

Standardization of Diosgenin Compounds in Plants: Review Article

Standarisasi Senyawa Diosgenin Pada Tumbuhan: Review Artikel

Vriezka Mierza¹⁾, Anisa Fauziah¹⁾, Riani, Sulastri¹⁾, Siti Farikha¹⁾, Faizal Auladi Rivianto¹⁾

¹⁾Universitas Singaperbangsa Karawang, Karawang, Jawa Barat. Indonesia.

*Author e-mail: vriezka.mierza@fikes.unsika.ac.id; 1910631210003@student.unsika.ac.id

ABSTRACT

Diosgenin merupakan sapogenin steroid tersusun dari gula hidrofilik dengan aglikon steroid hidrofobik yang berfungsi sebagai bahan awal dalam memproduksi obat steroid dan hormon. Diosgenin secara farmakologi telah banyak digunakan sebagai pengobatan leukemia, peradangan, hiperkolestrolema, dan kanker. Senyawa diosgenin terkandung pada tumbuhan seperti abutilon indicum L, Coctus speciosus, umbi dioscorea spp dan biji fenugreek. Untuk menjamin mutu produk bahan ekstrak harus dilakukan standarisasi terhadap senyawa aktif, agar dapat diperoleh bahan baku yang seragam dan menjamin efek farmakologi pada tanaman tersebut. Review artikel ini dilakukan dengan studi literatur menggunakan data sekunder berupa jurnal dan artikel untuk menstandarisasi senyawa diosgenin pada beberapa tumbuhan dengan menggunakan metode high performance liquid chromatography (HPLC), high performance thin layer chromatography (HPTLC) dan kromatografi lapis tipis (KLT).

Keywords: *Diosgenin, Standarisasi, HPL; HPTLC; KLT.*

ABSTRAK

Diosgenin is a steroid sapogenin composed of a hydrophilic sugar with a hydrophobic steroid aglycone which functions as a starting material in the production of steroid drugs and hormones. Pharmacologically, diosgenin has been widely used as a treatment for leukemia, inflammation, hypercholesterolemia, and cancer. Diosgenin compounds are contained in plants such as abutilon indicum L, Coctus speciosus, tubers of Dioscorea spp, and fenugreek seeds. In order to guarantee the quality of the product, the active compounds must be standardized, so that uniform raw materials can be obtained and the pharmacological effects of these plants can be guaranteed. This article review was carried out by means of literature studies using secondary data in the form of journals and articles to standardize diosgenin compounds in several plants using high performance liquid chromatography (HPLC), high performance thin layer chromatography (HPTLC), ultra high performance liquid chromatography (UPLC) methods. and thin layer chromatography (TLC)

Kata kunci: *Diosgenin, Standardized; HPLC; HPTLC; KLT.*

PENDAHULUAN

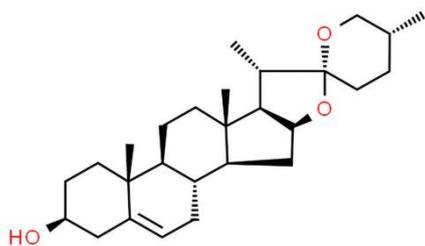
Indonesia adalah negara kepulauan yang terletak diantara dua samudera dan dua benua dengan luas sekitar 9 juta km² dengan 17.500 pulau. Sehingga dengan kondisi geografis tersebut

menjadikan Indonesia sebagai salah satu negara dengan keanekaragaman hayati terbesar didunia (*megabiodiversity countries*) setelah negara Brazil dan Zaire. Sebagai negara dengan keanekaragaman hayati terbesar Indonesia memiliki 25.000-30.000 spesies tumbuhan.

Dengan biodiversitas yang besar, tersimpan potensi tumbuhan berkhasiat yang dapat dimanfaatkan lebih lanjut.

