



Optimasi pelarut etanol air dalam proses ekstraksi terhadap kadar senyawa steroid ekstrak daun senduduk bulu (*Clidemia hirta* (L.) D. Don)

*Optimization of ethanol-water solvents in extraction to the concentration of steroid compounds in senduduk bulu (*Clidemia hirta* (L.) D. Don) leaf extract*

Yuli Nurullaili Efendi, Siti Salimah, Ajeng Izzati Saputri
Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Surya Global

ABSTRACT

Medicinal plants are closely related to the chemical content contained in these plants, especially biologically active substances. The content of chemical compounds found in *Clidemia hirta* (L.) D. Don is a compound of tannin (catecholamine dan pirogalotannin), dioxiantraquinone, steroid, saponin, glicoside dan fenol. Steroids on plants show cholesterol-lowering effects, anticarcinogenic, bioinsecticide, antibacterial, antifungi and antidiabetic. The purpose of this study was to determine the highest concentration of steroid compounds with a comparison of ethanol-water concentrations in *Clidemia hirta* leaf extract. Experimental design in this study used Simplex Lattice Design (SLD). Qualitative analysis of *Clidemia hirta* extract was performed by thin layer chromatography with a stationary phase of silica gel F254 and a mobile phase of toluene : ethyl acetate : ethanol (3:1:1). The determination of steroid concentrations is carried out by measuring the area under the curve (AUC) in densitometric. Quantitative data on steroid concentration of *Clidemia hirta* leaf obtained from each experiment were analyzed with the Simplex Lattice Design approach. The highest concentration of steroid compounds in the ethanol of *Clidemia hirta* (L.) D. Don leaves extract after optimization is found in 100% ethanol solvent.

Keywords: *Clidemia Hirta* (L.) D. Don Leaves; ethanol; densitometry; steroid concentration

ABSTRAK

Tumbuhan sebagai obat sangat berkaitan dengan kandungan kimia yang terdapat dalam tumbuhan tersebut terutama zat aktif biologisnya. Kandungan senyawa kimia yang terdapat pada senduduk bulu (*Clidemia hirta* (L.) D. Don) adalah senyawa flavonoid, saponin, tanin, dan steroid. Steroid pada tumbuhan memiliki efek menurunkan kolesterol, antikarsinogenik, bioinsektisida, antibakteri, antifungi, dan antidiabetes. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui kadar senyawa steroid tertinggi dengan perbandingan konsentrasi etanol-air pada ekstrak daun senduduk bulu. Desain percobaan dalam penelitian ini menggunakan *Simplex Lattice Design* (SLD). Analisis kualitatif ekstrak senduduk bulu dilakukan dengan kromatografi lapis tipis dengan fase diam silika gel F254 dan fase gerak toluena : etil asetat : etanol (3:1:1). Penetapan kadar steroid dilakukan dengan mengukur luas area di bawah kurva (AUC) secara densitometri. Data kuantitatif kadar steroid daun senduduk bulu yang diperoleh dari tiap percobaan dianalisis dengan pendekatan *Simplex Lattice Design*. Kadar senyawa steroid tertinggi dalam ekstrak etanol daun senduduk bulu (*Clidemia hirta* (L.) D. Don) setelah optimasi terdapat pada penyari etanol 100%.

Kata kunci: Daun senduduk bulu; etanol; KLT-Densitometri; kadar steroid

Korespondensi: Yuli Nurullaili Efendi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Surya Global Yogyakarta, Jl. Ahmad Yani, Mutihan, Wirokerten, banguntapan, Bantul, D.I. Yogyakarta, Indonesia, 08997705085, yulinurullaili@gmail.com

