

SKRIPSI

OPTIMASI PROSES EKSTRAKSI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI TANAMAN DAUN AFRIKA (*Vernonia amygdalina*) SECARA *MICROWAVE-ASSISTED EXTRACTION*

OPTIMIZATION OF THE EXTRACTION PROCESS OF SECONDARY METABOLITE COMPOUNDS FROM AFRICAN LEAF (*Vernonia amygdalina*) BY *MICROWAVE-ASSISTED EXTRACTION*

Disusun Dan diajukan oleh

ZILFRIDA AURA BENING AZIZY
N011 17 1313



PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021

**OPTIMASI PROSES EKSTRAKSI SENYAWA METABOLIT
SEKUNDER DARI TANAMAN DAUN AFRIKA (*Vernonia amygdalina*)
SECARA *MICROWAVE-ASSISTED EXTRACTION***

**OPTIMIZATION OF THE EXTRACTION PROCESS OF SECONDARY
METABOLITE COMPOUNDS FROM AFRICAN LEAF (*Vernonia
amygdalina*) BY *MICROWAVE-ASSISTED EXTRACTION***

SKRIPSI

untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana

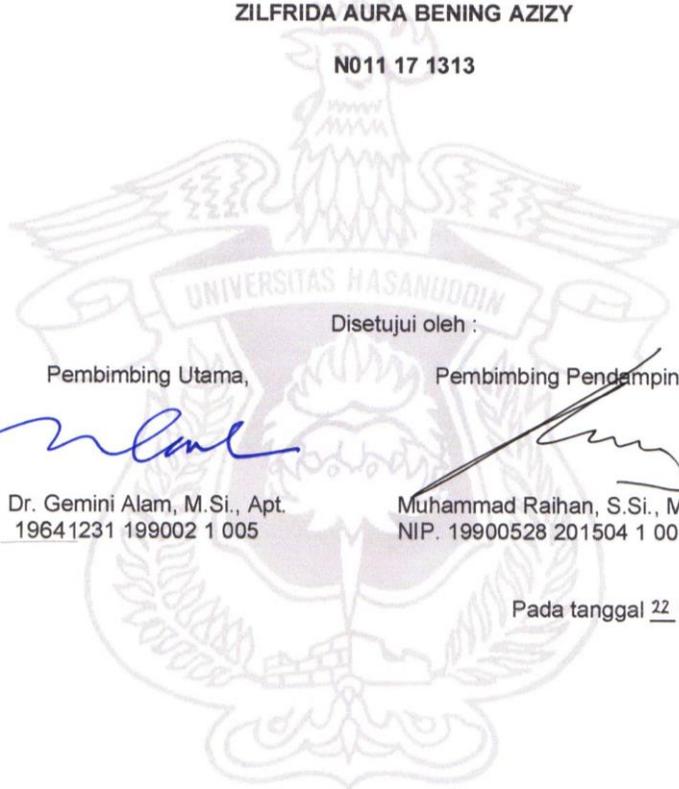
**ZILFRIDA AURA BENING AZIZY
N011 171313**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

**OPTIMASI PROSES EKSTRAKSI SENYAWA METABOLIT
SEKUNDER DARI TANAMAN DAUN AFRIKA (*Vernonia amygdalina*)
SECARA MICROWAVE-ASSISTED EXTRACTION**

ZILFRIDA AURA BENING AZIZY

N011 17 1313



Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt.
NIP. 19641231 199002 1 005

Muhammad Raihan, S.Si., M.Sc.Stud., Apt.
NIP. 19900528 201504 1 001

Pada tanggal 22 04 2021

LEMBAR PENGESAHAN (TUGAS AKHIR)

**OPTIMASI PROSES EKSTRAKSI SENYAWA METABOLIT
SEKUNDER DARI TANAMAN DAUN AFRIKA (*Vernonia amygdalina*)
SECARA MICROWAVE-ASSISTED EXTRACTION**

Disusun dan diajukan oleh

ZILFRIDA AURA BENING AZIZY
N011 17 1313

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Farmasi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
pada tanggal 22 April 2021
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

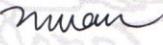
Pembimbing Pendamping


Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt.
NIP. 19641231 199002 1 005


Muhammad Raihan, S.Si., M.Sc.Stud., Apt.
NIP. 19900528 201504 1 001



Pt. Ketua Program Studi S1 Farmasi,
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin


Prof. Dr. rer.nat. Marianti A. Manggau, Apt.
NIP. 19670319 199203 2 002

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Zilfrida Aura Bening Azizy
NIM : N011171313
Program Studi : Farmasi
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa skripsi dengan judul Optimasi Proses Ekstraksi Senyawa Metabolit Sekunder dari Tanaman Daun Afrika (*Vernonia Amygdalina*) Secara *Microwave-Assisted Extraction* adalah karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila dikemudian hari skripsi karya saya ini terbukti bahwa sebagian atau keseluruhannya adalah hasil karya orang lain yang saya pergunakan dengan cara melanggar hak cipta pihak lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, 22 04 2021

