract extract as a safe and natural chemical reagent. Fresh raw material and extracts was prepared for alkaloid screening test. Extraction was done by maceration, and the stability of the extract was tested on pH 3 and 8 for 3 weeks at a temperature of 5-15°C with or without light exposure. Optimization of reagent was prepared at a concentration of 0,1%; 0,2 0,3%; 0,4% and 0,5%. Accuracy, precision, linearity, limit of detection and quantitation limit was the validation parameter performed. The screening results showed that extracts and fresh bract positive contained alkaloids. At a concentration of 0,2% mixture of the extract solution with paracetamol gave optimum results with a maximum wavelength of 416 nm. Extract was more stable in acid condition with 1% ascorbic acid without exposure to light because it could maintain greatest color retention that was equal to 89.572% on extracts stability test. The requirement of analytical method validation with accuracy result 97,783%-99,035%; precision, RSD (Relativ Standard Deviation) 1,292%; and linierity, V_{x_0} 1,557%.

Keywords: colorimetric method, *Bougainvillea spectabilis*, paracetamol, validation.

Abstrak. Penelitian ini bertujuan untuk dapat dikembangkan metode baru analisis kolorimetri parasetamol dengan memanfaatkan ekstrak braktea *Bougainvillea spectabilis* sebagai pereaksi kimia alami yang lebih aman. Simplisia segar dan ekstrak disiapkan untuk uji penapisan alkaloid. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi, dan hasil ekstrak diuji stabilitasnya pada pH 3 dan 8 selama 3 minggu pada suhu 5-15°C dengan atau tanpa paparan cahaya. Optimasi reagen dilakukan pada konsentrasi 0,1%; 0,2%; 0,3%; 0,4% dan 0,5%. Parameter validasi metode yang dilakukan yaitu akurasi, presisi, linieritas, batas deteksi, dan batas kuantitasi. Hasil penapisan menunjukkan bahwa ekstrak dan braktea segar positif mengandung alkaloid. Pada konsentrasi 0,2% campuran larutan ekstrak dengan parasetamol memberikan hasil yang optimum dengan panjang gelombang maksimum 416 nm. Ekstrak lebih stabil pada suasana asam dengan penambahan asam askorbat 1% tanpa paparan dari cahaya karena dapat mempertahankan (retensi) warna paling besar yaitu sebesar 89,572% pada uji stabilitas ekstrak. Berdasarkan hasil validasi metode analisis, metode ini dapat digunakan karena memberikan hasil yang baik dengan nilai akurasi pada rentang 97,783%-99,035%; presisi dengan nilai Simpangan Baku Relatif (SBR) sebesar 1,292%; dan linieritas dengan nilai V_{x_0} (koefisien variansi) sebesar 1,557%.

Kata Kunci : Metode kolorimetri, *Bougainvillea spectabilis*, parasetamol, validasi.

A. Pendahuluan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Killedar, dkk (2014) metode kolorimetri menggunakan ekstrak braktea *Bougainvillea spectabilis* telah dikembangkan untuk analisis senyawa kelompok amida yaitu lidokain dan ranolazin. Metode ini berdasarkan prinsip bahwa kelompok amida yang memiliki pasangan elektron bebas pada atom nitrogen akan berkontribusi dalam pembentukan warna antara amida dan pigmen warna yang diperoleh dari braktea *Bougainvillea spectabilis*. Pada penelitian ini dilakukan pengembangan metode baru dengan konsep *green analytical chemistry* untuk kelompok senyawa amida yang lain yaitu parasetamol menggunakan ekstrak dari braktea *Bougainvillea spectabilis* dengan metode kolorimetri. Tujuan dari penelitian ini adalah dapat dikembangkan metode baru analisis parasetamol dengan memanfaatkan ekstrak braktea *Bougainvillea spectabilis* sebagai pereaksi kimia alami yang lebih aman.

B. Landasan Teori

Green Analytical Chemistry (GAC) berawal dari *Green Chemistry* pada tahun 2000. Penggunaan teknik kimia analitik dan metodologi yang mengurangi atau menghilangkan pelarut peraksi, pengawet dan bahan kimia lainnya yang berbahaya bagi kesehatan manusia atau lingkungan dan memungkinkan energi yang lebih efisien tanpa mengorbankan kriteria kinerja yang diperlukan disebut dengan *Green Analytical Chemistry* (Namieśnik, 2000:221-269).