PENDAHULUAN

Tumbuhan senduduk merupakan tanaman perdu yang tersebar di hutan Indonesia. Senduduk bulu dengan nama latin (*Clidemia hirta* (L.) D. Don) merupakan tumbuhan yang masuk ke dalam famili *Melastomataceae*(1), yang mempunyai khasiat sebagai pereda demam (antipiretik), peluruh urin (diuretik), penghilang nyeri (analgesik), mengobati keputihan (leukorea), menghilangkan pembengkakan, darah haid yang berlebihan, dan mengobati luka bakar atau luka berdarah, radang dinding pembuluh darah disertai pembekuan darah di dalam salurannya (2), menghentikan pendarahan pada luka sayat, dapat digunakan untuk penyakit obat sawan, selain itu buah dari senduduk bulu dapat dimanfaatkan menjadi obat bisul (3). Tumbuhan senduduk juga berfungsi sebagai antibakteri (4)(5), antioksidan (6), antiinflamasi, imunomodulator antikanker, (7), dan antidiabetes (8), serta sebagai astringen yang dapat menyebabkan penutupan pori-pori kulit, memperkeras kulit, menghentikan eksudat dan pendarahan yang ringan (2).

Penggunaan tumbuhan sebagai obat sangat berkaitan dengan kandungan kimia yang terdapat dalam tumbuhan tersebut terutama zat aktif biologisnya. Dari hasil penelitian diperoleh bahwa tanaman senduduk bulu memiliki kandungan tanin (katekol dan pirogalotanin), dioksantrakinon, steroid, saponin, glikosida dan fenol (3). Steroid merupakan salah satu jenis hormon yang memiliki nilai ekonomis cukup penting dalam industri farmasi (9). Steroid pada tumbuhan menunjukkan efek menurunkan kolesterol dan antikarsinogenik (10). Golongan senyawa tersebut diketahui juga mempunyai aktivitas bioinsektisida, antibakteri, antifungi, dan antidiabetes (11).

Golongan senyawa steroid larut dalam pelarut non-polar sampai semi-polar (12). Pelarut etanol dapat melarutkan hampir semua senyawa organik yang ada pada sampel, baik senyawa polar maupun senyawa non-polar (13). Maka dalam penelitian ini dilakukan optimasi komposisi etanol dan air sebagai cairan penyari pada simplisia senduduk bulu (*Clidemia hirta* (L.) dengan aplikasi *Simplex Lattice Design*. Metode *Simplex Lattice Design* merupakan salah satu metode yang dapat digunakan untuk mendapatkan formula optimum dari suatu campuran. Dalam desainnya, jumlah total bagian komposisi campuran dibuat tetap, yaitu sama dengan satu (14).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui komposisi optimum cairan penyari yang menghasilkan ekstrak daun senduduk bulu (*Clidemia hirta* (L.) D. Don) dengan kandungan steroid terbesar.

METODE

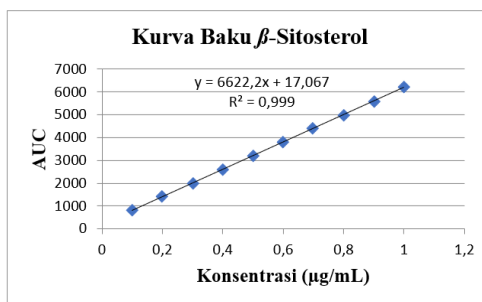
Penelitian ini telah mendapatkan ijin etik dengan nomor surat keterangan layak etik No.2.30/KEPK/SSG/2021/VIII. Penelitian ini termasuk dalam penelitian eksperimental laboratorium, menggunakan teknik pengukuran. Prosedur penelitian terdiri dari 3 tahap. Tahap pertama yaitu pembuatan serbuk simplisia daun senduduk bulu (*Clidemia hirta* (L.) D. Don), tahap kedua adalah pembuatan ekstrak daun senduduk bulu (*Clidemia hirta* (L.) D. Don) dengan variasi komposisi etanol dan air, dan tahap ketiga adalah analisis kuantitatif ekstrak herba pegagan yang dihasilkan. Penelitian dilakukan di laboratorium biologi farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Surya Global Yogyakarta dan laborotium penelitian Universitas Ahmad Dahlan.

