

Makalah

**ISOLASI STEROID DARI DAUN CEPLUKAN**  
*(Physalis angulata)*\*

Oleh

**Dra. Ellizar, M.Pd\*\***

PERPUSTAKAAN UNIV. NEGERI PADANG
TERIMA TGL. : 26-7-01
SUMBER/HARGA : H
KOLEKSI : KI
INVENTARIS : 341/K/2001-12(2)
NO. KOLEKSI : 574.194 ELL-1

BKS BIDANG MIPA  
DANTIA  
SEMIRATA 2001  
MIPA UNIVERSITAS LAMPUNG 117 ATC

\* *Diseminarkan pada Seminar Nasional dan Rapat Tahunan (SEMIRATA) ke 14 Bidang MIPA BKS PTN Wilayah Barat di Universitas Lampung, tanggal 29-30 Mei 2001*

\*\* *Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Negeri Padang*

JAGA DAN PERGUNAKAN KOLEKSI  
INI DENGAN BAK  
DIPERUNTUKAN  
DIPERUNTUKAN

# ISOLASI STEROID DARI DAUN CEPLUKAN (*Physalis angulata*)

Dra. Ellizar M. Pd  
Staf Pengajar Jurusan Kimia FMIPA - UNP

## I. PENDAHULUAN

Sebagai negara tropis, Indonesia kaya dengan tanaman berkhasiat yang digunakan sebagai obat tradisional. Penggunaan obat tradisional ini masih berupa ramuan yang diwariskan turun temurun (Rusdi 1988), dan pemanfaatan tumbuhan obat berdasarkan pengalaman. Saat ini khususnya di daerah Sumatera Barat telah banyak dilakukan penelitian mengenai kandungan zat yang bermanfaat sebagai obat dari tumbuhan bahan alam ini. Usaha kearah ini mulai dikembangkan sehingga telah ditemukan senyawa-senyawa berkhasiat yang dapat digunakan untuk pembuatan obat secara komersial. Namun masih banyak tumbuhan yang belum tersentuh penelitian secara ilmiah, sehingga laporan tentang komponen kimia aktif yang terdapat dalam tanaman tersebut masih sedikit sekali (Manjang, 1982) Tumbuhan berkhasiat ini biasanya mengandung senyawa organik aktif biologis yang merupakan metabolit sekunder seperti steroid, terpenoid, flavonoid, alkaloid dan sebagainya.

Melalui survey etnobotani yang dilakukan, telah ditemukan tumbuhan yang digunakan masyarakat Sumatera Barat sebagai obat sakit pinggang, diabetes dan untuk melancarkan peredaran darah. Dari tumbuhan ini, yang diambil adalah daunnya. Tumbuhan ini di daerah Sumbar dikenal dengan nama "latuik-latuik" (ceplukan) dengan nama *Physalis angulata*, yang merupakan tanaman terung-terungan. Tumbuhan ini tumbuh secara liar di tempat yang lembab. Menurut Hembing (1995), nama daerah tumbuhan ini bermacam-macam, seperti leletop (Sumatera), cecendet (Sunda), Ceplukan (Jateng) Jorjotan (Madura), Ciciplukan (Bali) dll.

Tumbuhan ceplukan ini termasuk Divisio Spermatophyta dengan sub divisio Angiospermae, klass Dicotyledonae dan famili Solanaceae. Menurut Hembing tanaman ini dapat digunakan untuk obat influenza, sakit tenggorokan, batuk rejan, bronchitis, gondongan (parotitis) serta pembengkakan buah pelir (orchitis). Setelah dilakukan uji

pendahuluan ternyata daun ceplukan ini mengandung senyawa aktif biologis yaitu steroid.

Steroid merupakan senyawa yang terdapat pada tumbuh-tumbuhan atau dalam tubuh hewan, yang terdiri dari bermacam jenis. Kerangka dasar steroid terdiri dari tiga cincin siklo heksana dan satu cincin siklo pentana yang berfusi satu sama lainnya. Pengelompokan senyawa steroid didasarkan pada efek fisiologis yang diberikan masing-masing kelompok steroid tersebut. Diantaranya kelompok sterol, asam empedu, hormon seks dan sebagainya. Perbedaan kelompok itu terletak pada perbedaan substituen yang melekat pada cincin dasar steroid. Sedang perbedaan antara steroid yang satu dengan yang lain dalam satu kelompok terletak pada panjangnya rantai karbon substituen serta gugus fungsi yang melekat pada substituen R1, R2 dan R3. yang melekat pada cincin dasar, juga posisi gugus fungsi Oksigen dan adanya ikatan rangkap.