Yang Menyatakan



Zilfrida Aura Bening Azizy

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah Rabiil'alamiin, puji syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT karena berkat rahmat dan ridhonya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini sebagai persyaratan untuk menyelesaikan pendidikan guna memperoleh gelar sarjana (strata-1) di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Dengan penuh hormat penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada semua pihak atas segala bantuan, bimbingan, serta doa yang telah diberikan selama penulis mengerjakan skripsi ini. Pada kesempatan ini penulis sampaikan segala hormat dan terimakasih kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt. selaku pembimbing utama dan Bapak Muhammad Raihan, S.Si., M.Sc.Stud., Apt. selaku pembimbing kedua yang telah senantiasa memberikan waktunya untuk memberikan bimbingan, arahan, serta bantuan dalam menyusun skripsi ini.
2. Ibu Yusnita Rifai, S.Si., M.Pharm., Ph.D., Apt. dan Bapak Aminullah, S.Si., M. Pharm.Sc., Apt. selaku penguji yang telah memberikan banyak saran dan masukan dalam menyelesaikan skripsi penulis.
3. Seluruh Bapak/Ibu dosen Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah memberikan ilmunya selama masa studi di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, serta kepada seluruh staf yang telah memberikan fasilitas dan layanan yang baik selama masa studi penulis di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
4. Teman-teman angkatan penulis, Clostridium, khususnya Khansa, Nur Zadila, Indhira Azhari Gazali, LM. Alif Fauzan Tamar, Andi Asna

Abdullah, Rifda Aulia, Jumalia, Zainah Aura Hatifah, dan Ananda Pratiwi terimakasih karena selalu ada dan menemani hingga hari ini.

5. Teman-teman tim penelitian penulis, Megawati Akram dan Zulfadly yang sudah menemani penulis untuk belajar dan berdiskusi.
6. Teman-teman UKM Redaksi Lege Artis FF-UH dan teman-teman BPH BEM KEMAFAR-UH Kabinet Karya, yang sudah menjadi tempat belajar banyak hal.
7. Korps Asisten Farmakognosi-Fitokimia khususnya Hasriani, Meliani, Asma Aris, Delli Cipta Lestari, dan Andharini Rusmana Putri yang sudah memberikan ilmu dan bantuan untuk penulis selama mengerjakan penelitian ini.

Atas segala yang telah diberikan kepada penulis, sekali lagi penulis ucapkan terimakasih, semoga segala ilmu dan kebaikan yang telah diberikan dapat mendapat ridlo dan rahmat dari Allah SWT. Ucapan terimakasih khusus penulis ucapkan kepada kedua orang tua, Ayahanda Yani Nur Syamsu dan Ibunda Eni Rifayati IM, serta kakak Aha Azadi Albab Gardida, yang tidak pernah henti memberikan semangat dan doa atas kelancaran pendidikan penulis hingga saat ini. Akhir kata, Atas keterbatasan pengetahuan penulis, dengan kerendahan hati, penulis memohon saran dan kritik yang membangun. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat kepada penulis dan pembaca, amiin.

Makassar, 5 Januari 2021

Zilfrida Aura Bening Azizy

ABSTRAK

ZILFRIDA AURA BENING AZIZY. Optimasi Proses Ekstraksi Senyawa Metabolit Sekunder Dari Tanaman Daun Afrika (*Vernonia Amygdalina*) Secara *Microwave-assisted Extraction* (dibimbing oleh Gemini Alam dan Muhammad Raihan).

Vernonia Amygdalina telah terbukti memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang memiliki berbagai efek farmakologi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui parameter optimum dari rasio pelarut terhadap sampel, daya *microwave*, dan waktu ekstraksi dalam proses ekstraksi daun afrika (*V. amygdalina*) dengan menggunakan metode ekstraksi *microwave-assisted extraction* dengan analisis menggunakan *response surface methodology*. Parameter uji yang diujikan dalam penelitian ini adalah rasio perbandingan pelarut 1:10, 1:20, dan 1:30, dengan daya *microwave* 30 W, 70 W, dan 100 W, serta waktu ekstraksi selama 1, 3, dan 5 menit. Dari penelitian ini diketahui bahwa parameter yang dapat menghasilkan ekstrak daun afrika dengan % rendemen paling optimal adalah pada rasio perbandingan pelarut 1:20 sampai 1:30, dengan waktu ekstraksi 3 sampai 5 menit, serta daya *microwave* 1015 W sampai 1450 W. Selain itu, metabolit sekunder dalam ekstrak dihitung sebagai stigmasterol secara KLT densitometri. Di mana konsentrasi paling optimal dari setiap ekstrak daun afrika adalah dengan parameter rasio perbandingan pelarut 1:25 sampai 1:30, dengan waktu ekstraksi 3 sampai 5 menit, dan daya 435 W sampai 1015 W.

Kata kunci: Tanaman Daun Afrika, *Vernonia amygdalina*, senyawa metabolit sekunder, optimasi, *microwave-assisted extraction*, *response surface methodology*

ABSTRACT

ZILFRIDA AURA BENING AZIZY. Optimization Of The Extraction Process Of Secondary Metabolite Compounds From *Vernonia Amygdalina* By *Microwave-Assisted Extraction* (supervised by Gemini Alam and Muhammad Raihan).

