IDENTIFIKASI KANDUNGAN CANNABINOID DALAM EKSTRAK BATANG GANJA DENGAN METODE Al-TLC DAN HPTLC SPECTROPHOTODENSITOMETRY

Ni Made Pitri Susanti

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

ABSTRACT

A research of identification of cannabinoid compounds of stems of cannabis sp was conducted. The aim of this research was identified cannabinodes using TLC and HPTLC spectrophotodensitometry and confirmed by color test. Cannabinoides of stems cannabis sp was extracted by maceration method by using ether as solvent. Concentrated extract was spotted on AL-TLC Si 60 G F 254 and also HPTLC Si 60 G F 254. Plates were eluted with hexane-diethyl ether (80:20, v/v) in ascending on twin chember. Each peak was scanned on Camag TLC-Scanner III, Identification of each insitu spectra were based on Rf and library spectra and confirmed by color-test by Fast Blue B salt.. The result showed that method can be used to identify the CBN, THC and CBD content of marijuana stems.

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

PENDAHULUAN

Ganja (*Cannabis sp*) memiliki kandungan cannabinoid yang utama yaitu *cannabinol* (CBN), *cannabidiol* (CBD), dan *Δ^9-Tetrahidrocanabinol* (THC), dimana *Δ^9-Tetrahidrocannabinol* dapat membuat pemakainya mengalami *euphoria* [1]. Komposisi kandungan senyawa cannabinoid ditentukan oleh tempat tumbuh dari tanaman tersebut seperti tanah, iklim dan sifat-sifat genetik, yang dapat mempengaruhi biosintesa metabolit sekunder dari *Cannabis sp*. Komposisi metabolit sekunder dalam Cannabis dapat menggambarkan tempat tumbuh cannabis itu sendiri [2]. Proses ekstraksi yang baik diperlukan untuk mendapatkan hasil ekstraksi metabolit sekunder yang optimum. Tahap identifikasi diperlukan untuk mengetahui komposisi metebolit sekunder dalam ekstrak *cannabis sp*. Identifikasi dapat dilakukan dengan menggunakan metode *Thin Layer Chromatography* (TLC) ataupun *High Perfomance Thin Layer Chromatography* (HPTLC) HPTLC-spektrofotodensitometri yang dipastikan dengan menggunakan reaksi warna.

Keunggulan kerja teknik HPTLC dibandingkan dengan TLC adalah memungkinkan dilakukan analisa dengan limit deteksi dan spesifitas yang lebih tinggi [3,4]. HPTLC banyak dikembangkan untuk keperluan analisis karena HPTLC memiliki daya pisah dan resolusi yang lebih tinggi, membutuhkan jarak pengembangan dan cairan pengelusi yang lebih sedikit [5].

Dalam penelitian ini akan dilakukan identifikasi metabolit sekunder canbinoid (CBN, CBD dan THC) batang *cannabis sp* menggunakan teknik TLC/HPTLC (Si 60 GF 254)-Spektrofotodensitometri dengan sistem TAH heksan:dietil eter (80:20 v/v) sebagai fase gerak. Setiap kromatogram dan spektrum dari setiap puncak dirajah dengan Camag TLC-Scanner 3. Pemastian identitas ketiga senyawa cannabinoid dideteksi dengan reaksi warna menggunakan Garam Fast Blue B.

MATERI DAN METODE

Bahan kimia yang digunakan pada penelitian ini adalah eter teknis, toluen pa, heksan pa, dietileter pa (Merck Germany), penampak noda Fast Blue B, aquadest, plat alumunium TLC Si G 60 F254 (Merck-Darmstadt-Germany), dan plat HPTLC Si G 60 F254 (Merck-Darmstadt-Germany).

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah simplisia batang ganja yang didapatkan dari Laboratorium kimia forensik Mabes Polri Cabang Denpasar.

Alat yang digunakan meliputi alat-alat gelas, timbangan analitik, seperangkat alat sokhlet, rotary vacum evaporator, tabung eppendorf, bejana pengembang ukuran 10x10 cm (Camag-Muttenz-Switzerland), oven (Memmert), nanomat IV, *TLC-Scanner 3* (Camag-Muttenz-witzerland), alat sentrifugasi (Mikro centrifuge-Clements), dan alat penyemprot (TLC sprayer Camag-Muttenz-Switzerland).