Untuk mengidentifikasi senyawa steroid dapat digunakan Pereaksi Lieberman Burchard atau pereaksi Swalloski. Dengan pereaksi Lieberman Burchard digunakan pelarut khloroform yang ditambah dengan anhidrida asam asetat dan asam sulfat pekat. Adanya steroid ditandai dengan terbentuknya warna merah yang berubah menjadi biru. Sedang untuk pereaksi Swalloski digunakan pelarut khloroform dan asam sulfat pekat yang memberikan warna coklat sampai ungu untuk adanya steroid.

## **II. Metode Penelitian**

Sebelum dilakukan isolasi senyawa bahan alam dari tumbuhan, harus dilakukan uji pendahuluan untuk mengetahui kandungan senyawa dalam tumbuhan tersebut. Uji kandungan yang dilakukan meliputi uji terhadap alkaloid, flavonoid, steroid dan terpenoid serta uji saponin. Hasil uji pendahuluan terhadap daun ceplukan, ternyata memberikan hasil positif terhadap uji steroid. Karena itu isolasi dapat dilakukan.

Isolasi dilakukan melalui empat tahap, yaitu:

### **1. Ekstraksi.**

Ambil 2 kg daun ceplukan dirajang halus, lalu dilakukan maserasi (perendaman) dengan 2,5 liter metanol selama 6 hari. Selama perendaman, perlu dikocok sekali sehari

agar proses larutnya senyawa lebih baik. Setelah 6 hari, lakukan penyaringan. Filtrat dikentalkan dengan rotary evaporator kemudian disimpan. Ampas dimaserasi kembali dengan metanol. Pekerjaan ini dilakukan sampai filtrat memberikan hasil negatif terhadap reagen LB yang menandakan semua steroid telah terekstraksi ke dalam pelarut metanol. Semua ekstrak metanol yang diperoleh dikentalkan dengan cara menguapkan sebagian pelarut. Ekstrak kental metanol dimasukkan ke dalam labu pisah, lalu tambahkan n-heksana sebanyak 250 ml dan kocok, lalu diamkan. Setelah terbentuk dua lapisan, lapisan n-heksana dipisahkan dan disimpan. Lakukan penambahan n-heksana beberapa kali sampai uji dengan reagen LB terhadap lapisan metanol memberikan hasil negatif, menandakan semua steroid telah ditarik dari metanol dengan n-heksana. Selanjutnya uapkan pelarut n-heksana dengan rotary evaporator sampai diperoleh ekstrak kental dari steroid kasar.

## **2. Khromatografi Lapisan Tipis (KLT)**

KLT dilakukan untuk mengetahui jumlah komponen steroid yang terdapat dalam sampel. Sampel steroid kasar ditotolkan dengan pipa kapiler pada plat KLT. Sebagai eluen dimasukkan n-heksana : etil asetat dengan perbandingan 7:3 setinggi  $\pm 0,3$  cm, lalu tutup chamber sampai jenuh dengan uap pelarut. Masukkan plat KLT yang telah ditotolkan sampel, lalu tutup chamber kembali. Biarkan terjadinya elusi sampai eluen naik dengan jarak  $\pm 0,5$  cm dari tepi atas plat. Keluarkan plat KLT dari chamber, lalu keringkan plat KLT. Dengan menyinari plat KLT dengan lampu sinar UV, terlihat adanya 5 noda yang terpisah. Pengujian noda ini dapat juga dilakukan dengan cara menyemprot plat yang telah kering dengan reagen LB, akan memberikan lima noda berwarna coklat. Dengan diperolehnya lima noda ini, untuk sementara diperkirakan adanya lima jenis senyawa steroid yang terdapat dalam daun ceplukan.

## **3. Khromatografi Kolom**

Untuk memisahkan komponen-komponen senyawa steroid ini, dilakukan dengan kolom khromatografi. Sebagai adsorben digunakan silika gel 60 ukuran 70-230 mesh. Kolom yang telah bersih dikeringkan. Masukkan kapas ke dalam kolom sebagai alas agar tidak ada silika yang masuk ke dalam vial penampung eluen selama pengerjaan elusi.