Tahap pertama diawali dengan penyortiran simplisia dilanjutkan dengan pembuatan serbuk menggunakan grinder kemudian diayak sampai diperoleh serbuk dengan derajat halus tertentu. Pada tahap kedua, serbuk diekstraksi dengan metode maserasi dengan perbandingan pelarut etanol dan air berturut-turut 50:50, 70:30, 100:0.

Sejumlah 5 gram (satu bagian) serbuk dimasukan ke dalam maserator, ditambah 10 bagian pelarut, diaduk terus selama 24 jam. Maserat dipisahkan dan proses maserasi diulang 2 kali dengan prosedur yang sama. Semua maserat dikumpulkan dan diuapkan dengan penguap vakum hingga diperoleh ekstrak kental. Replikasi dilakukan sebanyak 3 kali. Pada tahap ketiga, analisis kuantitatif kandungan zat aktif steroid dalam ekstrak dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) densitometri. Fase diam yang digunakan adalah silika gel F254 dan fase gerak toluena : etil asetat : etanol dengan perbandingan (3:1:1). Baku yang digunakan adalah β -Sitosterol (10). Kadar steroid diketahui dengan memasukkan luas area di bawah kurva bercak yang ditetapkan dengan metode densitometri sebagai nilai Y dalam persamaan kurva baku. Data kuantitatif kadar steroid daun senduduk bulu yang diperoleh dari tiap percobaan dianalisis dengan pendekatan *Simplex Lattice Design* untuk menghitung koefisien a, b, ab sehingga didapatkan persamaan $Y = a(A) + b(B) + ab(A)(B)$. Berdasarkan persamaan ini kemudian dapat dibuat suatu profil yang menggambarkan jumlah steroid yang dihasilkan pada berbagai komposisi etanol dan air sebagai pelarut. Hasil profil yang diperoleh berdasarkan rumus digunakan untuk menentukan komposisi cairan penyari yang optimal. Tiap persamaan yang diperoleh dari tiap formula dihitung validitasnya menggunakan metode statistik, yaitu uji F dengan taraf kepercayaan 95%.

HASIL

Dari penelitian didapatkan hasil kadar steroid (Tabel 1) dan hasil perhitungan optimasi pelarut air-etanol terhadap kadar steroid daun senduduk bulu (Tabel 2)



Gambar 1. Kurva baku β -sitosterol (15)

Tabel 1. Kadar steroid dalam ekstrak etanol daun senduduk bulu

Sampel	Rerata kadar Steroid dalam Sampel ($\mu\text{g/mL}$)
Ekstrak etanol 50:50	1,235
Ekstrak etanol 70:30	1,305
Ekstrak etanol 100:0	2,033

Data kuantitatif kadar steroid daun senduduk bulu yang diperoleh dari tiap perbandingan pelarut dianalisis dengan pendekatan *Simplex Lattice Design* untuk menghitung koefisien a, b, ab sehingga didapatkan persamaan $Y = 3,144[A] + 2,303[B] - 5,955[A][B]$. Berdasarkan persamaan ini kemudian dibuat profil yang menggambarkan kadar steroid yang dihasilkan pada berbagai komposisi etanol dan air sebagai pelarut.

Tabel 2 Hasil perhitungan optimasi pelarut air-etanol terhadap kadar steroid daun senduduk bulu

Perbandingan Pelarut Air (A)	Perbandingan Pelarut Etanol (B)	Kadar Steroid (Y)
0	1	2,303
0,1	0,9	1,85115
0,2	0,8	1,5184
0,3	0,7	1,30475
0,4	0,6	1,2102
0,5	0,5	1,23475

Keterangan :

A : perbandingan pelarut air

B : perbandingan pelarut etanol

Y : kadar steroid

PEMBAHASAN

Untuk menentukan suatu kadar dalam tumbuhan ditentukan terlebih dahulu pembanding untuk senyawa yang akan diidentifikasi, pembanding yang digunakan dalam menentukan kadar senyawa steroid salah satunya adalah β -sitosterol (10). Pembanding β -sitosterol dicari luas areanya dengan berbagai variasi konsentrasi menggunakan TLC scanner densitometer dengan merk Camag dan didapatkan nilai regresi linier seperti pada Gambar 1.