Metode Penelitian

Proses Maserasi

Diambil sampel serbuk kering batang 500 mg, kemudian ditambahkan 15 mL dan dimaserasi selama 24 jam (dilakukan 3x penarikan dan 1 x penarikan selama 24 jam). Setelah 24 jam ekstrak disaring dan diuapkan dalam evaporator pada suhu 30 ^{0}C hingga kental. Setelah itu tambahkan 1 mL toluen, lalu dipipet dan dimasukkan ke dalam tabung eppendorf. Sentrifugasi pada kecepatan 3500 rpm selama 15 menit. Kemudian dipipet fase atasnya.

Uji Penapisan

Proses identifikasi dilakukan dengan TLC/HPTLC Spektrofotodensitometri. Dilakukan identifikasi CBD, CBN, dan THC dengan menggunakan sistem heksan-dietil eter (80 :20, v/v), dengan dua fase diam yaitu HPTLC Si G 60 F254 dan Al-TLC Si G60 F254 [6]. Sampel sebanyak 3 µl sampel ditotolkan pada plat, kemudian dielusi pada bejana pengelusi yang telah jenuh. Plat yang telah dielusi, dirajah dengan TLC-Scaner pada 210 nm. Spektrum masing-masing puncak kromatogram dirajah secara *in situ* pada panjang gelombang 190 - 400 nm.

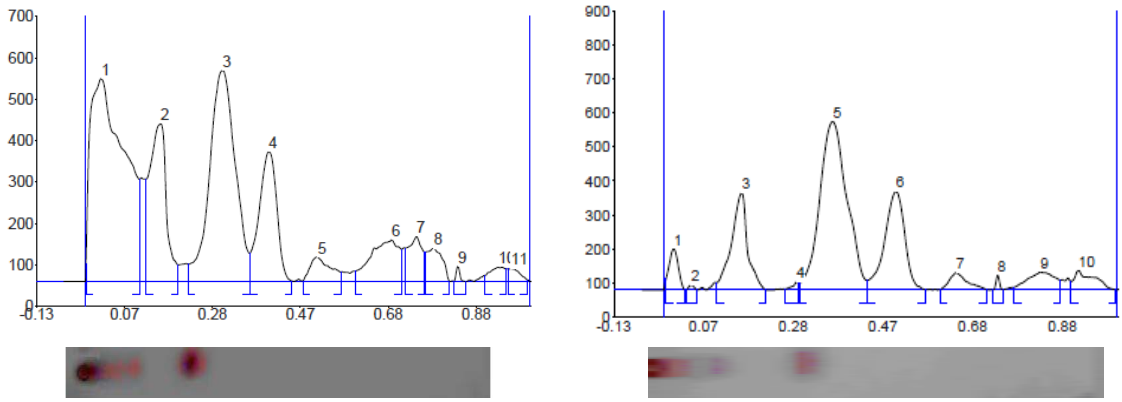
Uji Pemastian

Pada uji ini dilakukan proses identifikasi senyawa menggunakan larutan *Garam Fast Blue B* sebagai penampak noda. Masing-masing plat yang sudah di-rajah kemudian disemprot dengan larutan Garam Fast Blue B. Uji ini dilakukan untuk meningkatkan ketajaman analisis sebelumnya, sehingga dari hasil penyemprotan akan diperoleh visualisasi warna dan nilai Rf senyawa analit. Reagen tersebut akan memberikan warna *Orange-red* untuk CBD, *Violet* untuk CBN dan *purple* untuk THC. Perhitungan nilai hRf 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.

HASIL DAN PEMBAHASAN

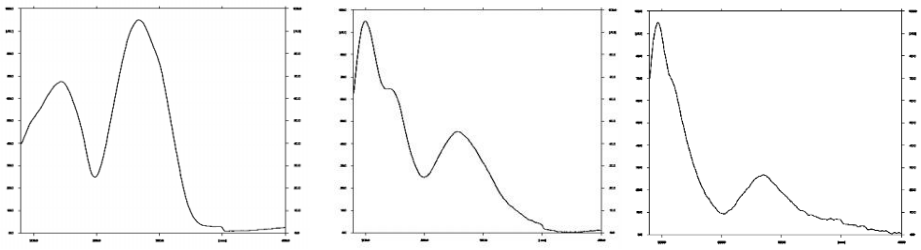
Eter dipilih sebagai pelarut pengekstraksi karena eter dapat melarutkan senyawa CBD, CBN dan THC dari batang ganja. Pemilihan metode maserasi dilakukan karena eter merupakan pelarut dengan titik didih rendah (30 ^{0}C) dan memiliki sifat mudah menguap dan terbakar jika dipanaskan sehingga tidak memungkinkan dilakukan proses ekstraksi dengan pemanasan, misalnya dengan teknik sokhletasi.