Vernonia amygdalina has been reported to contain secondary metabolites which have various pharmacological effects. The aim of this study was to determine the optimum parameters of the solvent to sample ratio, microwave power, and extraction time in the *Vernonia amygdalina* extraction process using the microwave assisted extraction method with analysis using response surface methodology. The parameter tested in this study were the solvent to sample ratio 1:10, 1:20, and 1:30, with microwave power 30 W, 70 W, 100 W, and extraction time is 1, 3, and 5 minutes. From this research, it is known that the parameters that can produce *Vernonia amygdalina* leaf extract with the most optimum % yield are the solvent to sample ratio 1:20 to 1:30, with an extraction time above 3 to 5 minutes, and the microwave power 1015 W to 1450 W in addition, the secondary metabolites in the extract were calculated as stigmasterol by densitometric TLC. Where the optimum concentration of every extract from *Vernonia amygdalina* leaf is with solvent to sample ratio of 1:16 to 1:20, with an extraction time of 1 to 2 minutes, and the microwave power of 435 W to 1015 W.

Keywords: *Vernonia amygdalina*, Secondary metabolite compounds, Optimization, *microwave-assisted extraction*, *response surface methodology*

DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	3
I.3 Tujuan Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Uraian Tanaman	4
II.1.1 Klasifikasi tanaman	4
II.1.2 Morfologo Tanaman	5
II.1.3 Kandungan Senyawa	5
II.1.4 Kegunaan	7
II.2 Metabolit Sekunder	7
II.3 Simplisia	9
II.4 Ekstrak	9
II.5 Ekstraksi	10
II.5.1 Metode Dingin	12
II.5.2 Metode Panas	13
II.6 Microwaver Assisted-Exxtraction	14
II.7 Ultrasonic Assisted-Extraction	16

II.8	Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Densitometri	17
II.9	Response Surface Methodology	19
BAB III	METODE KERJA	21
III.1	Alat dan Bahan	21
III.2	Determinasi	21
III.3	Simplisia	21
III.3.1	Penyiapan Simplisia	21
III.3.2	Susut Pengeringan	21
III.4	Optimasi Proses Ekstraksi	22
III.4.1	Penentuan Parameter Uji	22
III.4.2	Ekstraksi	23
III.4.4	Penentuan Bobot Ekstrak Hasil MAE dan Rendemen	23
II.4.4	KLT Densitometri	24
II.5	Analisis	24
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	26
IV.1	Determinasi Tanaman	26
IV.2	Susut Pengeringan	26
IV.3	Optimasi Proses Ekstraksi	27
IV.3.1	Bobot dan Persentase Rendemen Ekstrak	27
IV.3.2	KLT Densitometri	28
IV.4	Analisis Menggunakan Responses Surface Methodology	31
BAB V	PENUTUP	41
V.1	Kesimpulan	41
V.2	Saran	41
	DAFTAR PUSTAKA	42
	LAMPIRAN 1 SKEMA KERJA	46
	LAMPIRAN 2 KUNCI DETERMINASI TANAMAN	47
	LAMPIRAN 3 GAMBAR DOKUMENTASI	48
	LAMPIRAN 4 GAMBAR HASIL DENSITOMETRI	50
	LAMPIRAN 5 PERHITUNGAN	58

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Tabel parameter uji ekstraksi	22
2. Tabel hasil % rendemen ekstrak	27
3. Tabel konsentrasi stigmasterol ekstrak	33
4. Data nilai Rf dan luas arean ekstrak hasil KLT	53

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Daun afrika	4
2. Struktur senyawa vernodalin sebagai senyawa penanda daun afrika <i>Vernonia amygdalina</i>	6
3. Alat dan Mekansime kerja Microwave Asisted Extraction	15
4. Alat dan Mekansime kerja Ultrasonic Asisted Extraction	17
5. Hasil KLT (B) baku stigmaserol, (Ea) ekstrak awal pengamatan UV 366	29
6. Grafik kurva baku stigmasterol	30
7. Grafik pareto % rendemen	32
8. (a) Contour plot rasio perbandingan pelarut dan waktu terhadap %rendemen ekstrak (b) Surface plot rasio perbandingan pelarut dan waktu terhadap % rendemen ekstrak (c) Contour plot rasio perbandingan pelarut dan <i>power microwave</i> terhadap % rendemen ekstrak (d) Surface plot rasio perbandingan pelarut dan <i>power microwave</i> terhadap % rendemen ekstrak (e) Contour plot waktu dan daya <i>microwave</i> terhadap % rendemen ekstrak (f) surace plot waktu dan daya <i>microwave</i> terhadap % rendemen ekstrak	33
9. Grafik optimasi rasio perbandingan pelarut, waktu ekstraksi, dan power microwave terhadap % rendemen ekstrak Kurva Baku Stigmasterol	35
10. Grafik pareto konsentrasi stigmasterol	36