Bougainvillea spectabilis berasal dari suku Nyctaginaceae yang dikenal sebagai tanaman hias, umumnya dikenal sebagai “bunga kertas” karena brakteanya tipis dan mirip kertas (Saifuddin, dkk, 2010:1). Bunganya berwarna putih dan masing-masing bunga dikelilingi oleh tiga atau enam braktea dengan warna-warna cerah seperti merah, ungu, merah muda, dll yang berasal dari pigmen betalain (Chang dan Chen, 2002:217-218). Betalain merupakan kelompok pemberi warna dari pigmen alkaloid. Komponen ini terdapat pada bunga, buah, daun atau umbi yang memberikan warna antara kuning dan merah-ungu (Cordell, 1981:311-313).

Parasetamol mengandung tidak kurang dari 98% dan tidak lebih dari 101,0% $C_6H_9NO_2$. Pemerian dari parasetamol adalah berupa serbuk hablur, putih tidak berbau, rasa sedikit pahit. Parasetamol ini memiliki kelarutan dalam air panas, dalam natrium hidroksida 1 N dan mudah larutan dalam metanol, etanol. Parasetamol dapat menyerap panjang gelombang pada 244 nm (Depkes RI, 1995: 649).

C. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Tahapan pertama dalam penelitian ini adalah pengumpulan braktea bougenvil segar dipetik dari batangnya kemudian dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan pasir, tanah, kerikil, serta pengotor lain yang meleket agar tidak terjadi kontaminasi pada bahan yang dapat mengganggu proses analisis. Proses selanjutnya dilakukan perajangan dan pengeringan yang dilakukan dengan cara diangin-anginkan tanpa pemanasan untuk mencegah kerusakan kandungan.

Penapisan Alkaloid

Penapisan alkaloid menggunakan reagen Mayer dan Dragendorf merupakan tahap awal untuk mengetahui secara kualitatif kandungan alkaloid yang terdapat dalam sampel tumbuhan, baik dalam bentuk simplisia maupun ekstrak. Penapisan tersebut dilakukan terhadap braktea segar dan ekstrak braktea bougenvil. Hasil penapisan alkaloid menunjukkan endapan putih pada reagen Mayer dan endapan merah bata pada

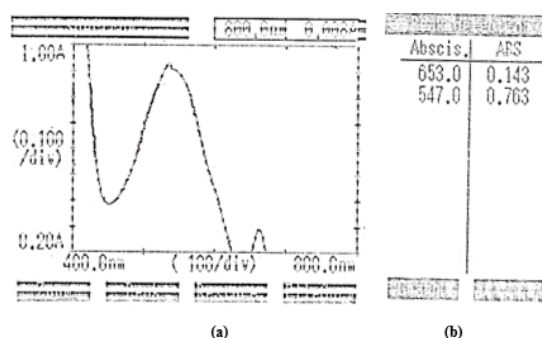
reagen Dragendorf. Hal tersebut menunjukkan pada sampel braktea segar dan ekstrak braktea bougenvil mengandung alkaloid. Hal ini sesuai dengan Cronquist (1981:897) bahwa secara umum tumbuhan Nyctagynaceae mengandung alkaloid dan sesuai yang diharapkan dalam penelitian yang dilakukan.

Ekstraksi

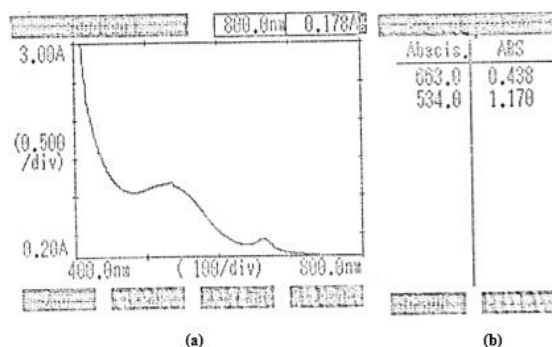
Untuk mendapatkan ekstrak alkaloid dari braktea bougenvil dilakukan metode maserasi. Ekstraksi bertujuan untuk melarutkan zat yang terkandung menggunakan pelarut yang sesuai. Simplisia segar sebanyak 100 gram dimaserasi selama 24 jam menggunakan 1% HCl dalam metanol selama 24 jam. Digunakan pelarut HCl dalam metanol dimaksudkan untuk menarik senyawa alkaloid bebas di dalam suasana asam sehingga dapat terlarut dalam bentuk garamnya. Setelah itu maserat dipekatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 40°C agar tidak merusak kandungan senyawa di dalam ekstrak dan didapatkan ekstrak kental sebanyak 12,46 mL. *Rotary vacuum evaporator* mampu menguapkan pelarut pada suhu rendah di bawah titik didih pelarut, karena adanya kondisi vakum. Ekstrak yang sudah dipekatkan kemudian didekantasi yaitu proses pemisahan campuran dengan cara didiamkan sampai mengendap menggunakan campuran dietil eter dan petroleum eter dengan perbandingan 2:1. Penambahan dietil eter dan petroleum eter (Killedar, dkk, 2014:561-563) dimaksudkan untuk memisahkan senyawa-senyawa non polar atau lemak dari ekstrak. Selanjutnya ekstrak dimasukkan ke dalam desikator untuk mencegah penyerapan air oleh ekstrak.

