

PENGARUH METODE EKSTRAKSI TERHADAP PEROLEHAN KEMBALI CANNABINOID DARI DAUN GANJA

Ketut Widnyani Astuti

Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana, Bukit Jimbaran,
Badung, 80363, Indonesia (E-mail : ketutwidnyani@yahoo.com)

ABSTRACT

A research on influence of extraction method to rendement of cannabinoid compounds in cannabis leaves had been conducted. The purpose of this research was to find an extraction method that could gain rendement of cannabinoid compounds. Cannabinoids of cannabis leaves was extracted by maceration and soxhletation method using petroleum ether as solvent. Concentrated extract was spotted HPTLC Si 60 GF 254. Plates were eluted with hexane-diethyleter (80:20,v/v) in ascending twin chamber. Each peak was scanned on Camag TLC Scanner III and identification of each insitu spectra were based on Rf and library spectra thus confirmed by colour test with Fast Blue B salt. The results showed that maceration method gain a better rendement than soxhletation to identify the CBN, THC and CBD content in cannabis leaves. Ratio of CBN: (CBD+THC) from maceration method were 1 : 21 meanwhile percentage ratio of THC to CBD were 1 : 266. CBD can not be detected in soxhletation method.

Keywords : cannabinoides, Al-TLC, HPTLC, spectrophotodensitometry, extration.

PENDAHULUAN

Dalam identifikasi kualitatif cannabis, biasanya ditetapkan kandungan cannabinoida mayor yaitu: tetrahydrocannabinol (Δ -9-THC), prekursor (cannabidiol /CBD), dan bentuk urainya yaitu cannabinol (CBN). Analisis konsentrasi dan penghitungan ratio dari ketiga cannabinoida mayor sejak tahun 1970-an telah digunakan untuk mengeksplorasi taksonomi dan perbedaan varietas cannabis [1]. Nisbah kadar CBD terhadap jumlah kadar CBN dan THC digunakan untuk membedakan asal tanaman cannabis [2] sedangkan ratio persentase THC terhadap persentase CBD digunakan untuk menentukan fenotip dari Cannabis [3,4]

Metode ekstraksi diduga akan berpengaruh pada rendement ketiga cannabinoid utama tersebut sehingga mempengaruhi hasil akhir *drug profiling* daun ganja. Dalam hal ini diperlukan suatu metode ekstraksi yang dapat menarik CBN, CBD dan THC dengan baik agar dapat dilakukan identifikasi kualitatif terhadap konsentrasi dan ratio dari ketiga cannabinoid tersebut. Maserasi merupakan metode ekstraksi dengan cara perendaman tanpa melibatkan panas sedangkan soxhletasi merupakan metode ekstraksi dengan pelarut yang mengalir dan menggunakan panas. Perbedaan perolehan CBN, CBD dan THC karena metode maserasi dan soxhletasi perlu diteliti.

CBN, CBD dan THC dapat dideteksi dengan teknik kromatografi lapis tipis (KLT) dan HPTLC dengan silika gel sebagai fase diam, heksan-dietil eter (80 :20, v/v) sebagai fase gerak dan garam *Fast Blue B* sebagai pereaksi penampak noda [5]. Keunggulan kinerja teknik "High Performance Thin Layer Chromatography" (HPTLC) dibandingkan dengan

plat KLT memungkinkan melakukan analisis dengan limit deteksi dan spesifisitas yang lebih tinggi [6,7]. Selain itu, teknik HPTLC memiliki daya pisah dan resolusi yang lebih tinggi serta membutuhkan jarak pengembangan dan cairan pengelusi yang lebih sedikit dibandingkan dengan KTL konvensional. Hal ini menyebabkan teknik HPTLC mulai dikembangkan untuk keperluan analisis secara luas, khususnya dalam analisis toksikologi forensik [6,7,8].

MATERI DAN METODE

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah petroleum eter teknis, toluen teknis heksan pa, dietil ether pa, penampak noda *Fast Blue B*, aquadest dan plat HPTLC Si G 60 F254 (Merck-Darmstadt-Germany).