11.(a) Contour plot rasio perbandingan pelarut dan waktu terhadap Konsentrasi stigmasterol ekstrak	38
(b) Surface plot rasio perbandingan pelarut dan waktu terhadap Konsentrasi stigmasterol ekstrak	
(c) Contour plot rasio perbandingan pelarut dan <i>power microwave</i> terhadap Konsentrasi stigmasterol ekstrak	
(d) Surface plot rasio perbandingan pelarut dan <i>power microwave</i> terhadap Konsentrasi stigmasterol ekstrak	
(e) Contour plot waktu dan daya <i>microwave</i> terhadap Konsentrasi stigmasterol ekstrak	
(f) surace plot waktu dan daya <i>microwave</i> terhadap Konsentrasi stigmasterol ekstrak	
12. Grafik optimasi parameter uji rasio perbandingan pelarut, waktu ekstraksi, dan power microwave terhadap konsentrasi stigmasterol	40
13. Pengambilan Sampel	47
14. Timbang Simplisia basah	47
15. Pencucian Sampel	47
16. Pengeringan sampel	47
17. Simplisia	47
18. 10 gram simplisia	47
19. Proses Ekstraksi	48
20. Hasil Ekstraksi	48
21. Penyaringan hasil ekstraksi	48
22. Timbang wadah kosong	48
23. Penguapan ekstrak	48
24. Timbang bobot ekstrak	48

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Lampiran Skema Kerja	45
2. Lampiran Kunci determinasi	46
3. Lampiran dokumentasi kegiatan	47
4. Lampiran gambar hasil densitometri	50
5. Lampiran perhitungan	58

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Metabolit sekunder merupakan senyawa yang disintesis dari makhluk hidup melalui proses biosintesis, senyawa ini digunakan sebagai penunjang kehidupan makhluk hidup tersebut, namun tidak adanya senyawa ini tidak akan menyebabkan makhluk hidup tersebut mati. Metabolit sekunder biasanya memiliki aktivitas farmakologi yang biasanya dimanfaatkan dalam bidang kefarmasian (Saifudin, 2014).

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk melakukan isolasi dan karakterisasi senyawa bioaktif yang terkandung dalam tanaman daun afrika ini. Menurut penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya diketahui dalam tanaman daun afrika ini terkandung senyawa flavonoid, saponin, alkaloid, tanin, fenolat, terpen, steroid, glikosida, triterpenoid, dan senyawa lakton sesquiterpen (Erasto, P dkk, 2006);(Kiplimo, dkk ., 2011). Senyawa yang berhasil diisolasi adalah seperti senyawa golongan sesquiterpene lactones, yaitu vernolide dan vernodalol yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif namun, kurang efektif terhadap bakteri Gram negatif. Vernolide ini dilaporkan memperlihatkan aktivitas antijamur yang tinggi dengan nilai LC50 0,2; 0,3; dan 0,4 mg/ml terhadap *Penicillium notatum*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Mucor hiemalis*. Sedangkan, vernodalol menunjukkan penghambatan sedang terhadap *Penicillium notatum*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* dengan nilai LC50 0,2; 0,3; 0,4 mg/ml.

Kedua senyawa tersebut juga diketahui efektif terhadap *Fusarium oxysporum*, mikroba ini diketahui resisten terhadap bahan kimia (Erasto, P, dkk, 2006).

Salah satu faktor yang mempengaruhi aktivitas farmakologis dari suatu ekstrak adalah dari kandungan kimianya. Hal ini dipengaruhi oleh metode ekstraksi yang optimal dalam menghasilkan ekstrak dengan jumlah metabolit sekunder yang tinggi. Metode ekstraksi yang dapat digunakan adalah *Microwave assisted extraction* (MAE). Metode ekstraksi ini menggunakan pemanasan gelombang mikro dengan frekuensi 300-300.000 MHz untuk ekstraksi bahan tanaman (Camel, 2001). Metode ini diketahui dapat dilakukan dengan lebih efisien dengan waktu yang lebih singkat dan dapat menggunakan pelarut organik dengan lebih hemat. Penelitian dengan menggunakan metode ini telah banyak digunakan, pada penelitian yang pernah dilakukan pada ekstraksi dari senyawa fenol dari biji ketumbar (*Coriandrum sativum*) menggunakan metode ini diketahui bahwa ada beberapa faktor parameter yang dapat mempengaruhi hasil ekstraksi, yaitu rasio perbandingan pelarut, daya, dan waktu ekstraksi (Zekovi dan Vladi, 2016). Penelitian lain yang telah dilakukan dengan metode MAE ini adalah ekstraksi senyawa bioaktif dari *Coriolus versicolor* dari penelitian tersebut diperoleh hasil bahwa rasio pelarut, daya, dan waktu ekstraksi juga mempengaruhi proses ekstraksi dengan metode MAE ini (Kwon, 2016).