Pada uji penapisan, plat Al-TLC dan HPTLC Si G 60 F 254 yang telah dielusi dengan fase gerak heksan : dietileter (80 : 20 v/v) dirajang pada TLC scanner pada panjang gelombang 210 nm. Pola kromatogram pada masing-masing plat ditunjukkan pada gambar 1.



Al-TLC HPTLC

Gambar 1. Pola kromatogram ekstrak eter, setelah dielusi dengan heksan: dietileter (80 : 20 v/v) scann pada TLC-sacnner 3 (210 nm) dan visualisasi warna setelah disemprot dengan larutan garam fast blue B.

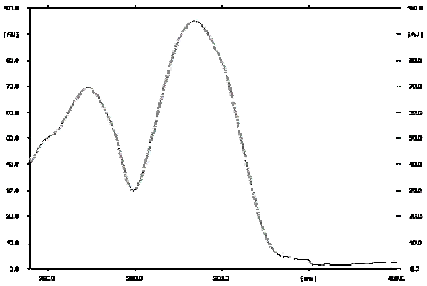
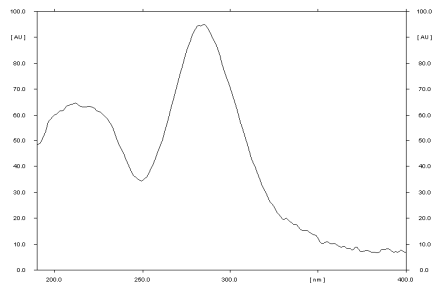
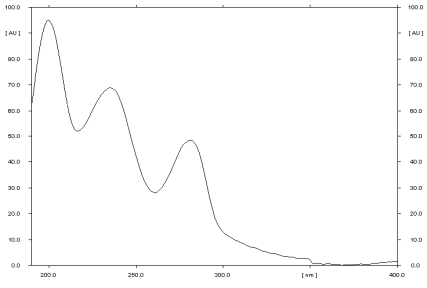
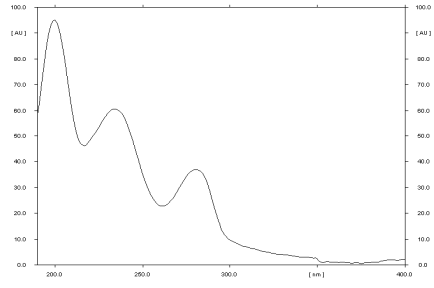
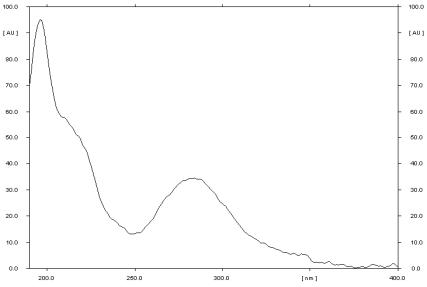
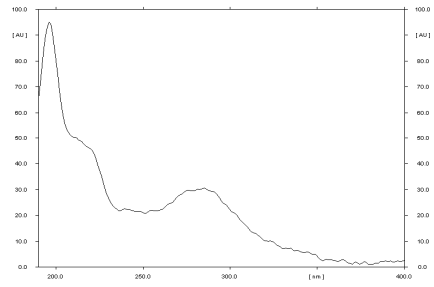


(a) (b) (c)

Gambar 2. Spektrum UV senyawa CBN (a), THC (b) dan CBD (c) (Moffat, 2004)

Ni Made Pitri Susanti
Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana, Bukit Jimbaran

Untuk mengidentifikasi puncak senyawa CBN, THC dan CBD pada kromatogram, maka dilakukan perbandingan spektrum insitu puncak kromatogram dengan spektrum senyawa CBN, THC dan CBD pada pustaka berdasarkan hasil reaksi warna yang ditunjukkan setelah noda direaksikan dengan penampak noda larutan garam fast blue B. Hasil visualisasi warna pada masing-masing plat ditampilkan pada Tabel 1.