Tumbuhan mengandung berbagai macam senyawa bioaktif yang dapat dimanfaatkan dalam bidang farmakologi. Diantaranya dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan, antibiotik, antikanker, antibakteri, antikoagulan, serta antigen dalam pengendalian hama yang ramah lingkungan (Ruma et al., 2021). Senyawa bioaktif adalah senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan melalui serangkaian reaksi metabolisme sekunder. Tumbuhan yang memiliki efek farmakologi menghasilkan berbagai senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, phenolik, saponin, flavonoid, steroid dan terpenoid (Putra Jatmiko et al., 2014).

Diosgenin memiliki rumus $C_{27}H_{42}O_3$ merupakan golongan saponin steroid (sapogenin) yang terdapat pada kacang-kacangan dan umbi. Diosgenin merupakan spirostanol saponin yang tersusun dari gula hidrofilik dengan aglikon steroid hidrofobik.



Gambar 1. Struktur Diosgenin

Dalam bidang industri farmasi diosgenin merupakan prekursor utama dalam produksi steroid sintetik seperti kortikosteroid, kontrasepsi oral, dan hormon seksual. Aktivitas diosgenin telah diuji secara *in vitro* untuk mengetahui efektivitasnya terhadap rasio poliferasi, apoptosis, serta distribusi siklus sel. Aktivitas antikanker pada senyawa diosgenin berhubungan dengan keberadaan ikatan hetero-gula dan 5,6-ikatan ganda pada strukturnya (Prabowo et al., 2014). Tanaman yang mengandung diosgenin antara lain *abutilon indicum L*, *Coctus speciosus*, umbi *dioscorea spp*, *tribulus terrestris L*, dan biji *fenugreek*.

Tumbuhan di Indonesia banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional indonesia (jamu), obat

herbal terstandar, dan fitokimia. Untuk menjamin mutu produk bahan ekstrak harus dilakukan standarisasi terhadap senyawa aktif. Tujuan standarisasi adalah agar dapat diperoleh bahan baku yang seragam dan akhirnya dapat menjamin efek farmakologi pada tanaman tersebut. Standarisasi adalah proses penjaminan produk akhir agar memiliki nilai parameter tertentu dan ditetapkan terlebih dahulu. Standarisasi merupakan proses penetapan sifat didasarkan pada parameter tertentu dalam mencapai derajat kualitas yang sama. (Anam et al., 2013). Untuk menjamin mutu serta keamanan pada ekstrak yang mengandung senyawa diosgenin maka dilakukan *review artikel* yang bertujuan untuk menstandarisasi senyawa diosgenin pada tumbuhan dengan menggunakan metode *high performance liquid chromatography* (HPLC), *high performance thin layer chromatography* (HPTLC), dan kromatografi lapis tipis (KLT).

METODE

Metode penelitian yang dilakukan pada penelitian ini, yaitu studi literatur dengan mengumpulkan sebanyak 10 jurnal terpilih yang didapatkan melalui google scholar dan pubmed dengan tema artikel yang berhubungan dengan standarisasi senyawa diosgenin. Pencarian sumber menggunakan kata kunci isolasi senyawa diosgenin. Kemudian dari 10 jurnal di seleksi kembali menjadi 5 jurnal terpilih yang sesuai tema yang telah terindeks sinta maupun scopus.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Diosgenin merupakan senyawa saponin steroid (sapogenin) yang umumnya terdapat dalam umbi dan kacang-kacangan. Penentuan kadar atau konsentrasi senyawa diosgenin memerlukan beberapa tahapan yaitu, pertama skrining fitokimia untuk mengetahui adanya senyawa saponin, kedua ekstraksi untuk memisahkan senyawa dengan bantuan pelarut sesuai dengan kepolarannya, ketiga hidrolisis untuk mendapatkan aglikon (sapogenin) dan keempat isolasi senyawa untuk mendeteksi adanya kadar diosgenin yang terdapat dalam sampel. Proses isolasi dirangkum dalam tabel 1 dan dijabarkan dalam pembahasan.