Telah dilakukan sebelumnya penelitian ekstraksi senyawa antioksidan dan flavonoid dari daun afrika (*Vernonia amygdalina* Delile) dengan metode MAE (Alara, dkk., 2017), namun Sampai saat ini belum dilaporkan penelitian

untuk mengetahui parameter yang optimum dalam proses ekstraksi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak *V. Amygdalina*. Optimasi terhadap parameter proses ekstraksi tersebut dilakukan untuk mengetahui parameter optimum untuk menghasilkan ekstrak optimum dengan metode ekstraksi MAE ini. Metode optimasi yang dapat digunakan yaitu, menggunakan metode *Response Surface Methodology* untuk menunjukkan interaksi antar parameter untuk menghasilkan nilai optimum proses ekstraksi. Oleh karena itu, perlu dilakukan suatu penelitian untuk mengetahui kombinasi faktor-faktor paling optimal yang mempengaruhi hasil ekstraksi tanaman *V. Amygdalina* terhadap kadar metabolit sekundernya.

I.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, maka permasalahan yang timbul adalah bagaimana kombinasi dari parameter rasio pelarut dan sampel, daya, dan waktu ekstraksi yang dapat menghasilkan hasil ekstraksi paling optimum dalam proses ekstraksi *V. Amygdalina*, khususnya dengan menggunakan metode ekstraksi *microwave-assisted extraction*.

I.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui parameter optimum dari rasio pelarut dan sampel, daya, dan waktu ekstraksi dalam proses ekstraksi *V. amygdalina* dengan menggunakan metode ekstraksi *microwave-assisted extraction*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Uraian Tanaman

II.1.1 Klasifikasi

- Regnum : Plantae
Divisio : Spermatophyta
Subdivisio : Angiospremae
Classis : Dycotiledonae
Ordo : Asterales
Familia : Asteraceae
Genus : *Gymnanthemum*
Spesies : *Vernonia amygdalina* Delile



Gambar 1. Tanaman *V. amygdalina* (Danladi, Hassan, Mas'ud, dan Ibrahim, 2018)

II.1.2 Morfologi Tanaman

Tanaman *V. amygdalina* yang biasanya disebut pula daun pahit ini banyak tumbuh secara alami di sepanjang sungai dan danau, di batas hutan, hutan, dan padang rumput, dan dapat tumbuh baik di daerah tropis. Tanaman ini banyak ditemukan di Afrika dan Asia. Tanaman ini merupakan tanaman yang berbentuk pohon kecil hingga setinggi kurang lebih 2-10 m (Danladi, dkk , 2018)

Daun tanaman *V. amygdalina* berbentuk lanset lonjong, daunnya berukuran kurang lebih 10-15 cm x 4-5 cm. Warna daunnya hijau sedang sampai hijau tua. Permukaan daunnya berambut halus, lembut, dan berwarna pucat di bagian bawah daunnya. Daunnya memiliki urat daun yang berwarna merah mencolok. Warna kulit batangnya abu-abu muda atau coklat, dengan batang yang bercabang-cabang. Tangkai daunnya biasanya berukuran 1-2 cm (Del, 2000)

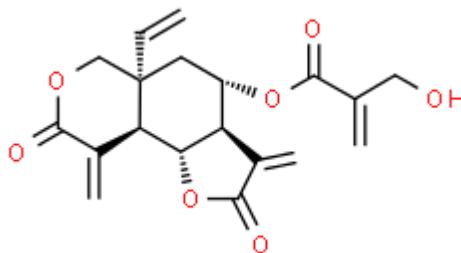
Tanaman *V. amygdalina* ini memiliki kepala bunga yang berbentuk seperti thistle, berukuran kecil, berwarna putih krem. Bunganya berada pada ketiak daun atau di terminal. Bunga membentuk gugusan pipih besar dengan diameter 15 cm, biasanya memiliki aroma yang manis (Del, 2000)

II.1.3 Kandungan Senyawa

Tanaman *V. Amygdalina* dikenal dengan sebutan daun pahit karena rasanya yang pahit. Rasa pahit dari daun tanaman ini adalah karena kandungan senyawa saponin, alkaloid, tanin, dan glikosida yang bertindak sebagai pemberi rasa pahit pada daun (Arhoghro dkk., 2016). Beberapa

penelitian yang telah dilakukan juga telah membuktikan keberadaan beberapa senyawa bioaktif dari tanaman ini, seperti diantaranya adalah kandungan senyawa flavonoid, saponin, alkaloid, tanin, fenol, terpen, glikosida steroid, triterpenoid, stigmasterol, dan beberapa jenis sesquiterpen (Owoeye *dkk.*, 2010)

Menurut Farmakope Herbal Indonesia edisi V disebutkan bahwa senyawa penanda dari tanaman *V. amygdalina* adalah senyawa vernodaline yang termasuk ke dalam senyawa sesquiterpen lakton. Senyawa sesquiterpen lakton yang berhasil diisolasi yaitu, vernodalinol, vernolepin, vernomygdin, hyfroxyvernolide, vernolide, dan vernodalol (Jisaka *dkk.*, 1992). Senyawa-senyawa tersebut diketahui memiliki efek farmakologis yang dapat dimanfaatkan sebagai penghambat pertumbuhan sel kanker payudara, memiliki efek antitumor, dan antimikroba terhadap bakteri Gram positif (Erasto, P *dkk.*, 2006).