Al-TLC		HPTLC	
Puncak	Spektrum insitu	Puncak	Spektrum insitu
3		5	
4		6	
5		7	

Gambar 3. Spektrum insitu puncak-puncak yang diduga senyawa target

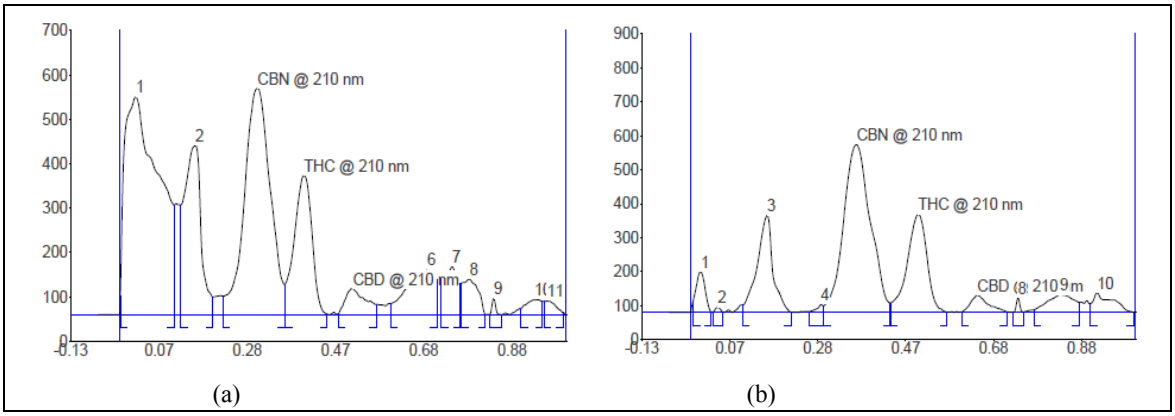
Pada gambar 1, 3 dan tabel 1, terlihat bahwa pada tiap fase diam, muncul tiga warna yaitu *violet* (ungu kemerahan), *purple* (ungu) dan *red-orange* (oranye kemerahan) yang masing-masing menunjukkan warna dari senyawa CBN, THC, CBD. Hal ini diperkuat dengan hasil pencocokan spektrum senyawa pada masing-masing puncak dengan spektrum senyawa CBN, THC dan CBD pada pustaka.

Berdasarkan hasil identifikasi yang telah dilakukan, maka dapat diketahui posisi senyawa CBN, THC dan CBD pada masing-masing kromatogram seperti yang ditunjukkan pada gambar 4.

Tabel 1. Nilai Rf dan visualisasi warna puncak senyawa

Fase Diam	Puncak	Warna	Rf	Senyawa
Al-TLC Si G 60 F254	3	Violet	0,30	CBN
	4	Purple	0,40	THC
	5	Red-orange	0,52	CBD
HPTLC Si G 60 F254	5	Violet	0,36	CBN
	6	Purple	0,50	THC
	7	Red-orange	0,64	CBD

Ni Made Pitri Susanti
Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana, Bukit Jimbaran



Gambar 4. Identifikasi puncak-puncak canabinoid ekstrak batang ganja pada Al-TLC Si G 60 F254 (a) dan HPTLC Si G 60 F254 (b)

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan pelarut pengembang heksan-dietileter (80:20 v/v) menggunakan fase diam Al-TLC Si G 60 F254 dan HPTLC Si G 60 F254 dapat memisahkan dan digunakan untuk mengidentifikasi CBN, THC dan CBD dalam ekstrak eter batang ganja.

DAFTAR PUSTAKA

[1] Moffat, A.C., et all. Clarke's Analysis Drugs and Poison. 3rd Edition. London: Pharmeceutical Prees. 2004. p. 740-1.

[2] Pate. D. W. 1994. *Chemical Ecology of Cannabis.* Available at : http : // www.hemfood.com/IHA/iha01201.html. Opened at : Februari, 23th 2009.

[3] Fenimore, D. C., Davis, C. M., Mayer, C. J. Determination of Drug In Plasma by High-Performance Liquid Chromatography. Clin. Chem 1978; (24/8): 1386-92.

[4] Della, C. E.,Martone. G. *A* Quantitative Densitometric Determination of Heroin and Cocaine sample by High-Thin Layer Chromatography. Forensic Pharmeceutical Science University of Nottingham. 1986. p.85.

[5] Antonilli, A. Analysis of Cocaethylene, Benzoylecogenine and Cocaine in Human Urine by High-Perfomance Liquid Cromatography with Ultraviolet detection : A Comparation with high-perfomance liquid chromatography, J.Cromatogr. B 2001; (751): p. 19-27.

[6] Galland. N, et al. Separation and Identification of cannabis Components by Difefernce Planar Chromatography Technique *(TLC, AMD, OPLC)*. Journal of Chromatographic Science. 2004.