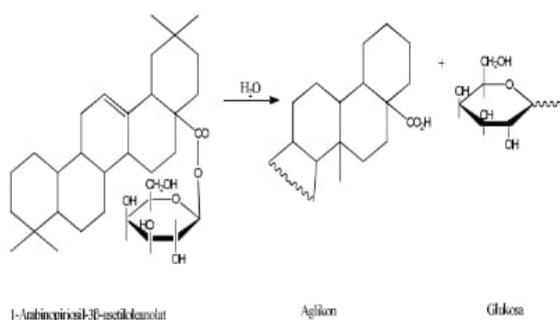
Tabel 1. Ekstraksi dan isolasi senyawa diosgenin

No	Sumber	Tanaman	Ekstraksi	Isolasi	Hasil
1.	Susanti et al., 2017	Pacing (<i>Costus speciosus</i>)	Metode : Infundasi Pelarut : Aquabidest	HPLC Fase diam : kolom LiChrospher 100 RP-18 encapped Fase gerak : Asetonitril – air (9:1 v/v) Laju alir : 2 mL/menit Detektor : UV 205 nm	Pada sampel tanaman pacing menghasilkan konsentrasi senyawa diosgenin sebesar 0.28%
2.	Singh et al., 2016	Kembang sore (<i>Abutilon indicum</i>)	Metode : ultrasonikasi Pelarut: Etanol dan metanol	HPTLC Fase diam : Silika gel 60 f254 Fase gerak : Toluena : etil asetat : asam format (6:5:1) Detektor : 254 nm dan 366 nm Reagen : anisaldehyda	Pada sampel kembang sore (<i>A.indicum</i>) menghasilkan ekstrak methanol sebesar 0.43±0.018 dan ekstrak etanol sebesar 0.10±0.009 dengan nilai Rf 0.79 berwarna coklat, biru, ungu dan kuning
3.	Nazir et al., 2021	Umbi (<i>D.deltoidea</i>)	Metode: refluks Pelarut: etanol:air(30:60)	HPTLC Fase diam : Plat Si60F254 Fase gerak : Toluena: kloroform:aseton (2:8:2) Reagen : amisaldehyda	Pada sampel ubi (<i>D.deltoidea</i>) menghasilkan konsentrasi senyawa diosgenin sebesar 0.393%-1.016% dengan nilai Rf 0.78 berwarna hijau
4.	Król-Kogus et al., 2018	Biji Fenugreek (<i>fenugreek seeds</i>)	Metode : sokhlet Pelarut : methanol	KLT -Densitometri Fase diam : Si60F254 Fase gerak : n-heptana : etil asetat (7:3) Reagen : anisaldehyd Detektor :UV 426 dan 590 nm	Pada sampel biji fenugreek menghasilkan konsentrasi senyawa diosgenin sebesar 0.12-0.18% dengan nilai Rf 0.47 berwarna coklat

5.	Burda et al., 2019	<i>Tribulus terrestris L</i>	Metode : Ultrasonik Pelarut : metanol	HPTLC-Densitometri Fase diam : Silica gel Fase gerak: Kloroform:methanol:air(26:14:4) Detektor : UV 365 nm Reagen :aisaldehida	Pada sampel Tribulus terrestris L menghasilkan konsentrasi senyawa diosgenin sebesar 0.11 % dengan nilai Rf 0.82 berwarna coklat
----	--------------------	------------------------------	--	--	---

Pertama skringing fitokimia, skringing fitokimia merupakan uji pendahuluan dalam menentukan golongan senyawa metabolit sekunder yang mempunyai aktivitas biologi dilakukan dengan mereaksikan suatu sampel menggunakan pereaksi-pereaksi tertentu untuk mengetahui golongan senyawa kimia yang terdapat dalam tumbuhan (Nainggolan et al., 2019).

Diosgenin termasuk dalam golongan saponin steroid (sapogenin), maka dilakukan uji skringing senyawa saponin dengan cara menimbang 0.5 gram sampel yang telah dihaluskan, kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 mL air panas. dinginkan dan dikocok-kocok kuat selama 10 detik akan menghasilkan buih. Hasil positif sebagai penentu adanya saponin ditunjukkan dengan munculnya buih yang menetap selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1 cm sampai 10 cm dan setelah ditambah HCL 2N buih dan busa tidak menghilang dikarenakan memiliki senyawa penyusun berupa rantai gula yang bersifat hidrofilik dan bagian rantai aglikon (sapogenin) bersifat hidrofobik (Lumbaraja et al., 2019; Nainggolan et al., 2019).



