

Jurnal Penelitian Farmasi Herbal	Vol. 3 No. 2	Edition: November 2020 – April 2021
	http://ejournal.delihusada.ac.id/index.php/JP	
Received: 09 Maret 2021	Revised: 18 April 2021	Accepted: 29 April 2021

PENETAPAN KADAR STEROID PADA EKSTRAK DAUN TITANUS (*Leea aequata* L.) SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

Dian Ika Perbina Meliala¹, Jhan Saberlan Purba², Debora Munthe²

Institut Kesehatan Deli Husada Deli Tua
E-mail : dianikaperbinameliala@gmail.com

ABSTRACT

*The titanus plant (*Leea aequata* L.) is a plant that used as traditional medicine. The stems and roots are used as astringent, anthelmintic, indigestion, jaundice, chronic fever and malaria. The leaves and twigs are used as an antiseptic and to treat wounds. Steroids are secondary metabolites that have a compound structure that quite diverse. Steroids have a pharmacological effect on lowering cholesterol and anticarcinogenic. The objective of the research to determine the steroid levels in titanus leaf extract (*Leea aequata* L.). The analytical method used is qualitative with reagents Lieberman-Bouchard and quantitative uv-vis spectrophotometry with wavelength of 423 nm. The results of the qualitative analysis of the positive samples contained steroid compounds. The Results quantitative content of ethanol extract of titanus leaf 30.8889 mg/g, and quantitative results ethyl acetate extract content of titanus leaves 72.2649 mg/g. Validity test results obtained linearity test $r=0.9994$, RSD of ethanol extract 0,2852% and ethyl acetate extract 8,1120%, recovery of 101% ethanol extract and 103.667% ethyl acetate extract, LOD 2.2078 and LOQ 7,3593. SPSS analysis results $p=0.000$ ($p<0.05$). Based on the results of the research that has been done, it can be concluded that uv-vis spectrophotometry can be used to determine total steroid content of titanus leaf extract (*Leea aequata* L.).*

Keywords: *Titanus Leaf, Extraction, Steroids, Uv-Vis Spectrophotometry.*

PENDAHULUAN

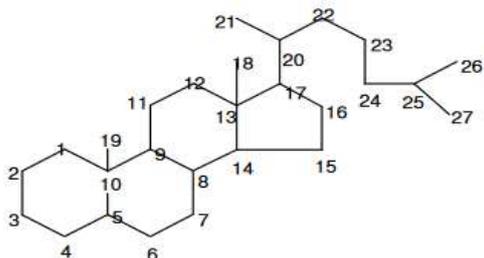
Masyarakat telah menyadari obat tradisional memiliki efek penyembuh lebih baik dari pada obat sintetik (Bardos, 2016). Salah satu tanaman obat yang masih digunakan sampai kini adalah tumbuhan titanus (*Leea aequata* L.) yang digunakan sebagai pengobatan tradisional untuk luka dan antitetanus di daerah Tanah Karo, Provinsi Sumatera Utara.

Menurut malinda (2015) tanaman titanus (*Leea aequata* L) memiliki senyawa metabolit sekunder seperti steroid, glikosida,

steroid, flavonoid dan tannin. Salah satu senyawa yang ada didalam tanaman titanus adalah steroid. menurut zaree (2013) Steroid adalah senyawa yang mempunyai Struktur senyawa yang beragam dan bersifat siklik. Steroid mempunyai peran besar dalam menurunkan kadar kolesterol dan antikarsinogenik didalam tubuh. Dan menurut Nasrudin (2017) Steroid berfungsi menjaga keseimbangan garam didalam tubuh, mengendalikan semua proses dalam metabolisme dan menambah fungsi

organ seksual serta perbedaan fungsi biologis lain.

Gambar 1. Struktur Dasar Steroid



Menurut Khare (2007) Tumbuhan titanus (*Leea aequata* L.) merupakan tanaman yang digunakan sebagai obat tradisional. Batang dan akarnya digunakan sebagai astringen, antelmentik, gangguan pencernaan, sakit kuning, demam kronis dan malaria. Daun dan rantingnya digunakan sebagai antiseptik dan mengobati luka.