Analisis larutan ekstrak

Larutan ekstrak braktea bougenvil dianalisis menggunakan spektrofotometer di daerah sinar tampak (400-800nm) pada pH 3 dan 8. Sebanyak 0,05 gram ekstrak dilarutkan di dalam 10 mL metanol pada pH 3 yaitu pH ekstrak sedangkan pada pH 8 digunakan penambahan 0,1 M NaOH . Hasil penentuan panjang gelombang maksimum pada pH 3 adalah 547 nm sedangkan pada pH 8 adalah 534 nm digunakan untuk perbandingan suasana asam dan basa pada uji stabilitas. Hasil dari analisis larutan ekstrak dapat dilihat pada **Gambar 1 dan 2**.



Gambar 1.Spektrum penentuan panjang gelombang ekstrak 0,5% (b/v) pada pH 3 (a) Spektrum; (b) Nilai absorbansi



Gambar 2.Spektrum penentuan panjang gelombang ekstrak 0,5% (b/v) pada pH 8 (a) Spektrum; (b) Nilai absorbansi

Uji Stabilitas

Uji stabilitas dilakukan untuk mengetahui masa simpan ekstrak yang akan digunakan sebagai reagen. Uji stabilitas dilakukan pada pH 3 yaitu pH ekstrak *B.spectabilis* dan pH 8 dengan penambahan asam askorbat berbagai konsentrasi sebagai antioksidan yaitu pada konsentrasi 0,1%; 0,5%; 1% dan tanpa penambahan antioksidan sebagai kontrol selama 3 minggu. Hasil dari uji stabilitas dapat dilihat pada **Tabel 1 dan 2**.

Tabel 1. Hasil uji stabilitas ekstrak 0,05 gram/10 mL methanol pada pH 3 di panjang gelombang 547 nm, dengan atau tanpa cahaya

<u>Konsentrasi Asam Askorbat</u>	<u>Absorbansi Pada Penyimpanan Suhu 5-15°C (Terpapar Cahaya)</u>				<u>Retensi Warna</u>
	<u>Minggu ke-0</u>	<u>Minggu ke-1</u>	<u>Minggu ke-2</u>	<u>Minggu ke-3</u>	
1%	0,777	0,734	0,686	0,676	87,700%
0,5%	0,743	0,701	0,640	0,595	80,080%
0,1 %	0,760	0,686	0,649	0,543	71,447%
0	0,737	0,627	0,582	0,506	68,656%

<u>Konsentrasi Asam Askorbat</u>	<u>Absorbansi Pada Penyimpanan Suhu 5-15°C (Tidak Terpapar Cahaya)</u>				<u>Retensi Warna</u>
	<u>Minggu ke-0</u>	<u>Minggu ke-1</u>	<u>Minggu ke-2</u>	<u>Minggu ke-3</u>	
1%	0,748	0,695	0,675	0,670	89,572%
0,5%	0,750	0,727	0,656	0,549	73,200%
0,1 %	0,743	0,719	0,646	0,536	72,139%
0	0,753	0,661	0,579	0,475	63,081%

Tabel 2. Hasil uji stabilitas ekstrak 0,05 gram/10 mL methanol pada pH 8 di panjang gelombang 534 nm, dengan atau tanpa cahaya

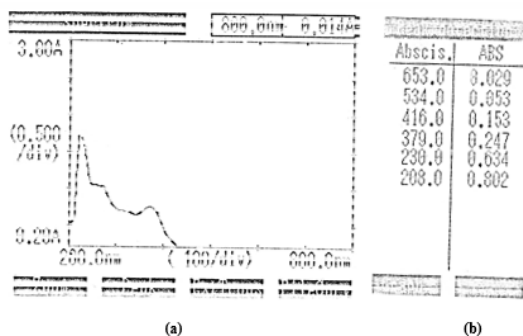
Konsentrasi Asam Askorbat	Absorbansi Pada Penyimpanan Suhu 5-15°C (Terpapar Cahaya)				Retensi Warna
	Minggu ke-0	Minggu ke-1	Minggu ke-2	Minggu ke-3	
1%	2,032	1,936	0,952	0,722	31,364%
0,5%	1,975	1,324	0,845	0,593	30,025%
0,1%	1,799	1,364	0,830	0,505	28,071%
0	1,777	0,847	0,691	0,450	25,323%

