

**PENETAPAN KADAR STEVIOSIDA PADA SIMPLISIA
DAN EKSTRAK DAUN *Stevia rebaudiana*
DARI TIGA DAERAH BERBEDA**

Dian Kartikasari^{*1)}, Nurkhasanah²⁾, Suwijiyono Pramono³⁾

*1) Akademi Farmasi Yarsi Pontianak

2) Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan

3) Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada

Email: diankartikasari223@gmail.com

INTISARI

*Bahan baku obat dari hasil pertanian atau kumpulan tumbuhan liar kandungan kimianya tidak dapat dijamin selalu konstan karena adanya variabel bibit, tempat tubuh, iklim, kondisi (umur dan cara panen). Kandungan senyawa kimia yang bertanggung jawab terhadap respon biologis harus mempunyai spesifikasi kimia, yaitu informasi komposisi (jenis dan kadar). Khasiat obat tradisional berdasarkan senyawa kimia yang terkandung. Oleh karena itu penetapan kadar zat aktif suatu simplisia dan ekstrak perlu dilakukan guna menjamin bahwa suatu produk obat tradisional dapat terjamin mutu dan khasiatnya. Penetapan kadar dilakukan terhadap simplisia dan ekstrak etanol 50% daun *Stevia rebaudiana*. Penetapan kadar terhadap simplisia dan ekstrak daun stevia dari daerah Malang, Tawangmangu, dan Bogor menggunakan metode *High Performance Liquid Chromatograph*. Hasil penetapan kadar steviosida pada simplisia dan ekstrak daun stevia diperoleh kadar steviosida pada simplisia daun stevia dari Malang, Bogor, Tawangmangu berturut-turut yaitu 5,65%; 3,89%; 1,59%. Kadar steviosida pada ekstrak daun stevia dari Malang, Bogor, Tawangmangu berturut-turut yaitu 14,14%; 22,40%; 66,65%.*

Kata kunci: Daun *Stevia Rebaudiana*, kadar steviosida, *High Performance Liquid Chromatograph*.

ABSTRACT

*Pharmaceutical raw materials from agriculture or collection of wild plant chemical content can not be guaranteed always constant due to variable seed, the body, the climate, the conditions (age and how to harvest). The content of the chemical compounds responsible for the biological response must have chemical specifications, namely the composition information (type and concentration). The efficacy of traditional medicine based on the chemical compound. Therefore, the assay of the active substance a crude drugs and extracts needs to be done to ensure that a traditional medicinal products can be assured of quality and usefulness. The assay performed on botanicals and 50% ethanol extract of leaves of *Stevia rebaudiana*. The assay of the crude drugs and extracts from the stevia leaf area of Malang, Tawangmangu, and Bogor using *High Performance Liquid Chromatograph* method. Results of the assay stevioside on simplicia and stevia leaf extract obtained stevioside levels in simplicia stevia leaves from Malang, Bogor, Tawangmangu consecutive namely 5.65%; 3.89%; 1.59%. Stevioside levels in the stevia leaf extract of Malang, Bogor, Tawangmangu respectively, are 14.14%; 22.40%; 66.65%.*

Key word: *Stevia rebaudiana* leaf, stevioside content, *High Performance Liquid Chromatograph*

Corresponding author:

Dian kartikasari

Akademi Farmasi Yarsi Pontianak

JL. Panglima A'im No. 2 Pontianak

Email: diankartikasari223@gmail.com

PENDAHULUAN

Perkembangan obat tradisional didukung oleh Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia, tentang fitofarmaka, yang berarti diperlukannya adanya pengendalian mutu simplisia yang akan digunakan untuk bahan baku obat atau sediaan galenik (Depkes, 1979). Suatu simplisia tidak dapat dikatakan bermutu jika tidak memenuhi persyaratan mutu yang tertera dalam monografi

simplisia salah satunya kandungan kimia berupa kadar zat aktif yang berhasiat. Persyaratan mutu ini berlaku bagi simplisia dan ekstrak yang digunakan dengan tujuan pengobatan dan pemeliharaan kesehatan (Depkes, 2008).