Gambar 2. Reaksi Hidrolisis Saponin.

Kedua proses ekstraksi, ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi proses ekstraksi, yaitu ukuran sampel, pelarut dan sifat sampel. Sampel perlu di potong kecil-kecil atau dibentuk serbuk kering terlebih dahulu, hal ini bertujuan untuk mendapatkan luas permukaan yang bertambah luas dan sampel berkontak langsung dengan pelarut semakin tinggi sehingga penarikan senyawa yang diinginkan akan lebih optimal. Senyawa saponin merupakan senyawa polar, maka pelarut yang cocok untuk menarik senyawa saponin dalam sampel, yaitu pelarut yang bersifat polar, seperti air, etanol dan methanol. Namun senyawa saponin akan lebih banyak didapatkan padaa proses ekstraksi menggunakan pelarut methanol dan etanol (Suharto et al., 2012)

Pemilihan metode ekstraksi yang tepat dilihat dari sifat masing-masing sampel yang digunakan, pada sampel yang bersifat termostabil (tahan panas) dan bertekstur kasar seperti kacang-kacangan dan umbi dapat menggunakan ekstrak panas seperti sokhletasi, refluks dan infundasi. Sedangkan sampel yang bersifat termolabil (tidak tahan panas) dapat menggunakan ekstraksi sonikasi. Hal ini dikarenakan senyawa termolabil bila dipanaskan dalam waktu lama dapat merusak atau mendegradasi senyawa yang terkandung dalam sampel (Rahma et al., 2017)

Dalam mengekstrak senyawa diosgenin paling banyak menggunakan ekstraksi refluks dikarenakan metode refluks memiliki kelebihan dapat mengekstraksi sampel yang bersifat termostabil (tahan panas) dan bertekstur kasar, seperti umbi dan kacang-kacangan yang umumnya mengandung senyawa diosgenin. Sedangkan pada tanaman yang bersifat termolabil dapat menggunakan metode ekstrak sonikasi karena

memiliki kelebihan yaitu meningkatkan penetrasi pelarut karena adanya kavitas dan dapat dijalankan pada suhu yang rendah (Candani et al., 2018).

Ketiga hidrolisis, Senyawa diosgenin merupakan saponin yang memiliki aglikon berupa steroid atau yang disebut sapogenin (Nasution Anggi Dina Mora, Ulil Amna, 2019), maka untuk mendapatkan senyawa diosgenin perlu menghidrolisis saponin terlebih dahulu, biasanya menggunakan asam sulfat. Proses hidrolisis dilakukan setelah sampel diekstraksi dan dikentalkan menggunakan *rotary evaporator* yang selanjutnya ditambahkan asam sulfat, 10 % sebanyak 20 mL, lalu dipanaskan menggunakan penangas air 98°C hingga pelarut menguap. Selanjutnya sampel diekstraksi kembali menggunakan kloroform sebanyak 2x dengan cara menambahkan kloroform dan air suling dengan perbandingan 1:1, kocok dan ditunggu hingga terpisah menjadi 2 lapisan yaitu lapisan kloroform dan lapisan air. pada ekstraksi 1 diambil lapisan kloroform dibagian bawah dan pada ekstraksi 2 diambil pada lapisan kloroform bagian atas yang merupakan senyawa saponin steroid (Nazir et al., 2021)

Keempat, isolasi senyawa diosgenin dapat dilakukan dengan beberapa metode, yaitu HPLC, HPTLC dan KLT. Dalam mengisolasi senyawa diosgenin dapat dilakukan uji kualitatif dan uji kuantitatif. Pada uji kualitatif dapat menggunakan KLT, HPTLC dan HPLC untuk mendeteksi adanya senyawa diosgenin dengan membandingkan warna dan nilai rf dengan senyawa pembanding. Sedangkan uji Kuantitatif diosgenin umumnya menggunakan instrument HPLC dan HPTLC, berdasarkan beberapa penelitian yang dapat dilihat pada tabel hasil kebanyakan menggunakan metode HPTLC dikarenakan metode HPTLC memiliki beberapa kelebihan, yaitu penggunaannya sederhana, cepat, akurat, tepat dan hemat biaya untuk mendeteksi kandungan diosgenin dalam tanaman (Singh et al., 2016)