Gambar 2. Struktur senyawa vernodalin sebagai senyawa penanda daun afrika (*Vernonia amygdalina*) (Danladi, Hassan, Mas'ud, dan Ibrahim, 2018)

Selain itu, dari tanaman *V. Amygdalina* ini juga dilaporkan telah berhasil diisolasi empat senyawa steroid saponin yang memiliki efek antiinflamasi (Quasie *dkk.*, 2016). Senyawa lain yang dikandung dari tanaman ini, seperti flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid, juga dilaporkan memiliki efek

farmakologis sebagai antioksidan (Atangwho dkk., 2014). Dan senyawa-senyawa ini diketahui memberikan efek hipolipidemia (Igile, dkk, 1994).

II.1.4 Kegunaan

Ekstrak kasar dari *V. amygdalina* dilaporkan memiliki efek antioksidan yang dapat menarik sel radikal bebas (Atangwho dkk., 2014). Selain itu, ekstrak air daun afrika tersebut juga dilaporkan menghambat 75%-99,3% radikal DPPH dan 96,2%-100% radikal ABTS (Erasto dkk., 2007)

Selain itu, ekstrak air *V. amygdalina* juga dilaporkan dapat menurunkan glukosa darah, dan meningkatkan kadar trigliserida serum dan serum MDA. Ekstrak air daun afrika juga dapat meningkatkan kadar kolesterol LDL dan menormalkan konsentrasi kolesterol pada tikus diabetes. Sehingga, daun afrika ini juga memiliki kandungan yang dapat membantu pengobatan diabetes (Nwanjo, 2005).

Ekstrak *V. amygdalina* juga dilaporkan memiliki efek antiinflamasi ketika diaplikasikan kepada telinga tikus. Ekstrak *V. Amygdalina* ini dilaporkan dapat mengurangi efek inflamasi jika digunakan bersama ($71,1 \pm 2,0$)% asam asetilsalisilat (Georgewill, 2009). Ekstrak daun afrika juga dilaporkan memiliki aktivitas antikanker, antimikroba, dan sebagai antimalaria (Owoeye dkk., 2010); (Erasto, P , D.S. Grierson, 2006)

II.2 Metabolit Sekunder

Senyawa alami dari bahan alam yang dikandung di dalam tanaman secara umum terdiri atas molekul kimia berupa mineral, metabolit primer, dan

metabolit sekunder. Di mana senyawa metabolit sekunder dan metabolit primer termasuk ke dalam senyawa organik (Saifudin, 2014).

Metabolit sekunder sendiri merupakan senyawa metabolit yang tidak memiliki pengaruh esensial bagi pertumbuhan tumbuhan. Di mana metabolit sekunder ini tidak terlibat langsung pada proses metabolisme, pertumbuhan, perkembangan, dan reproduksi suatu tumbuhan. Ketiadaan senyawa metabolit sekunder ini tidak menyebabkan kematian pada tumbuhan, melainkan dapat menyebabkan kelemahan dalam pertahanan diri jika tidak ada dalam jangka waktu yang lama. Metabolit sekunder ini biasanya memiliki peran sebagai pertahanan terhadap musuh. Senyawa metabolit sekunder inilah, yang merupakan senyawa yang sering dimanfaatkan sebagai bahan obat oleh manusia (Sanchez, 2011).

Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa yang berasal dari biosintesis senyawa metabolit primer. Umumnya starting materialnya adalah dari senyawa metabolit primer yang sederhana dan stabil secara kimia dan fisika, misalnya gula. Sifat kimiawi metabolit sekunder umumnya memiliki berat molekul yang kecil sekitar 50-1500 dalton. Senyawa metabolit sekunder ini umumnya tidak larut air karena memiliki sifat semi polar dengan struktur kimia yang sangat beragam. Senyawa metabolit sekunder biasanya diklasifikasikan berdasarkan jalur biosintesisnya. Senyawa metabolit sekunder ini dibagi menjadi tiga golongan utama yaitu, flavonoid, alkaloid, dan steroid (Jain, dkk, 2019).

II.3 Simplisia

Simplisia merupakan bahan alami yang digunakan sebagai obat, di mana bahan ini belum mengalami pengolahan apapun kecuali dikatakan lain, bahan yang telah dikeringkan (Departemen Kesehatan RI, 1983). Simplisia dikatakan bermutu jika memenuhi beberapa persyaratan yang tertera dalam monografi simplisia seperti susut pengeringan, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, dan kandungan kimia simplisia (Departemen Kesehatan RI, 2000).

Simplisia terdiri dari 3 macam, yaitu diantaranya simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan atau mineral. Simplisia nabati sendiri merupakan Simplisia nabati merupakan simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat. Sedangkan serbuk simplisia nabati merupakan bentuk serbuk dari simplisia nabati dengan ukuran derajat kehalusan tertentu, dapat berupa serbuk kasar, agak kasar, sangat kasar, halus dan sangat halus. Sedangkan simplisia hewani merupakan simplisia yang berupa hewan utuh, sebagian hewan, atau zat-zat yang dihasilkan dari hewan dan belum menjadi zat kimia murni. Sedangkan, simplisia pelikan atau mineral merupakan simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah dengan cara yang sederhana dan belum menjadi zat kimia murni (Departemen Kesehatan RI, 1983).