Bahan baku yang berasal dari lahan pertanian maupun dari tumbuhan liar kandungan bahan kimianya tidak dapat dijamin selalu konstan karena adanya berbagai variabel yang dapat mempengaruhi jumlah dan kandungan bahan kimia dari tumbuhan tersebut. Penyediaan bahan baku obat alam semestinya harus yang aman, berkhasiat, dan teruji secara ilmiah.

Stevia Rebaudiana adalah suatu sumber bahan pemanis alami yang mempunyai tingkat kemanisan 200-300 kali lebih manis dari pada gula tebu (Ratnani, 2005). Beberapa penelitian menyebutkan bahwa steviosida pada daun stevia mengandung kalori yang rendah sampai dengan nol kalori, sehingga aman bagi penderita diabetes atau konsumen yang sedang melakukan diet. Berdasarkan hasil penelitian, steviosida aman dikonsumsi oleh masyarakat umum karena tidak mempunyai efek teratogenik, mutagenik atau karsinogenik (Martono, 2011). Daun stevia memiliki aktivitas antioksidan sehingga memiliki kemampuan untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan mencegah radikal bebas penyebab penyakit (Mandal, 2013). Konstituen utama dalam daun stevia adalah glikosida diterpenoid, yang berpotensi sebagai pemanis adalah steviosida, rebaudiosides dan dulcosida (Chaturvedula, 2011).

Tumbuhan yang tumbuh ditempat berbeda pastinya memiliki kandungan aktif dan unsur hara yang berbeda. Pada penelitian ini daun stevia yang digunakan berasal dari daerah Bogor, Tawangmangu, dan Malang. Diharapkan, simplisia dan ekstrak daun *S. rebaudiana* dari ketiga daerah tersebut dapat ditetapkan kadar steviosidanya sehingga terjamin mutu dan khasiatnya.

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menetapkan kadar steviosida pada simplisia dan ekstrak daun stevia dari daerah Malang, Bogor, dan Tawangmangu dengan *High Performance Liquid Chromatograph*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kandungan kadar steviosida pada simplisia dan ekstrak daun stevia dari tiga daerah berbeda, sehingga dapat digunakan sebagai acuan dalam penelitian berikutnya maupun penggunaan sebagai pengobatan.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, alat-alat gelas laboratorium, evaporator, HPLC. Simplisia daun *Stevia rebaudiana* diambil dari daerah Tawangmangu, Bogor, dan Malang. Etanol, aquadest.

Jalannya Penelitian

1. Pembuatan serbuk simplisia

Penanganan pasca panen bahan simplisia yang telah bersih dikeringkan dibawah sinar matahari dengan ditutupi kain hitam dengan alas pengering terbuat dari bambu. Setelah kering simplisia diserbuk dengan menggunakan blender.

2. Pembuatan ekstrak 50% secara maserasi

Ekstrak etanol daun stevia dibuat dengan metode maserasi menggunakan penyari etanol 50%. Maserat diperoleh kemudian pelarutnya diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak cair, penguapan dilanjutkan diatas waterbath pada suhu terjaga sampai diperoleh ekstrak kental.

3. Penetapan Kadar dengan HPLC

Penetapan kadar simplisia dan ekstrak daun stevia menggunakan HPLC dengan kondisi operasi yang digunakan yaitu, fase gerak yang digunakan air:metanol (80:20) pH 3,0; kolom yang digunakan adalah C-18 atau oktadensil silika (ODS); dengan panjang kolom 25cm dan diameter 4,6mm; temperatur percobaan HPLC 30°C; laju alir 0,6ml/menit; volume larutan yang diinjeksikan 20µl dan panjang gelombang 210 nm.