Nilai regresi linier dari baku pembanding β -sitosterol didapatkan $y = 6622,2x + 17,067$ dengan $R^2 = 0,999$ (15). Untuk mengetahui kadar senyawa steroid dalam daun senduduk bulu selanjutnya mencari atau mengetahui luas area dari sampel ekstrak etanol daun senduduk bulu dengan TLC scanner densitometer (Camag), hingga didapat kadar senyawa steroid dalam sampel (Tabel 1).

Dari hasil perhitungan data diatas rata-rata terendah terdapat pada ekstrak etanol 50:50 dengan empat kali replikasi yaitu kadar senyawa steroid yang diperoleh sebesar 1,235 $\mu\text{g/mL}$. Sedangkan rata-rata tertinggi terdapat pada ekstrak etanol 100:0 dengan empat kali replikasi yaitu kadar senyawa steroid yang diperoleh sebesar 2,033 $\mu\text{g/mL}$. Hal ini menunjukkan bahwa ketiga ekstrak dengan menggunakan berbagai variasi konsentrasi penyari etanol memiliki kadar senyawa steroid yang berbeda-beda.

Kadar steroid tertinggi dalam penelitian ini terdapat dalam ekstrak etanol 96% (*Clidemia hirta* (L.) D. Don). Hal ini diduga dipengaruhi oleh kepolaran pelarut yang dapat dikaitkan dengan penelitian yang menyatakan bahwa kandungan steroid tertinggi ada pada pelarut dengan kepolaran rendah. Etanol 96% merupakan pelarut yang lebih non-polar dibandingkan dengan etanol 70% dan etanol 50% yang memiliki sifat lebih polar dari pada etanol 96%, sehingga senyawa steroid yang sifatnya non-polar akan cenderung terlarut lebih banyak dalam etanol 96%. Perbedaan konsentrasi pelarut etanol berpengaruh terhadap tingkat polaritas suatu pelarut. Polaritas etanol semakin meningkat seiring dengan penurunan konsentrasinya dalam air. Perbedaan konsentrasi etanol dapat mempengaruhi kelarutan senyawa steroid di dalam pelarut. Semakin tinggi konsentrasi etanol maka semakin rendah tingkat kepolaran pelarutnya. Namun hasil perhitungan optimasi pelarut juga menunjukkan bahwa kadar senyawa steroid paling banyak terdapat pada konsentrasi etanol 100% (Tabel 2). Hal ini membuktikan kesesuaian dengan teori kelarutan golongan senyawa steroid yang larut dalam pelarut non-polar sampai semi-polar (12).

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa pada uji normalitas menghasilkan nilai sig. $> 0,05$, sehingga data dapat dikatakan data terdistribusi normal. Uji homogenitas menunjukkan nilai sig $> 0,05$, yang menunjukkan

bahwa data homogen. Uji ANOVA menghasilkan nilai sig. (0,000) < 0,05, yang menunjukkan bahwa terdapat pengaruh signifikan konsentrasi pelarut etanol terhadap kadar senyawa steroid yang diperoleh dari ekstrak etanol daun senduduk bulu (*Clidemia hirta* (L.) D. Don).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa kadar senyawa tertinggi dalam ekstrak etanol daun senduduk bulu (*Clidemia hirta* (L.) D. Don) setelah optimasi terdapat pada penyari etanol 100%.

SARAN

Diperlukan pengujian dengan metode lainnya untuk membuktikan konsentrasi metabolit sekunder, dan khususnya pada kadar steroid senduduk bulu.