II.4 Ekstrak

Ekstrak merupakan sediaan kering, kental, atau cair yang dibuat dengan menyari dari simplisia nabati atau hewani dengan menggunakan

pelarut yang sesuai, kemudian pelarut diuapkan semua atau hampir semua sehingga diperoleh massa yang memenuhi baku yang telah ditetapkan (Departemen Kesehatan RI, 1995). Ada beberapa jenis ekstrak, diantaranya ekstrak cair dengan kadar air lebih dari 30%, ekstrak kental dengan kadar air 5%-10%, dan ekstrak kering dengan kandungan kadar air kurang dari 5% (Voight, 1994).

Ada beberapa faktor yang mempengaruhi ekstrak, diantaranya faktor kimia dan faktor biologi. Faktor kimia yang mempengaruhi ekstrak meliputi faktor internal dan faktor eksternal, faktor internal terdiri dari jenis senyawa aktif yang terkandung, komposisi kualitatif senyawa aktif, komposisi kuantitatif senyawa aktif, dan kadar total senyawa aktif. Sedangkan, faktor eksternal meliputi metode ekstraksi, perbandingan ukuran alat ekstraksi, kekerasan dan kekeringan bahan, pelarut yang digunakan, kandungan logam berat, dan kandungan peptisida (Departemen Kesehatan RI, 2000).

II.5 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses yang dilakukan oleh cairan penyari untuk menarik keluar zat aktif yang terkandung di dalam suatu tanaman obat. Zat aktif pada suatu tanaman obat terdapat di dalam selnya, sehingga untuk mengeluarkan zat aktif dari dalam sel diperlukan adanya suatu cairan penyari atau pelarut tertentu. Cairan penyari yang biasa digunakan adalah metanol, etanol, kloroform, heksan, eter, aseton, benzen, dan etil asetat (Zhang, dkk, 2018).

Proses ekstraksi terjadi dengan masuknya cairan penyari ke dalam sel, masuknya cairan penyari ke dalam sel (osmosis) akan semakin mudah bila dinding sel sudah tidak menjadi utuh lagi akibat adanya proses penyerbukan. Cairan penyari yang masuk akan membuat zat aktif yang berada di dalam sel terlarut sehingga terjadi perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan cairan penyari yang berada di luar sel, pada tahap inilah terjadi proses difusi (Zhang, dkk, 2018).

Cairan penyari yang baik harus mempunyai harga yang murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, mempunyai reaksi netral, dan tidak mudah terbakar, mempunyai sifat selektif yang hanya menarik zat yang berkhasiat yang tidak mempengaruhi zat berkhasiat, dan diperbolehkan oleh peraturan. Pemilihan cairan penyari juga harus menyesuaikan zat aktif yang dicari, di mana zat aktif yang bersifat polar harus menggunakan cairan penyari yang bersifat polar pula agar komponen tersebut dapat membentuk larutan (Najib, 2018).

Pelarut yang biasa digunakan sebagai penyari adalah etanol. Etanol merupakan penyari universal karena etanol dapat melarutkan senyawa polar dan non polar. Etanol dipertimbangkan sebagai larutan penyari karena lebih selektif daripada air, sukar ditumbuhi mikroba dalam konsentrasi 20% ke atas, dan memiliki beberapa kelebihan lain yaitu tak beracun, netral, absorpsi baik, bercampur dengan air pada segala perbandingan, memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut, dan tidak memerlukan panas tinggi untuk penekanan (Najib, 2018)

Secara umum proses ekstraksi dibagi menjadi dua metode, yaitu metode ekstraksi panas dan metode ekstraksi dingin. Di mana metode ekstraksi panas terdiri atas infudasi, sokletasi, digesti, dan refluks. Sedangkan, metode dingin yaitu maserasi dan perlokasi (Departemen Kesehatan RI, 1986).

II.5.2 Metode Dingin

Metode dingin proses ekstraksi dapat dibagi menjadi dua yaitu, maserasi dan perlokasi, yang dapat dijelaskan sebagai berikut:

1. Maserasi sendiri merupakan proses ekstraksi yang sederhana. Maserasi digunakan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar, peristiwa tersebut terjadi secara berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel.
Digesti : maserasi dengan menggunakan pemanasan lemah yaitu pada suhu 40-50. Cara ini hanya dapat dilakukan pada simplisia yang zat aktifnya tahan terhadap pemanasan (Departemen Kesehatan RI, 1986).
2. Perkolasi dilakukan dengan menggunakan 10 bagian simplisia halus yang dimasukkan ke dalam bejana tertutup yang diberi 2,5-3 bagian penyari selama 3 jam. Massa akan dipindahkan bertahap sedikit demi sedikit ke perkolator yang ditambah cairan penyari. Kemudian perlokator

ditutup selama 24 jam, kran dibuka dengan kecepatan 1 ml/menit. Filtrat dipindahkan dalam bejana, ditutup dan dibiarkan selama 2 hari terlindung dari cahaya. Kelebihan dari perlokasi adalah simplisia selalu dialiri pelarut baru. Sedangkan, kelemahannya adalah diperlukan banyak pelarut, waktunya lama, dan pelarut akan kesulitan menjangkau semua area jika simplisia tidak homogen (Departemen Kesehatan RI, 1986).