Konsentrasi Asam Askorbat	Absorbansi Pada Penyimpanan Suhu 5-15°C (Tidak Terpapar Cahaya)				Retensi Warna
	Minggu ke-0	Minggu ke-1	Minggu ke-2	Minggu ke-3	
1%	1,338	1,299	0,952	0,640	47,832%
0,5%	1,301	1,265	0,950	0,572	43,966%
0,1%	1,213	1,099	0,934	0,469	38,664%
0	1,189	0,922	0,830	0,403	33,894%

Diketahui ekstrak pH 3 dengan penambahan asam askorbat pada konsentrasi 1% suasana gelap dapat mempertahankan (retensi) warna paling besar dibandingkan dengan yang lain yaitu sebesar 89,572%, sedangkan ekstrak dengan penambahan asam askorbat 1% pada pH 8 hanya dapat mempertahankan retensi warna sebesar 31,364% pada suasana terang dan 47,832% pada suasana gelap. Sehingga dapat diketahui ekstrak lebih stabil dengan penambahan asam askorbat 1% pada suasana asam dan gelap dibandingkan pada suasana basa. Hal ini sesuai dengan sifat alkaloid yang lebih stabil dalam bentuk garam, tidak tahan panas dan mudah teroksidasi (Cordell, 1981;9).

Optimasi Reagen

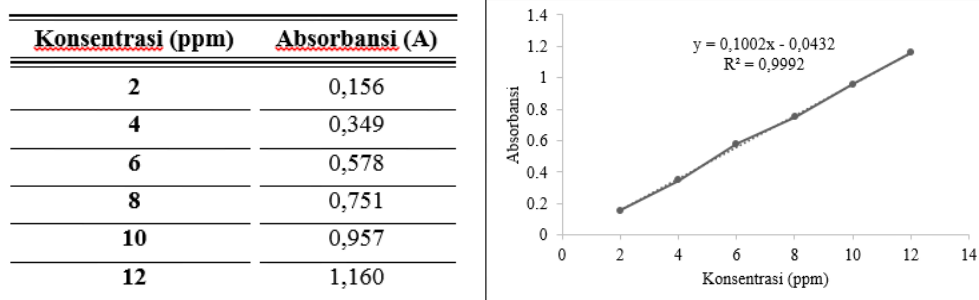
Dari uji stabilitas, optimasi reagen dilakukan menggunakan larutan ekstrak pada pH 3 karena lebih stabil disuasana asam digunakan berbagai konsentrasi yaitu pada 0,1%; 0,2%; 0,3%; 0,4% dan 0,5% disiapkan dalam metanol. Sebanyak 1 mL larutan standar bahan baku parasetamol dengan konsentrasi 20 ppm ditambahkan ke dalam labu ukur 10 mL. Ke dalam larutan ini ditambahkan masing-masing larutan ekstrak berbagai konsentrasi sebanyak 1mL dan di *add* menggunakan metanol sehingga membentuk kompleks warna ungu-kecoklatan. Semua larutan diidentifikasi panjang gelombang maksimumnya dari 200-800 nm. Hasil optimasi reagen dapat dilihat pada **Gambar 3**.

**Gambar 3.** Optimasi reagen menggunakan 1 mL ekstrak pada konsentrasi 0,2% dalam 1 mL parasetamol (2ppm) (a) Spektrum; (b) Nilai absorbansi

Berdasarkan hasil tersebut didapatkan bahwa larutan ekstrak 0,2% (b/v) memberikan hasil yang optimum dalam pembentukan kompleks warna reagen dengan parasetamol dengan panjang gelombang maksimum 416 nm.

1. Kurva Kalibrasi

Panjang gelombang maksimum yang diperoleh saat terbentuk kompleks parasetamol dengan reagen ekstrak braktea bougenvil kemudian digunakan untuk pembuatan linieritas parasetamol dengan reagen ekstrak braktea bougenvil yang dibuat pada 6 konsentrasi sehingga diperoleh persamaan regresi linier $y=0,1002x-0,0432$ dengan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,9992. Nilai koefisien yang diperoleh menunjukkan hasil yang baik karena mendekati nilai 1. Hasil kurva kalibrasi parasetamol dengan reagen ekstrak *B.spectabilis* 0,2% pada 416 nm ditunjukkan pada **Gambar 4**.