Uji kualitatif diosgenin menggunakan metode KLT umumnya menggunakan fase diam dari silika gel60 F₂₅₄ dan fase gerak menggunakan berbagai macam pelarut kombinasi, seperti n-heptan : etil asetat, toluene:etil asetat:asam format, toluene:kloroform:aseton. Namun fase gerak yang paling sering digunakan, yaitu toluene:kloroform:aseton dengan perbandingan

2:8:2. Setelah proses elusi selesai untuk memvisualisasi warna pada tiap spot penotolan maka perlu disemprot dengan reagen spesifik, yaitu anisaldehyd asam sulfat atau reagen anisaldehyd yang dimodifikasi dengan mencampurkan methanol dan asam asetat dengan perbandingan 85:15 dalam rasio 1:1 yang keringkan pada suhu 110°C selama 10 menit dalam oven. Pada reagen spesifik anisaldehyd-asam sulfat dapat didividualisasi pada serapan 254 nm dan 366 nm. Sedangkan pada penggunaan reagen spesifik anisaldehyd yang dimodifikasi dengan methanol dan asam asetat akan menunjukkan pada serapan maksimum pada 510-620 nm. Warna yang muncul yaitu coklat, biru, kuning dan ungu dengan nilai Rf 0.73-0.80

Terdapat salah satu penelitian yang memiliki nilai Rf < 0.73-0.80, hal dapat disebabkan karena beberapa faktor, yaitu dimensi dan jenis ruang, sifat dan ukuran fase diam, fase gerak, kelembapan, kondisi kesetimbangan dan metode persiapan sampel. Terlihat dari fase gerak yang digunakan berbeda dengan yang lainnya sehingga memberikan nilai Rf yang berbeda.

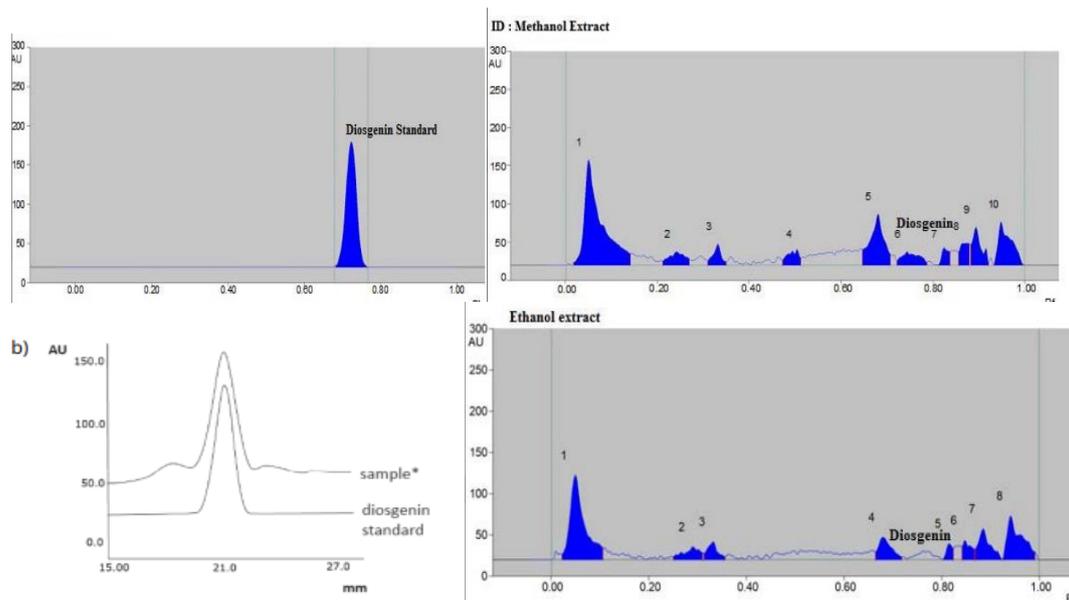
Selanjutnya untuk menentukan konsentrasi diosgenin dalam sampel perlu dilakukan uji kuantitatif menggunakan HPTLC dan HPLC. Pada instrument HPTLC uji kuantitatif dapat dilakukan dengan membandingkan puncak yang muncul dengan standar diosgenin. Terlihat pada ekstraksi methanol dan ekstraksi etanol tanaman *A.indicum* memiliki puncak yang mirip dengan standar diosgenin.