ANALISIS DATA

Data yang diperoleh dari hasil pengukuran kadar steviosida menggunakan HPLC dianalisis secara deskriptif dan jelas.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun *S. rebaudiana* yang diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi. Metode maserasi dipilih sebagai metode dalam mengekstraksi karena adanya sifat daun yang lunak dan mudah mengembang dalam cairan pengekstraksi. Selain itu, maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana karena cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif ini akan larut dan adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif didalam dengan diluar sel menyebabkan larutan yang terpekat keluar hingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di dalam dengan di luar sel (Markham, 1988). Cairan penyari yang digunakan dalam proses maserasi ini adalah etanol 50%.

Organoleptik

Pemeriksaan organoleptik bertujuan memberikan pengenalan awal simplisia dan ekstrak secara objektif berupa bentuk, warna, bau, dan rasa. Data ini juga dapat digunakan sebagai dasar untuk menguji simplisia dan ekstrak selama penyimpanan yang dapat mempengaruhi khasiatnya. Hasil pemeriksaan organoleptik dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel I. Data Organoleptik Simplisia dan Ekstrak Daun *S. rebaudiana*

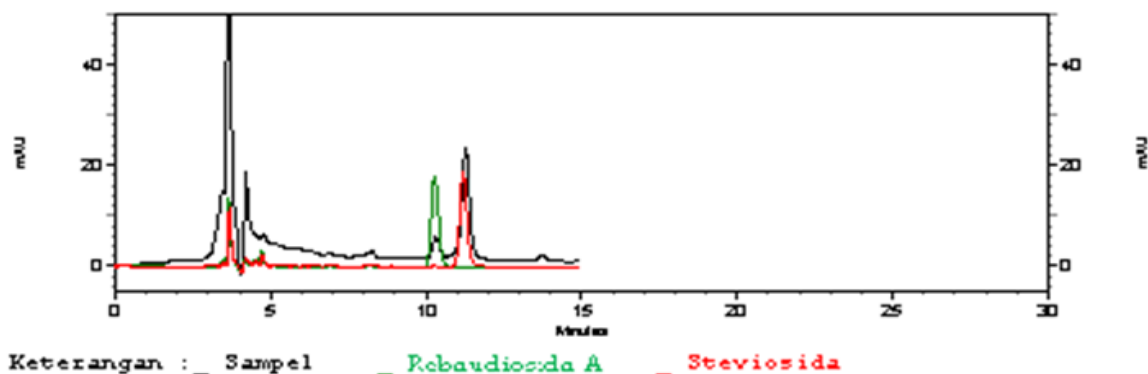
Parameter organoleptik	Jenis	Daerah pengambilan sampel		
		Tawangmangu	Bogor	Malang
Bentuk	Simplisia	Serbuk	Serbuk	Serbuk
	Ekstrak	Kental	Kental	Kental
Warna	Simplisia	Hijau kecoklatan	Hijau kecoklatan	Hijau kecoklatan
	Ekstrak	Hitam	Hitam	Hitam
Bau	Simplisia	Khas	Khas	Khas
	Ekstrak	Caramel	Caramel	Caramel
Rasa	Simplisia	Manis	Manis	Manis
	Ekstrak	Manis agak pahit	Manis agak pahit	Manis agak pahit

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan diperoleh data sebagai berikut: simplisia daun *S. rebaudiana* yang sudah dikeringkan dan berasal dari daerah Malang, Bogor, Tawangmangu adalah berbentuk serbuk, berwarna hijau kecoklatan, berbau khas, dan berasa manis; ekstrak etanol 50% daun *S. rebaudiana* dari daerah Malang, Bogor, Tawangmangu (T. Mangu) adalah berbentuk kental, berwarna hitam, berbau karamel, dan berasa manis agak pahit.

Penetapan Kadar Steviosida dengan HPLC

Fase gerak yang digunakan pada penelitian ini yaitu aquadest: metanol (80:20). Fase gerak pada HPLC bertindak sebagai pelarut sangat mempengaruhi waktu retensi, sehingga pelarut yang digunakan harus benar-benar jernih dan murni. Kromatogram larutan standar steviosida dan sampel dapat dilihat pada gambar 1.