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun ganja yang didapatkan dari Laboratorium Kimia Forensik Mabes Polri Cabang Denpasar.

Alat yang digunakan meliputi alat-alat gelas, timbangan analitik, seperangkat alat soxhlet, rotary vacuum evaporator, tabung eppendorf, Camag- twin chamber), oven (Memmert), nanomat IV, *TLC-Scanner 3* (Camag-Muttentz-witserland), alat sentrifugasi (Mikro centrifuge-Clements), alat soxhletasi dan alat penyemprot (TLC sprayer Camag-Muttentz-Switzerland).

Metode Penelitian

Proses Maserasi Simplisia

Diambil sampel serbuk kering daun 500 mg. Sampel dimasukkan kedalam erlenmeyer yang berbeda lalu ditambahkan 15 ml pelarut Petroleum Eter dan tutup dengan Plastik wrap. Dimaserasi selama 24 jam, kemudian ekstrak disaring dengan menggunakan corong gelas dan kertas saring. Ekstrak diuapkan dengan menggunakan alat evaporator pada suhu 50°C.

Ekstrak kental ditambahkan 1 ml toluene, ekstrak dilarutkan dengan pengocok ultrasonik. Dimasukkan kedalam labu eppendorf, kemudian volume akhir ekstrak diukur. Untuk memisahkan air yang terbawa dalam ekstrak, dengan pelarut organik, ekstrak total dalam ependorf disentrifuge pada 3500 rpm selama 10 menit. Bagian/pelarut organik dipindahkan ketempat yang berbeda. Dicatat volume filtrat yang diperoleh.

Proses Soxhletasi Simplisia

Sampel ganja yang sudah dihaluskan dibungkus dengan kertas saring lalu dimasukkan ke dalam tabung soxhlet dan ditambahkan pelarut petroleum eter ke dalam labu (volume pelarut yang ditambahkan adalah sejumlah 2x volume tabung atau 210 ml. Alat soxhlet dihidupkan dan diatur suhu pada 40°C. Sampel diekstraksi hingga 5-6 kali putaran aliran pelarut. Ekstrak yang diperoleh ditampung di dalam erlenmeyer kemudian disaring menggunakan corong gelas dan kertas saring. Ekstrak kemudian diuapkan dengan alat evaporator pada suhu 50°C hingga pelarutnya menguap semua. Ekstrak kental yang diperoleh kemudian ditambahkan 1 mL toluen pa dan dimasukkan ke dalam tabung eppendorf. Tabung disentrifuga pada kecepatan 3500 rpm

selama 10 menit. Fase atas dipipet dan dipindahkan ke tabung eppendorf lain. Hasil yang diperoleh dicatat volumenya.

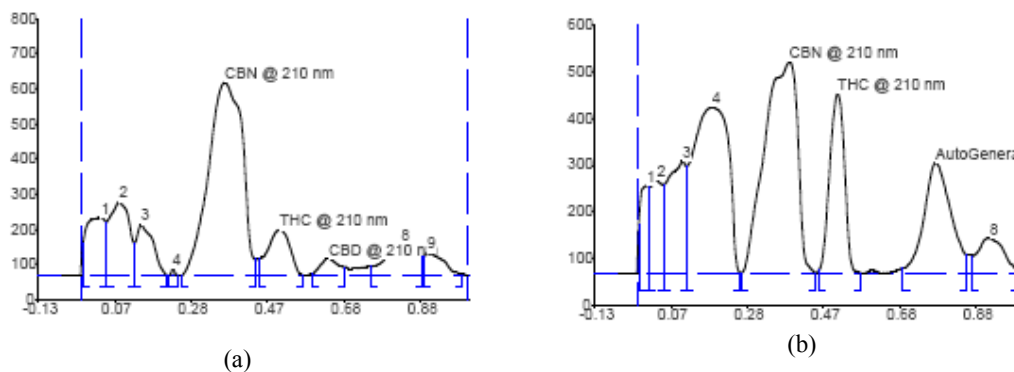
Proses identifikasi dengan Metode HPTLC – Spektrodensitometri.