Gambar 4. Kurva Kalibrasi

Validasi Metode

Kinerja analitik dilakukan untuk membuktikan bahwa prosedur yang dilakukan mendapatkan hasil yang valid. Kinerja analitik yang dilakukan yaitu limit deteksi, limit kuantitasi, presisi serta akurasi.

1. Akurasi (Kecermatan)

Penentuan kecermatan dilakukan dengan mengukur parasetamol dalam reagen ekstrak braktea bougenvil pada konsentrasi 8 ppm, 10 ppm dan 12 ppm, pengukuran dilakukan dengan membuat masing-masing sebanyak 3 konsentrasi. Rata-rata perolehan kembali analit harus berada pada rentang 98-102% pada tiap konsentrasi. Nilai persen perolehan kembali dengan konsentrasi 8; 10; dan 12 ppm dapat diperoleh nilai rata-rata persen perolehan kembali yakni masing-masing 97,783%; 98,320%; dan 99,035%. Persen perolehan kembali tersebut mendekati batas 98-102% sehingga metode dapat digunakan untuk analisis.

2. Presisi (Keseksamaan)

Penentuan keseksamaan dilakukan dengan mengukur larutan parasetamol dalam reagen ekstrak braktea bougenvil pada konsentrasi 8 ppm, pengukuran dilakukan dengan membuat masing-masing sebanyak 6 konsentrasi dengan nilai SBR 1,292%. Hasil tersebut sesuai dengan literatur yaitu simpangan baku relatif tidak lebih dari 2% (Harmita, 2004:122).

3. Linieritas

Dari hasil penelitian, dengan konsentrasi 2; 4; 6; 8; 10 dan 12 ppm dapat diperoleh nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,9992. Nilai koefisien yang diperoleh menunjukkan hasil yang baik karena mendekati nilai 1. Sedangkan nilai koefisien variansi (V_{x_0}) sebesar 1,557%. Nilai koefisien variansi (V_{x_0}) yang diperoleh menunjukkan hasil yang baik karena kurang dari 2%.

4. Limit deteksi dan limit kuantitasi (LOD dan LOQ)

Limit deteksi bertujuan untuk mengetahui batas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat dideteksi, sedangkan limit kuantitasi bertujuan untuk mengetahui batas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat dideteksi dan juga memenuhi kriteria cermat dan seksama. Limit deteksi dan limit kuantitasi didapatkan dari nilai absorbansi linieritas. Batas analit terkecil dalam sampel yang masih dapat dideteksi oleh spektrofotometer sinar tampak yang digunakan adalah 0,329 ppm dan hasil pengukuran yang masih memenuhi kriteria cermat dan seksama adalah 1,097 ppm.

D. Kesimpulan

1. Hasil penapisan pada ekstrak dan braktea segar positif mengandung alkaloid.
2. Pada konsentrasi 0,2% campuran ekstrak dengan parasetamol memberikan hasil yang optimum pada optimasi reagen dengan panjang gelombang maksimum 416 nm.
3. Ekstrak lebih stabil pada suasana asam dengan penambahan asam askorbat 1% tanpa paparan dari cahaya karena dapat mempertahankan (retensi) warna paling besar yaitu sebesar 89,57% pada uji stabilitas ekstrak.
4. Berdasarkan hasil validasi analisis, metode ini dapat digunakan karena nilai akurasi dan presisi yang baik.

Daftar Pustaka

- Chang, Y.S.,Chen, H.C.(2001).variability between silver thiosulfe and 1-naphthaleneacetic acid application: in prolonging bract longevity of potted bougainvillea. *Scientia Horticulture*. 87
- Cronquist,A. (1981). *An integrated System Of Clasiffication Of Flowering Plants*. New York:Colombia University Press
- Cordell,G.A.(1981). *Intruduction to Alkaloids:A:Biogenetic Approach*,A Qilley Interscience Publication, Newyork
- Departemen Kesehatan RI. (1995). *Farmakope Indonesia edisi IV*. Jakarta: Depkes RI
- Harmita.(2004). *Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya*.Vol.I No 3. Majalah Ilmu Kefarmasian
- Killedar, S., Anuja, P., Sameer, N., Ashwini, N., Umarfarukh, T., Sachin,P.(2014). Novel analytical method development for some amide group containingdrugs using Bougainvillea spectabilis bract extracts;*Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, India.
- Namieśnik,J.,Spietelun,A.,Marcinkowski,L.(2000).Trends in environmental analytics and monitoring.*Crit. Rev.Anal. Chem.* 30 221–269.
- Saifuddin, M., Hossain, A.M.B., Normaniza.(2010). Impacts of shading onflower formation andlongevity, leaf chlorophyll and growth ofBougainvillea glabra. *Asian J Plant Sci*; 9: 20-27.