Berdasarkan pada uraian diatas, dalam penelitian ini akan melakukan penetapan kadar steroid ekstrak daun titanus (*Leea aequata* L.) secara Spektrofotometri Uv-Vis. Penggunaan pelarut yang dipakai untuk menarik senyawa steroid dari daun titanus yaitu etanol 96% yang bersifat penarik yang menarik seluruh senyawa dan etil asetat yang bersifat non polar dapat menarik senyawa organik (Robinson, 1995; Wijesekera, 1991). Metode yang dipakai untuk mengukur serapan kadar kolesterol yaitu metode fotometri dengan mencampurkan larutan kolesterol dengan pereaksi Liebermann-Bouchard yang akan diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

1. METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang dipakai dalam penelitian adalah alat maserasi, *rotary evaporator*, gelas ukur (*pyrex*), gelas kimia, labu tentukur (*pyrex*), kertas saring, cawan porselen, corong pisah, tabung reaksi, tanur, *water batch* timbangan analitik, *moisture balance*, rak tabung reaksi, pipet tetes, pipet tetes mikro (*pyrex*), dan spektrofotometer UV-Vis (*shimazhu*).

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah simplisia daun titanus, etanol 96%, etanol 70%, etil asetat, metanol, aquadest, pereaksi Dragendroff, pereaksi Mayer, NaOH, H₂SO₄(p), pereaksi Liebermann-Bouchard, serbuk kolesterol, FeCl₃ 1%, kloroform, eter, *n*-Heksan, serbuk Magnesium (Mg), HCl (p), HCl 2N, CH₃COOH dan (CH₃CO)₂O.

Serbuk Simplisia Daun Titanus

Sebanyak 2 kg daun titanus segar yang telah dikumpulkan dan dipisahkan dari batangnya, dicuci bersih dengan air mengalir, kemudian ditiriskan, selanjutnya dikeringkan pada suhu kamar sampai daun kering. Setelah itu dilanjutkan dengan penyerbukan menggunakan blander. Simpan serbuk simplisia pada tempat yang tertutup rapat.

Karakteristik Simplisia Daun Titanus

a. Kadar Air Simplisia

Timbang simplisia 5g dimasukkan kedalam labu alas dan toluen yang telah dijenuhkan. Labu diuapkan selama 15. menit, setelah mendidih, penyulingan air dibuat 4

tetes per detik. Setelah semua air tersuling, dipanaskan kembali selama 5 menit, dinginkan tabung pada suhu kamar. Volume air dibaca sesudah air memisah sempurna (Depkes RI, 1995).

b. Kadar Sari Larut Air

Timbang simplisia 5g dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer, dan dimasukkan 100 mL kloroform. Kocok sesekali pada 6 jam pertama, dan biarkan selama 18 jam pada suhu ruangan. Filtrat disaring dan dipanaskan hingga kering dalam cawan yang telah ditara. Residu diuapkan disuhu 105°C hingga bobot tetap, hitung kadar dalam % sari larut air (Depkes RI, 1995).

c. Kadar Sari Larut Etanol

Timbang simplisia 5g dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer, ditambahkan 100 mL etanol 96%. Kocok sesekali pada 6 jam pertama, dan biarkan selama 18 jam pada suhu ruangan. Filtrat disaring dan dipanaskan hingga kering dalam cawan yang telah ditara. Residu diuapkan disuhu 105°C hingga bobot tetap, hitung kadar dalam % sari larut air (Depkes RI, 1995).

d. Kadar Abu Total

Timbang simplisia 2g dan ditambahkan kedalam cawan porselin yang telah dipanaskan dan ditara, panaskan perlahan-lahan hingga suhu $600 \pm 25^\circ\text{C}$ hingga menjadi abu, dinginkan dan timbang. Kadar abu total dihitung terhadap berat bahan uji, dinyatakan dalam % b/b (Depkes RI, 1995).

e. Kadar Abu Larut Asam

Abu yang didapat dari abu total dipanaskan dengan 25mL HCl encer sampai 5 menit. Abu yang tidak larut dalam asam disaring melalui kertas saring yang sudah ditara, abu yang tidak larut dalam asam dihitung pada berat bahan uji, dinyatakan dalam % b/b (Depkes RI, 1995).

Pembuatan Ekstrak Daun Titanus

Pembuatan ekstrak daun titanus dilakukan dengan cara maserasi dengan menimbang 350g daun titanus yang sudah diayak dimasukkan ke dalam toples kaca, lalu ditambahkan pelarut masing-masing toples, yaitu etil asetat, dan etanol 70% sebanyak 2,5 L. lalu dimaserasi dengan suhu ruangan selama 5 hari terlindung dari cahaya, sambil sesekali diaduk. Setelah itu disaring, kemudian di remaserasi kembali dengan 1,5 L dari masing-masing pelarut dan disimpan di tempat yang terlindung dari cahaya selama 2 hari, kemudian dituangkan. Seluruh maserat digabung dan dipisahkan dengan bantuan alat *rotary* dengan putaran 100 kali untuk memisahkan pelarut yang ada pada ekstrak sampai semua pelarut terpisah yang ditandai dengan pelarut tidak keluar lagi dalam waktu minimal 5 menit. Ekstrak kental yang didapat ditambahkan ke dalam botol sampel (Depkes RI, 1995).