Selanjutnya buat bubur silika denganmencampurkan silika dengan pelarut n-heksana, masukkan ke dalam kolom sedemikian rupa sehinga tidak ada gelembung udara yang terdapat dalam kolom. Setelah silika sebagai adsorben cukup tingginya dalam kolom, lakukan elusi berkali-kali dengan mengalirkan n-heksana dalam kolom sampai silika menjadi padat. Tutup kran, dan masukkan ekstrak kental n-heksana ke dalam kolom, biarkan pelarut turun sampai pelarut tinggal sedikit dalam kolom. Setelah itu baru dilakukan elusi dengan menggunakan pelarut n-heksana:etil asetat secara SGP (Step Gradien Polarity), yaitu dengan cara meningkatkan kepolaran pelarut. Eluat ditampung dengan vial ukuran  $\pm$  15 ml yang telah diberi nomor urut. Lalukan elusi sampai selesai yang ditandai dengan mentes eluat yang keluar memberikan hasil negatif terhadap uji reagen LB. Semua eluat dalam vial di tes dengan reagen LB. Terhadap eluat yang memberikan hasil positif terhadap reagen LB, lakukan KLT untuk melihat Rf noda yang dihasilkan. Eluat yang mempunyai harga Rf sama dikumpulkan dalam satu wadah untuk dikristalkan.

#### 4. Kristalisasi.

Eluat yang mengkristal direkristalisasi dengan cara melarutkan dalam metanol panas, saring dan biarkan dingin. Simpan sampai terbentuk kembali kristal. Lakukan beberapa kali sampai diperoleh kristal yang bersih. Uji kemurnian kristal dilakukan dengan melakukan uji titik leleh. Jika range titik leleh kecil (1-3), diperkirakan kristal telah murni. Selain itu dilakukan juga uji dengan KLT dengan bermacam-macam pelarut. Jika hasil KLT dengan masing-masing pelarut memberikan noda tunggal, menandakan kristal telah murni.

Untuk menentukan Rf dari steroid, dihitung dengan cara :

$$Rf = \frac{\text{Jarak - tempuh.senyawa}}{\text{Jarak.tempuh.eluen}}$$

### III. Hasil dan Pembahasan

Ekstraksi dilakukan terhadap 2 kg sampel daun ceplukan yang segar yang direndam dengan metanol. Pemakaian sampel yang segar bertujuan untuk mengurangi kemungkinan terbentuknya polimer yang dapat terjadi akibat proses enzimatik selama proses pengeringan dan penyimpanan sampel. Tujuan lain adalah agar diperoleh ekstrak yang relatif bebas dari bahan pengganggu selama penyimpanan dan pengeringan seperti jamur. Sampel dipersiapkan dengan cara merajang sampel agar pelarut lebih mudah melarutkan senyawa yang akan diisolasi. Sedang pelarut metanol digunakan karena metanol dapat melarutkan hampir semua senyawa organik dalam tumbuhan, baik yang bersifat polar maupun yang non polar. Setelah diperoleh ekstrak metanol, dipekatkan dengan rotary evaporator yang dilanjutkan fraksinasi dengan n-heksana, diperoleh ekstrak kental n-heksana sebanyak 19 gram. Ekstrak ini memberikan hasil positif saat diuji dengan reagen Lieberman Burchard. Penambahan n-heksana bertujuan untuk memisahkan steroid dari komponen yang polar.

Pengujian dengan KLT dengan eluen N-heksana : etil asetat dengan perbandingan 7:3 telah menghasilkan lima noda dengan Rf 0,20; 0,50; 0,65; 0,82 dan 0,90. Dari hasil ini diketahui bahwa senyawa steroid yang terkandung dalam daun ceplukan terdiri dari lima fraksi. Untuk mengisolasi senyawa ini, dilakukan khromatografi kolom dengan menggunakan eluen n-heksana : etil asetat secara SGP (step Gradien Polarity). Hasil elusidasi ditampung dengan 50 buah vial ukuran 15 ml yang telah diberi nomor urut. Setiap eluat diuji dengan reagen LB. Setiap hasil uji positif dilakukan penentuan harga Rf dengan KLT. Eluat dengan harga Rf yang sama digabung, kemudian dikristalkan. Hasil lengkap pengujian adalah sebagai berikut :

Fraksi Kolom Ekstrak Kasar Steroid Menggunakan  
Sistem Elusi Bergradien (n-heksana:etil asetat)

VIAL	FRAKSI	KETERANGAN
1-8	1	cairan kuning, uji steroid negatif
9-10	2	endapan hijau, uji steroid positif
11-18	3	endapan kuning, uji steroid positif
19-20	4	endapan putih, uji steroid positif
21-24	5	kristal putih, uji steroid positif
25-30	6	kristal hijau, uji steroid positif
31-50	7	endapan hijau, uji steroid negatif

Dari lima fraksi yang memberikan hasil uji positif terhadap steroid, setelah pelarut diuapkan, hanya dua fraksi yang menghasilkan kristal. Diperoleh kristal berbentuk amorf kehijauan. Kristal ini kemudian dicuci dengan metanol panas, disaring dan di rekristalisasi sampai diperoleh kristal yang putih. Dari Fraksi 5 diperoleh kristal putih sebanyak 14,8 mg yang disebut steroid A, sedang dari fraksi 6 diperoleh kristal putih sebanyak 121,4 mg yang disebut steroid B.