Proses identifikasi dilakukan dengan HPTLC Spektrofotodensitometri. Dilakukan identifikasi CBD, CBN, dan THC dengan menggunakan sistem heksan-dietil eter (80 :20, v/v), dengan fase diam yaitu HPTLC Si G 60 F254. Sampel sebanyak 3 µl sampel ditotolkan pada plat, kemudian dielusi pada bejana pengelusi yang telah jenuh. Plat yang telah dielusi, dirajah dengan TLC-Scanner pada 210 nm. Spektrum masing-masing puncak kromatogram dirajah secara *in situ* pada panjang gelombang 190 - 400 nm.

Plat disemprot dengan penampak noda Fast Blue B. Reagen tersebut akan memberikan warna *Orange-red* untuk CBD, *Violet* untuk CBN dan *purple* untuk THC. Perhitungan nilai *h_{Rf}* dan perbandingan spektrum dilakukan dengan menggunakan program WinCATS. Hasil yang diperoleh dibandingkan dengan pustaka, sehingga dapat dipastikan bahwa analit tersebut merupakan senyawa CBD, CBN dan THC [5,9].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil identifikasi yang telah dilakukan, maka dapat diketahui posisi senyawa CBN, THC dan CBD pada masing-masing kromatogram seperti yang ditunjukkan pada gambar 1.



Gambar 1. Identifikasi puncak-puncak cannabinoid ekstrak daun ganja dengan metode maserasi (a) dan metode soxhletasi (b)

Dari gambar 1 terlihat bahwa CBN, THC dan CBD terdeteksi pada dengan baik pada ekstrak yang diperoleh dengan metode maserasi sedangkan pada ekstrak yang diperoleh dengan metode soxhletasi, cannabinoid yang terdeteksi hanya CBN dan THC. Pada analisis kualitatif identifikasi daun ganja diperlukan rasio konsentrasi CBN, CBD dan THC.

Nisbah kadar CBD terhadap jumlah kadar CBN dan THC digunakan untuk membedakan asal tanaman cannabis [2] sedangkan ratio %THC terhadap % CBD digunakan untuk menentukan fenotip dari Cannabis [3,4]. Pada tabel 1 dapat dilihat perbandingan perolehan kembali berdasarkan

persentase AUC antara metode maserasi dan soxhletasi.

Tabel 1. Perbandingan komposisi cannabinoid berdasarkan luas AUC antara metode maserasi dan soxhletasi

Komposisi Cannabinoid	Luas AUC metode maserasi	Persentase cannabinoid metode maserasi	Luas AUC metode soxhletasi	Persentase cannabinoid metode soxhletasi
CBD	2.133,2	4,5 %	-	-
THC	8,02	0,017 %	13.836,1	27,75 %
CBN	44.798,5	95,483 %	36.021,7	72,25 %
Total	46.993,72	100 %	49.857,8	100 %

Dari tabel 1 terlihat CBN terekstraksi lebih banyak dengan ekstraksi metode maserasi sedangkan CBD tidak diperoleh pada ekstrak dengan metode soxhletasi. Total AUC dari ketiga puncak dapat dijadikan sebagai data untuk sederhana untuk menghitung jumlah total cannabinoid mayor yang terekstraksi dari kedua metode ekstraksi yg ditampilkan. Dari hasil penelitian ini terlihat bahwa metode ekstraksi berpengaruh pada perbedaan kandungan ketiga cannabinoid utama dalam rendemen. Analisa kandungan cannabinoid utama yang bertujuan untuk perunutan fenotif dan tempat tumbuh harus memperhatikan metode ekstraksi sehingga kehilangan alkaloid utamanya selama ekstraksi dapat dicegah.