Skrining Fitokimia Pemeriksaan Steroid

Simplisia ditimbang sebanyak 1 gram dan dimaserasi dengan

kloroform atau n-Heksan selama 2 jam. Disaring dan filtrat diuapkan hingga tersisa 1 ml. Selanjutnya ditambahkan liberman bouchard lalu dipanaskan kembali Hasil positif steroid ditunjukkan dengan adanya lapisan kloroform berwarna biru kehijauan (Harmita, 2006).

Pembuatan Larutan Baku Serbuk Kolesterol 1000 ppm

Membuat larutan baku kolesterol dengan cara melarutkan 50mg serbuk kolesterol dalam 50mL etanol 96% pada suhu $\pm 45^{\circ}\text{C}$ diatas *water bath*, sesekali diaduk hingga larut (Hardiningsih dan Novik, 2006).

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ_{maks}) Kolesterol

Penentuan panjang gelombang maksimum larutan kolesterol secara spektrofotometer UV-Vis yaitu pada 400-700 nm. Panjang gelombang maksimum baku kolesterol yaitu 423 nm. Panjang gelombang tersebut untuk mengukur absorbansi dari sampel ekstrak daun titanus (Hardiningsih dan Novik, 2006).

Penentuan *Operating Time*

Penentuan *operating time* dengan cara dipipet 0,5mL larutan baku 1000ppm, dimasukan dalam labu tentukur 5mL ditambahkan dengan etanol 96% sampai garis tanda. Selanjutnya ditambahkan $(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$ 2 mL dan 0,1 mL H_2SO_4 . Diukur setiap 2 menit dari menit ke-10 hingga menit ke-30 menggunakan panjang gelombang maksimum. Hitung waktu pada saat pengukuran dengan absorpsi larutan, untuk mengetahui waktu

pengukuran yang stabil (Hardiningsih dan Novik, 2006).

Pembuatan Kurva Standar Kolesterol

Dipipet 0,2ml; 0,25ml; 0,3ml; 0,35ml; 0,4ml; 0,45ml dan 0,5ml larutan baku kolesterol, dan ditambahkan kedalam labu tentukur 5mL dengan menambahkan etanol 96% sampai garis tanda. konsentrasi larutan standar berturut-turut adalah 40ppm; 60ppm; 80ppm; 100ppm; dan 120 ppm. selanjutnya larutan ditambahkan asam asetat anhidrat 2mL dan 0,1mL H_2SO_4 dan dihomogenkan menggunakan *vortex*, lapisan luar tabung ditutup menggunakan aluminium foil untuk melindungi dari cahaya dan didiamkan selama 15 menit, diukur absorbansi pada panjang gelombang 423 nm secara spektrofotometer UV-Vis (Hardiningsih dan Novik, 2006).

Penetapan Kadar Steroid Total Ekstrak Daun Titanus

Ditimbang 40 g serbuk simplisis dimasukkan kedalam erlenmeyer 100mL, dan dimaserasi dengan menambahkan 25mL metanol dan diuapkan selama 15 menit. Saring kedalam erlenmeyer 50 mL dan dibiarkan seluruh metanol menguap hingga kering. Selanjutnya dipipet 5 mL kloroform dan 5 mL air suling dan dicampurkan kedalam sampel dan dikocok, kemudian dituang kedalam tabung reaksi dan diamkan sampai terbentuk 2 lapisan. Lapisan bawah merupakan kloroform dan lapisan atas merupakan air, dipipet 2 tetes

lapisan kloroform dimasukan kedalam plat tetes dan diamankan hingga kering. Selanjutnya dicampurkan pereaksi Liebermann-Bouchard sebanyak 3 tetes (CH₃CO)₂O dan 1 tetes H₂SO₄ (p), untuk mengetahui steroid ditandai timbulnya warna hijau sampai hijau kebiru-biruan (Ratnawati, 2011).

2. HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Ekstrak Daun Titanus

Daun titanus yang segar dipetik langsung dari pohonnya sebanyak 5 Kg, dicuci, dikeringkan dan diserbukan diperoleh simplisia serbuk sebanyak 900 g. Serbuk simplisia daun titanus dimaserasi dengan pelarut etanol 70% sebanyak 350 g dan dengan pelarut etil asetat sebanyak 350 g dan diperoleh 50,36 g ekstrak etanol kental dan 23,45 g ekstrak etil asetat kental. Dan diperoleh rendemen pada ekstrak etanol 70% sebesar 14,388% dan pada etil asetat sebesar 6,7 %. Hal ini menunjukkan simplisia daun titanus lebih banyak senyawa bersifat polar dari pada senyawa semi polar dan non polar.

b. Karakterisasi Simplisia

Hasil karakteristik simplisia daun titanus diperoleh kadar air 8,37%. Penetapan kadar air untuk mengetahui besarnya kandungan air pada bahan yang diuji, karena jika air terlalu banyak bisa menjadi tempat mikroorganisme. Kadar sari yang larut air 4, 56% dan kadar sari larut etanol 20,34%, Penetapan kadar sari larut air dan sari larut etanol dilakukan, untuk mengetahui besarnya kandungan senyawa polar,

semipolar dan non polar yang terdapat bahan yang diuji. Kadar abu total 5,37%, kadar abu total dilakukan untuk menggambarkan kandungan senyawa anorganik yang terkandung dalam simplisia. Kadar abu tidak larut dalam asam 0,698%, Penetapan kadar abu untuk mengetahui pengotor pada sampel uji yang tidak dapat larut. Maka dapat disimpulkan data hasil pemeriksaan karakteristik simplisia semuanya memenuhi standar yang ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1.Data Karakteristik Simplisia

Parameter	Syarat (MMI)	Hasil (%)
Kadar Air	<10%	8,37%
Kadar Sari Larut Air	<18%	4,56%
Kadar Sari Larut Etanol	>12,5%	20,34%
Kadar Abu Total	<6%	5,376%
Kadar Abu Tidak Larut Asam	<1,5%	0,6983%

c. Skrining Fitokimia

Berdasarkan hasil skrining fitokimia terhadap serbuk simplisia daun titanus mengandung senyawa steroid. Dan menurut Malinda (2015) tanaman titanus (*Leea aequata* L) mengandung senyawa steroid, glikosida, steroid, flavonoid, saponin dan tanin. Hasil dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Data Skrining Fitokimia

Pemeriksaan	Warna	Keterangan
Steroid	Biru Kehijauan	(+)

Dari hasil skrining fitokimia daun titanus positif (+) mengandung steroid.

d. Penetapan Kadar steroid

1. Panjang Gelombang

Maksimum

Panjang gelombang maksimum dari larutan baku kolesterol yaitu 423 nm. Menurut Hardiningsih dan Novik (2006), panjang gelombang maksimum dari baku kolesterol yang dicampurkan dengan CH₃COOH anhidrat dan H₂SO₄ pekat adalah 420,40 nm.

2. Operating Time

Tabel 3. Data Operating Time

Waktu (menit)	Absorbansi
10	0,639
12	0,643
14	0,643
16	0,643
18	0,652
20	0,656
22	0,677
24	0,703
26	0,755
28	0,775
30	0,791

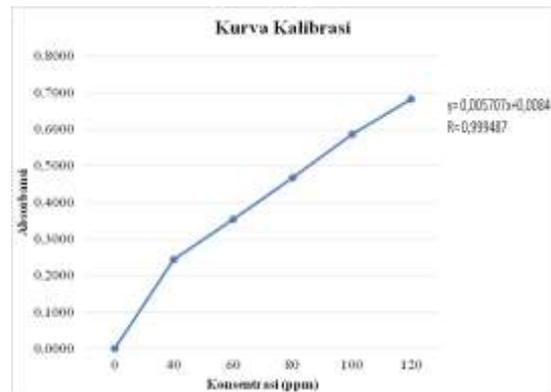
Dari hasil absorbansi larutan baku diatas diketahui dari menit ke 12 sampai menit ke 16 absorbansi tetap stabil. Sehingga waktu pembacaan absorbansi yang dipilih dalam penelitian ini adalah 13 menit.

3. Kurva Standar

Kurva standar untuk melihat keakuratan konsentrasi pengenceran dengan absorbansi yang didapat dengan dilakukan analisis regresi linier dan diperoleh koefisien

korelasi (r) sebesar 0.9994. Syarat niali r menurut Gandjar dan Rohman (2013) yaitu $0.99 \leq r \leq 1$. Maka dapat disimpulkan kurva kalibrasi yang telah dilakukan sangat akurat antara konsentrasi dan absorbansi. Grafik kurva standar dapat dilihat pada gambar 2.