Hasil yang terlihat pada tabel II menunjukkan data absorbansi menurun dan persen inhibisi yang meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi. Hal ini menunjukkan bahwa terjadi reaksi antara sampel (fraksi etanol, kloroform, vitamin C) dengan DPPH pada saat proses inkubasi. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian (Putri, 2014), bahwa terjadi pengurangan konsentrasi DPPH setelah direaksikan dengan sampel. Hasil penentuan nilai regresi linier fraksi etanol, kloroform dan vitamin C dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Kromatogram larutan standar steviosida (warna merah) dan sampel (warna hitam). Waktu retensi steviosida 11,267 menit

Penentuan kadar steviosida secara kuantitatif memerlukan larutan standar yaitu steviosida murni. Pada data kromatogram larutan standar diperoleh waktu retensi yaitu 11,267 menit dan area sebesar 394140. Waktu retensi merupakan jangka waktu yang terukur saat sampel melewati HPLC. Larutan standar steviosida yang dibuat yaitu, 20 μ g/ml, 40 μ g/ml, 80 μ g/ml, 100 μ g/ml, 120 μ g/ml. Tabel data larutan standar steviosida yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel II.

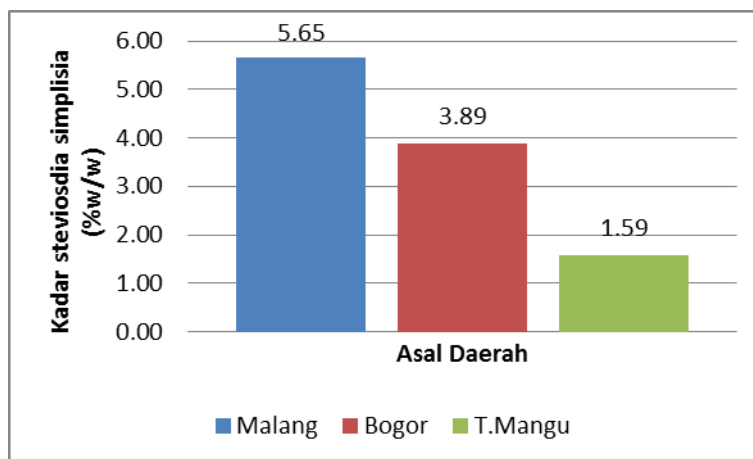
Tabel II. Larutan Standar Steviosida

Konsentrasi μ g/ml	Luas area	Waktu retensi
20	67,728	10,683
40	125,744	11,167
80	237,311	11,200
100	294,809	11,433
120	359,678	10,717

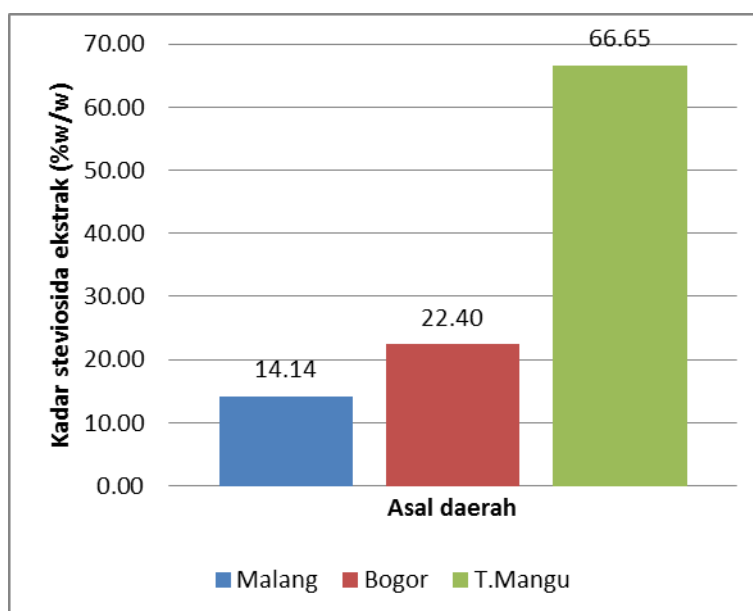
Berdasarkan tabel 2 di atas maka dibuat kurva kalibrasi, sehingga diperoleh persamaan garis $y = 2,888x + 9,091$ dengan $R^2 = 0,9994$. Setelah dilakukan perhitungan menggunakan persamaan garis, maka didapat kadar steviosida pada simplisia dan ekstrak daun *S. rebaudiana* dapat dilihat pada Tabel 3 dan disajikan pada Gambar 2 dan 3.