Perbandingan ekstrak methanol dan ekstrak etanol tanaman *A.indicum*, diperoleh konsentrasi terbanyak yaitu pada ekstrak methanol sebesar 0.43 ± 0.018 % sedangkan pada ekstrak etanol sebesar 0.10 ± 0.009%.

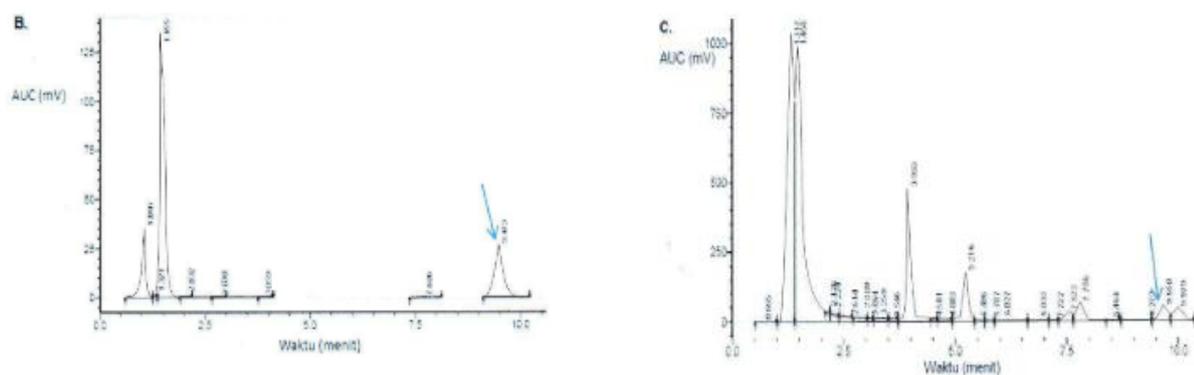
Sedangkan pada instrument HPLC uji kuantitatif dapat dilakukan dengan membandingkan puncak kromatogram standar diosgenin dengan senyawa diosgenin yang terdapat dalam ekstrak air pacing

Dapat dilihat tanaman pacing menunjukkan adanya senyawa diosgenin sebesar 0.28%. setelah dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\%kadar = \frac{X \cdot fp \cdot Volume}{Berat \text{ sampel}} \times 100$$



Gambar 3. Kromotogram HPTLC -Densitogram.



Gambar 4. Kromotogram diosgenin standar dan diosgenin tanaman pacing

KESIMPULAN

Senyawa diosgenin merupakan senyawa polar yang umumnya diperoleh dalam umbi-umbian dan kacang, maka metode ekstraksi yang cocok untuk mengekstrak sampel kasar dan bersifat termostabil yaitu refluks dengan pelarut yang cocok untuk megekstraknya, yaitu etanol, methanol dan aquabidest. Kemudian senyawa saponin perlu dihidrolisis menggunakan asam klorida untuk mendapatkan saponin aglikon (sapogenin) yang dipanaskan pada suhu 98°C. Pengujian kualitatif menggunakan KLT yang menunjukkan nilai rf pada rentang 0.73-0.80 dan pengujian kuantitatif dapat menggunakan KLT-Densitometri, HPLC dan HPTLC. Konsentrasi senyawa diosgenin terbanyak diperoleh pada

ekstrak methanol dengan metode HPTLC sebesar $0.43 \pm 0.018 \%$.