Uji kemurnian kristal yang diperoleh dilakukan dengan KLT menggunakan beberapa pelarut yang berbeda, yaitu etil asetat, campuran n-heksana:etil asetat, khloroform dan campuran khloroform:metanol. semua KLT memberikan noda tunggal dengan Rf sebagai berikut:

Hasil Khromatografi Lapisan Tipis

No	Eluen	Rf	
		St eroid A	St eroid B
1	Etil asetat	0,87	0,97
2	n-heksana: etil asetat	0,30	0,50
3	Khloroform	0,22	0,32
4	Khloroform : metanol	0,92	0,95

Pengujian kemurnian lain yang dilakukan adalah menentukan titik leleh kristal yang diperoleh, Hasil pengujian titik leleh untuk steroid A adalah 148-150 ° C, sedang untuk steroid B adalah 139-142 ° C. Karena rentang titik leleh yang diperoleh antara 2 - 3 ° C, maka dapat dikatakan bahwa kristal steroid A dan Steroid B yang diperoleh telah murni. Adapun tiga fraksi lain yang juga memberikan hasil positif terhadap reagen LB, setelah dicoba tetap tidak mengkristal, tidak dilanjutkan, diduga tidak mau mengkristal karena kadarnya yang kecil.

#### IV. Kesimpulan dan Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Pengujian jumlah komponen steroid dari daun ceplukan dengan KLT memberikan lima noda dengan Rf 0,20; 0,50; 0,65; 0,82 dan 0,90.
2. Isolasi steroid daun ceplukan melalui maserasi dengan metanol, dilanjutkan dengan n-heksan dan khromatografi kolom dengan eluen n-heksana : etil asetat secara gradien menghasilkan :
  - Steroid A sebanyak 14,8 mg dengan titik leleh 148-150 °C dan Rf 0,50 dengan eluen n-heksana : etil asetat.
  - Steroid B sebanyak 121,4 mg dengan titik leleh 1139-142 C dan Rf 0,20 dengan eluen n-heksana: etil asetat.
  - Tiga fraksi lain yang memberikan hasil positif dengan reagen LB tidak mengkristal, Kemungkinan tidak terbentuknya kristal karena kadarnya terlalu kecil.

Saran : Penelitian ini sebaiknya dilanjutkan untuk menentukan rumus struktur kristal yang diperoleh. Selain itu juga perlu dilakukan pengujian efek farmakologisnya. Tapi karena keterbatasan waktu dan dana, belum dapat dilakukan. Direncanakan akan dilanjutkan dalam waktu dekat.



574.19

ELL

10

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, S.A. 1986. *Kimia Organik Bahan Alam*. Modul Universitas Terbuka, Departemen P dan K Jakarta.
- Arbain, D. dan Tamin, R. 1985. *Survey Fito Kimia, Salah Satu Cara Pendekatan*. Proyek HEDS USSAID. Unand Padang.
- Fieser, F.L.M. Fieser. 1986. *Organic Chemistry*. Third Edition. Hall Chapma. Ltd. London.
- Harbourne. L. B. 1987. *Metode Fito Kimia, Penentuan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*, Penerjemah: Kosasih-Padmawinata dan Iwang, Stuttgart. Edisi 2. ITB Bandung.
- Hembing. 1992. *Tanaman Berkhasiat Obat Di Indonesia*. Jakarta.
- Manjang, Y. 1985. *Kimia Analisa Organik*. Proyek Peningkatan Pengembangan Perguruan Tinggi Universitas Andalas Padang.
- Redley, N.H. 1967. *The Flora of The Malay Peninsula. Vol. I*. Ireeve & Co. LTD. London.
- Rusdi. 1998. *Tumbuhan Sebagai Bahan Obat*. Pusat Penelitian Unand Padang.
- Stahl, E. 1969. *Thin Layer Chromatography, 2nd. Ed.* Toppan Company Limited. Tokyo, Japan.
- Tobing R.L. 1989. *Kimia Bahan Alam*. Dept. P dan K. P2LPTK Jakarta.

UNIVERSITAS PADJARAN  
FACULTY OF SCIENCE  
DEPARTMENT OF CHEMISTRY