Tempat tumbuh dari Cannabis dapat ditelusuri apabila tersedia data mengenai nisbah kandungan cannabinoidnya. Nisbah kadar CBD terhadap jumlah kadar CBN dan THC dari hasil maserasi adalah 1 : 21 sedangkan dari hasil soxhletasi tidak dapat ditentukan karena tidak diperolehnya CBD pada metode tersebut. Ratio persentase THC terhadap persentase CBD dari hasil maserasi adalah 1 : 266 sedangkan dari hasil soxhletasi tidak dapat ditentukan karena tidak diperolehnya CBD pada metode tersebut.

Fenotipe dari *Cannabis sativa* dapat dikarakterisasi berdasarkan nisbah dari kandungan (THC+CBN)/CBD. Fenotipe cannabis dikategorikan sebagai obat (psikoaktif) apabila nilai ratio tersebut lebih besar dari 1, namun bila ratio kurang dari 1 dikelompokkan ke dalam fenotipe cannabis untuk produksi serat [10]. Dari data diatas terlihat bahwa nisbah (THC+CBN)/CBD dari sampel adalah 21 (lebih besar dari satu sehingga sampel dapat digolongkan fenotipe Cannabis sebagai obat (psikoaktif).

KESIMPULAN

Ekstraksi menggunakan petroleum eter dengan metode maserasi lebih baik dibandingkan soxhletasi untuk mengekstraksi cannabinoid dari daun ganja. Nisbah kadar CBD terhadap jumlah kadar CBN dan THC dari hasil maserasi adalah 1 : 21 sedangkan dari hasil soxhletasi tidak dapat ditentukan karena tidak diperolehnya CBD pada metode tersebut. Ratio persentase THC terhadap persentase CBD dari hasil maserasi adalah 1 : 266 sedangkan dari hasil soxhletasi tidak dapat ditentukan karena tidak diperolehnya CBD pada metode tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Tindall, et. al., (2005), *Cannabis: Methods of Forensic Analysis*, in Handbook of Forensic Drug Analysis, Elsevier Academic Press.
- [2] Davis T. W. M., C. G. Farmilo, Mirosław, Osadchuk, (1963), Identification and Origin Determinations of Cannabis by Gas and Paper Chromatography. *Anal. Chem.*, 1963, 35 (6), pp 751-755
- [3] Small, E., H. D. Beckstead, and A. Chan. (1975). The evolution of cannabinoid phenotypes in *Cannabis*. *Economic Botany* 29: 219-232.
- [4] Small E. and H.D. Beckstead, (1973). Common cannabinoid phenotypes in 350 stocks of *Cannabis*. *Lloydia* 36: 144-165.
- [5] Susanti, N.M.P., Identifikasi Kandungan Cannabinoid Dalam Ekstrak Batang Ganja Dengan Metode Al-TLC Dan HPTLC Spectrophotodensitometry. *Indonesian Journal Of Legal And Forensic Sciences* 2012; 2(1): 17-20 . [Http://Ejournal.Unud.Ac.Id/New/Detail-39-61-Indonesian-Journal-Of-Legal-And-Forensic-Sciences-Ijlf.html](http://Ejournal.Unud.Ac.Id/New/Detail-39-61-Indonesian-Journal-Of-Legal-And-Forensic-Sciences-Ijlf.html)
- [6] Antonilli, A., et al. (2001), Analysis of cocaethylene, benzoylecgonine and cocaine in human urine by high-performance-thin-layer chromatography with ultraviolet detection: a comparison with high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr. B*, (751), 19-27.
- [7] Sharma, S. P., B.C. Purkait, and S.C. Lahiri, (2005), Quatitative and quantitative of seized street drugs samples and indentification of source, *Forensic Sci. Int.*, (152), 235-240
- [8] Yonamine, M. and M.C. Sampaio, (2006), A high-performance thin-layer chromatographic technique to screen cocaine in urine samples, *Legal Medicine* (8), 184-187
- [9] Galland. N, et al., (2004), Separation and Identification of cannabis Components by Diference Planar Chromatography Technique (*TLC, AMD, OPLC*). *Journal of Chromatographic Science*.
- [10] Lachenmeier, D.W., and Walch, S.G., (2005), Analysis and toxicological evaluation of Cannabinoids in hemp food products - a review, *EJEAFCh*, 4(1), 812-826.