REFERENSI

- Anam, S., Yusran, M., Trisakti, A., Ibrahim, N., Khumaidi, A., & Sulaiman Zubair, M. (2013). Standarisasi Ekstrak Etil Asetat Kayu Sanrego (*Lunasia amara Blanco*). *Online Journal of Natural Science*, 2(3), 1–8.
- Burda, N. Y., Zhuravel, I. O., Dababneh, M. F., & Fedchenkova, Y. A. (2019). Analysis of diosgenin and phenol compounds in *Tribulus terrestris L.* *Pharmacia*, 66(2), 41–44. <https://doi.org/10.3897/pharmacia.66.e35023>
- Candani, D., Ulfah, M., Noviana, W., & Zainul, R. (2018). A Review Pemanfaatan Teknologi Sonikasi. *INA-Rxiv*, 26, 1–9.

- Król-Kogus, B., Lamine, K. M., Migas, P., Boudjeniba, M., & Krauze-Baranowska, M. (2018). HPTLC determination of diosgenin in fenugreek seeds. *Acta Pharmaceutica*, 68(1), 97–107. <https://doi.org/10.2478/acph-2018-0002>
- Lumbanraja, I. M., Wartini, N. M., & Suhendra, L. (2019). Pengaruh Jenis Pelarut dan Ukuran Partikel Bahan terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) sebagai Sumber Saponin. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 7(4), 541. <https://doi.org/10.24843/jrma.2019.v07.i04.p06>
- Nainggolan, M., Ahmad, S., Pertiwi, D., & Nugraha, S. E. (2019). Penuntun Dan Laporan Praktikum Fitokimia. *Universitas Sumatera Utara*, 1–58. https://ffar.usu.ac.id/images/Buku_Penuntun_Laboratorium/Penuntun-Fitokimia-S-1.pdf
- Nasution Anggi Dina Mora, Uil Amna, H. (2019). Skrining Fitokimia Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.). *Quimica: Jurnal Kimia Sains dan Terapan*, 1(1).
- Nazir, R., Pandey, D. K., Pandey, B., Kumar, V., Dwivedi, P., Khampariya, A., Dey, A., & Malik, T. (2021). Optimization Of Diosgenin Extraction From *Dioscorea deltoidea* Tubers Using Response Surface Methodology And Artificial Neural Network Modelling. *PLoS ONE*, 16(July), 1–19. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0253617>
- Prabowo, A. Y., Teti, E., & Indria, P. (2014). Gembili (*Dioscorea esculenta* L.) as Food Contain Bioactive Compounds: A Review. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 2(3), 129–135.
- Putra Jatmiko, G., Estiasih, T., Kunci: Gluten, K., Kimpul, M., Bioaktif, S., Kimpul, T., & Kimpul, U. (2014). MIE DARI UMBI KIMPUL (*Xanthosoma Sagittifolium*): KAJIAN PUSTAKA Noodles From Cocoyam (*Xanthosoma Sagittifolium*): A Review. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 2(2), 127134.
- Rahma, A., Taufiqurrahman, I., & Edyson. (2017). Perbedaan Total Flavonoid Antara Metode Maserasi Dengan Sokletasi Pada Ekstrak Daun *Ramania* (*Bouea macrophylla* Griff). *Dentino jurnal kedokteran gigi*, 1(1), 22–27.
- Ruma, M. T. L., Nono, K. M., Bura, L. Y., Studi, P., & Fst, B. (2021). Antibakteri Ekstrak Akar Dan Daun Kembang Sore (*Abutilon Indicum* L.) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia Coli*. 18(2), 59–65.
- Singh, R., Kharat, S. N., & Mendhulkar, V. D. (2016). Chromatographic analysis for “diosgenin” content in *Abutilon indicum* (L) sweet. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 8(2), 178–182.
- Suharto, M. A. P., Edy, H. J., & Dumanauw, J. M. (2012). Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Saponin Dari Ekstrak Metanol Batang Pisang Ambon(*Musa paradisiaca* var. *sapientum* L.). *pharmacon*, 1(2), 86–92.
- Susanti, H., Wahyuono, S., Susidarti, R. A., & Sari, I. P. (2017). Penetapan Kadar Diosgenin Dalam Ekstrak Air *Costus Speciosus* Secara HPLC. *Majalah Obat Tradisional*, 22(1), 1. <https://doi.org/10.22146/tradmedj.24171>