Gambar2. Grafik Kurva Standar



4. Kadar steroid

Kadar steroid dapat ditetapkan dengan metode serbuk kolesterol. Reagen serbuk kolesterol akan mengoksidasi gugus hidroksil dari senyawa golongan serbuk kolesterol membentuk kompleks berwarna biru. Reaksi ini ditambahkan asam asetat anhidrat untuk membentuk suasana basa dan reaksi dapat berjalan lebih cepat. Larutan biru akan dapat diukur absorbansinya pada spektrofotometri UV (Murelina dan Wijayanti, 2018).

Hasil dari panjang gelombang maksimum kolesterol yaitu 423 nm yang memberikan serapan 0,493 dan operating time yang diperoleh yaitu 30 menit. Data kadar steroid dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Data Kadar Steroid

Kadar steroid	Kadar Steroid
---------------	---------------

Sampel Ekstrak Etanol (mg/g)	Sampel Ekstrak Etil Asetat (mg/g)
22,25325	66,93525
28,386125	71,315875
39,11825	78,543875

Berdasarkan penggunaan pelarut yang berbeda terhadap ekstrak daun titanus, maka kadar steroid total juga berbeda. Kadar steroid total ekstrak etanol daun titanus sebesar 30,8889 mg/g, sedangkan kadar ekstrak etil asetat daun titanus sebesar 72,2649 mg/g. Dari hasil tersebut kadar ekstrak etil asetat lebih banyak mengandung senyawa steroid dari pada ekstrak etanol, hal ini menunjukkan pelarut etil asetat lebih baik dalam menarik senyawa steroid dibandingkan dengan pelarut etanol.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dari penelitian ini, diperoleh kesimpulan bahwa:

- Pelarut yang paling banyak menarik senyawa steroid pada daun titanus yaitu pelarut etil asetat, karena senyawa steroid larut dalam pelarut organik namun sukar larut dalam air.
- Penetapan kadar steroid dapat ditetapkan menggunakan spektrofotometri Vis dengan panjang gelombang 423 nm.
- Perbedaan Pelarut pada ekstrak daun titanus sangat mempengaruhi kadar dari senyawa steroid yaitu pada ekstrak etil asetat diperoleh kadar steroidnya sebesar 72,2649 mg/g dan pada ekstrak etanol 70% sebesar 30,8889 mg/g.

SARAN

Disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk menganalisis kadar steroid dengan menggunakan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dengan pelarut yang berbeda dan juga dapat dilakukan metode refluks.

DAFTAR PUSTAKA

- Bardos,J. (2016). Uji Aktivitas Hepatoprotektor Ekstrak Etanol Kulit Bawang Merah (*allium cepa L. Corium*) terhadap Mencit Jantan yang Diinduksi Parasetamol. *Skripsi*. Medan: Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.
- Depkes. RI (1995). *Farmakope Indonesia*, Edisi 4. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Gandjar, I.G, dan Rohman, A. (2007). *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Hardiningsih,R., dan Kovik,N. (2006). Pengaruh Pemberian Pakkan Hiperkolesterolemia Terhadap Bobot Badan Tikus Putih Wistar yang diberi Bakteri Asam Laktat. *Biodiversitas*. Volume 7 : 127-130.
- Harmita.(2006).*Analisis Fitokimia*. Departemen Farmasi FMIPA, Universitas Indonesia;Depok.
- Khare, C.P. (2007). *Indian Medicinal Plants*. New Delhi: Springe Science + Business Media, LCC. Halaman 211-249.

- Malinda.I. (2015). Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun titanus sebagai Pengobatan Tradisional Karo. *Skripsi*. Medan: Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.
- Nasrudin., Wahyono., Mustofa., dan Susidarti, R.A. (2017). Isolasi Senyawa Steroid Dari Kulit Akar Senggugu (*Clerodendrum serratum* L.Moon). *Jurnal Ilmiah Farmasi*. Volume 6. Nomor 3. ISSN: 2302-2493.
- Wijesekera, R.O.B. (1991). *The Medicinal Plant Industry*. Washington DC : CRC P ress. Halaman 1020-1025.
- Zaree, R.M., Farhadi, Z., Mohammdzadeh., and Goudarzi, G.R. (2013). Extraction and comparison of alkaloids in different organs during different phonological periods of *Nitraria schoberi*. *Annalis of Biological Research*, 2013, 4 (2):130-135.
- Ratnawati, D. (2011). Preliminary Test of Determination of Alkaloid and Steroid Compounds and Biossay on Some Vegetable Plant Extract. *Jurnal Gradien*. Bengkulu: Universitas Bengkulu. Halaman 5-6.
- Robinson, T. (1995). *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi VI. Terjemahan Padmawinata K. Penerbit ITB: Bandung.