DAFTAR PUSTAKA

1. Peters HA. *Clidemia hirta* invasion at the Pasoh forest reserve: An unexpected plant invasion in an undisturbed tropical forest. *Biotropica*. 2001;33(1):60–8.
2. Sari ER, Nova A, Lita Sahitri LS. Skrining Senyawa Sitotoksik dari Ekstrak Daun, Bunga, Buah, Batang dan Akar pada Tumbuhan Senduduk (*Melastoma malabathricum*L) Terhadap Larva *Artemia salina* Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Bioassay. *Sci J Farm dan Kesehat*. 2016;6(1):66.
3. Pelu AD, Djarami J. Studi Farmakognostik Tanaman Harendong Bulu (*Clidemia Hirta*) asal Maluku. *JUMANTIK (Jurnal Ilm Penelit Kesehatan)*. 2021;6(4):314.
4. Miftahul FH, Rizky SD, Anita A, Rena U, Apip N. IAS (Invasive Alien Species) *Clidemia hirta* D.Don sebagai Antibakteri dalam Upaya Mengatasi Penyakit Tifus. 2014.
5. Ambarwati R. FORMULASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI SEDIAAN SALEP EKSTRAK ETANOL DAUN HARENDONG BULU (*Clidemia hirta* L.) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus epidermidis*. *FITOFARMAKA J Ilm Farm*. 2021;11(2):147–54.
6. Fadhli H, Ikhtiarudin I, Lestari P. Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Dari Buah Senduduk Bulu (*Clidemia hirta* (L.) D. Don). *Pharmacon J Farm Indones*. 2020;17(2):92–100.
7. Silva, Tatiane Mendonça da; Ferreira, Heleno Dias; Paula, José Realino de; Fiuza T de S. Morphoanatomical study of *Clidemia hirta* (L.) D. Don. *Res Soc Dev*. 2021;10(7):1–13.
8. Malia O, Samitra D, Lokaria E. PENGARUH AIR REBUSAN DAUN HARENDONG BULU (*Clidemia hirta*) TERHADAP KADAR GULA DARAH MENCIT (*Mus musculus*). *J Biosilampari J Biol*. 2020;3(1):7–12.
9. Suryelita; Etika, Sri Benti; Kurnia NS. ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA STEROID DARI DAUN CEMARA NATAL (*Cupressus funebris* Endl.). *Eksakta [Internet]*. 2017;18(1):85–102. Available from: http://clpsy.journals.pnu.ac.ir/article_3887.html
10. Maryam F, Subehan S, Musthainah L. Isolasi Dan Karakterisasi Senyawa Steroid Dari Ekstrak Biji Mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.). *J Fitofarmaka Indones*. 2020;7(2):6–11.
11. Hidayah, Wihda Wihdatul; Kusriani, Dewi; Fachriyah E. Isolasi, Identifikasi Senyawa Steroid dari Daun Getih-getihan (*Rivina humilis* L.) dan Uji Aktivitas sebagai Antibakteri. *J Kim Sains dan Apl*. 2016;19(1):32–7.
12. Saidi, Nurdin; Ginting BMM. Analisis Metabolit Sekunder. Banda Aceh: Syiah Kuala University Press; 2018.
13. Noviyanti. PENGARUH KEPOLARAN PELARUT TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU BRAZIL BATU (*Psidium guineense* L.) DENGAN METODE DPPH. *J Farm Bahari*. 2016;7(1):29–35.
14. Sanford B. *Pharmaceutical Statistics Practical And Clinical Applications*, Third Edition. New York: Marcel Dekker Inc.; 1997.
15. Mallick SS, Dighe V V. Detection and Estimation of alpha -Amyrin, beta -Sitosterol, Lupeol, and n -Triacontane in Two Medicinal Plants by High Performance Thin Layer Chromatography . *Adv Chem*. 2014 Sep 22;2014:1–7.