Tabel III. Kadar steviosida pada simplisia dan ekstrak daun *S.rebaudiana* dari daerah Bogor, Malang dan Tawangmangu

Asal daerah	Kadar (% w/w)
Simplisia Malang	5,65
Simplisia Bogor	3,89
Simplisia T. Mangu	1,59
Ekstrak Malang	14,14
Ekstrak Bogor	22,40
Ekstrak T. Mangu	66,65



Gambar 21. Kadar steviosida pada simplisia daun *S. Rebaudiana*



Gambar 3. Kadar steviosida pada ekstrak daun *S. rebaudiana*

Berdasarkan data pada tabel 2 diketahui bahwa kadar tertinggi ekstrak adalah ekstrak daun *S. rebaudiana* yang berasal dari Tawangmangu yaitu 66,65%, dan kadar tertinggi pada simplisia daun *S. rebaudiana* yang berasal dari Malang yaitu 5,65%. Dalam hal ini terlihat bahwa kandungan steviosida dalam bentuk simplisia dari daerah Malang lebih tinggi dibanding daerah Bogor dan Tawangmangu. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh susut pengeringan pada simplisia dari Malang jauh lebih kecil daripada simplisia dari Bogor dan Tawangmangu. Namun ketika sudah menjadi ekstrak kandungan steviosida justru lebih rendah dibanding daerah Bogor dan Tawangmangu. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh banyaknya zat lain yang tersari sehingga kadar steviosidanya menjadi kecil. Sebaliknya kadar steviosida ekstrak dari Tawangmangu sangat jauh lebih besar. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak Tawangmangu dengan rendemen rendah tetapi memiliki kadar steviosida tinggi. Jika ditinjau dari sisi ekonomi akan lebih menguntungkan.

KESIMPULAN

Telah diperoleh nilai kadar steviosida dari tiga daerah pada simplisia tidak kurang dari 1,59% dan kadar steviosida pada ekstrak tidak kurang dari 14,14%.

DAFTAR PUSTAKA

- Chaturvedula, V., Upreti, M., & Prakash, I. (2011). Diterpene Glycoside from Stevia Rebaudiana, Article Molecules. In O. C. The Coca Cola Company. Atlanta, USA: One Coca-Cola Plaza.
- Depkes. (1979). Farmakope Indonesia Edisi III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Depkes. (2008). Farmakope Herbal Indonesia. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Mandal, B., & Madan, S. (2013). Preliminary Phytochemical Screening and Evaluation of Free Radical Scavenging Activity of Stevia Rebaudiana Bertoni from Different Geographical Source. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, IC Journal*, 2(1), 14-19.
- Markham, K.R., 1988, Cara Mengidentifikasi Flavonoid terjemahan, K. Radmawinata, Penerbit ITB, Bandung
- Martono, Y., Dwiastuti, R., & Sriwahyuni, A. (2011). Optimalisasi Teknik Kristalisasi Steviosida dari Stevia Rebaudiana (Bert.) sebagai Pemanis Alami Rendah Kalori. Kementrian Pendidikan Nasional. Jakarta: Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi (Dirjen DIKTI).
- Ratnani, R., & Anggraeni, R. (2005). Ekstraksi Gula Stevia dari Tanaman Stevia Rebaudiana Bertoni,. *Momentum*, 1, 27-32.