II.5.2 Metode Panas

Metode ekstraksi panas juga dibagi menjadi beberapa metode, yaitu sokletasi, dan refluks, yang dapat dijelaskan sebagai berikut:

1. Refluks merupakan ekstraksi dengan pelarut pada suhu didihnya selama waktu tertentu. Teknik ini merupakan penyarian berkesinambungan. Proses refluks dilakukan dengan merendam simplisia dalam cairan penyari dalam labu alas bulat yang dilengkapi dengan alat pendingin yang tegak. Dan dipanaskan sampai mendidih. Cairan penyari yang menguap dan diembunkan dengan pendingin tegak sehingga dapat menyari simplisia lagi (Departemen Kesehatan RI, 1986).
2. Sokletasi merupakan metode penyarian berkensinambungan dengan alat soklet. Serbuk soklet dimasukkan ke dalam sarung selulosa dalam klonsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Cairan penyari dipanaskan sampai mendidih. Cairan penyari akan menguap yang akan naik melalui pipa samping dan uap akan diembunkan lagi. Cairan penyari akan turun menyari simplisia, jika cairan penyari mencapai sifon, maka cairan akan dapat turun ke bagian alas bulat

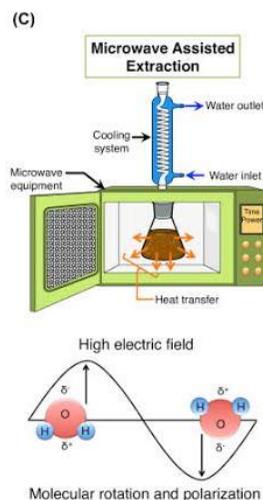
sehingga terjadi proses sirkulasi. Proses ini akan berlangsung secara terus menerus sampai zat aktif dalam simplisia tersari seluruhnya yang ditandai dengan larutan sudah menjadi jernih (Departemen Kesehatan RI, 1986).

3. Infusa merupakan metode ekstraksi yang dilakukan dengan perebusan pada suhu 90° C selama 15 menit. Ekstraksi dengan metode ini merupakan cara yang paling sederhana dari bahan lunak seperti bunga dan daun. Ekstraksi dengan metode ini dilakukan dengan mengaduk simplisia dengan derajat halus yang sesuai dalam panci dengan air secukupnya, pemanasan selama 15 menit dihitung sejak suhu telah mencapai 90° C sambil sesekali diaduk (Badan POM RI, 2010).
4. Dekokta merupakan metode ekstraksi yang hampir sama dengan metode infusa, namun pada dekokta perebusan dilakukan selama 30 menit pada suhu 90° C. Ekstraksi dengan metode ini juga dilakukan dengan mengaduk simplisia dengan derajat harus tertentu dalam panci dengan air secukupnya, pemanasan dilakukan selama 30 menit dihitung sejak suhu telah mencapai 90° C sambil diaduk (Badan POM RI, 2010). Namun, metode ekstraksi ini tidak dapat digunakan pada senyawa termolabil dan volatil (Zhang et al., 2018).

II.6 Microwave Assisted-Extraction (MAE)

Microwave assisted-extraction adalah salah satu metode ekstraksi non konvensional yang digunakan dalam proses mengekstraksi senyawa bioaktif dari suatu tanaman. Metode baru ini dapat mengekstraksi dengan

waktu yang lebih singkat dan dengan konsumsi pelarut yang minimal dengan kualitas hasil ekstraksi yang lebih tinggi. Metode MAE ini merupakan metode yang memanfaatkan radiasi gelombang mikro dengan frekuensi frekuensi 30 GHz – 300 MHz. Daerah gelombang mikro pada spektrum elektromagnetik terletak diantara radiasi infra merah dan frekuensi radio dengan panjang gelombang 1 cm-1 m. Prinsip pemanasan menggunakan gelombang mikro adalah berdasarkan tumbukan langsung dengan pelarut dan diatur oleh fenomena konduksi ionik dan rotasi dipol. Pada proses ekstraksinya, gelombang mikro dari alat microwave langsung mengenai sampel secara spesifik, sehingga proses ekstraksi dapat terjadi sangat cepat (Chemat and Cravotto, 2013).



Gambar 3. Alat dan Mekansime kerja Microwave Asisted Extraction (Bowen, 2020)

Proses ekstraksi dengan MAE ini berbeda dengan metode konvensional lainnya karena ekstraksi terjadi sebagai hasil dari perubahan struktur sel yang disebabkan oleh gelombang elektromagnetik. Dalam proses ekstraksi MAE, percepatan proses dan hasil ekstraksi yang tinggi,

merupakan hasil dari kombinasi sinergis dua fenomena transpor : gradien panas dan massa yang bekerja pada arah yang sama. Sedangkan, pada proses ekstraksi dengan cara konvensional, perpindahan massa terjadi dari dalam ke luar, meskipun perpindahan panas terjadi dari luar ke dalam media. Langkah yang harus terjadi pada proses ekstraksi dengan metode ini adalah (Chemat and Cravotto, 2013):

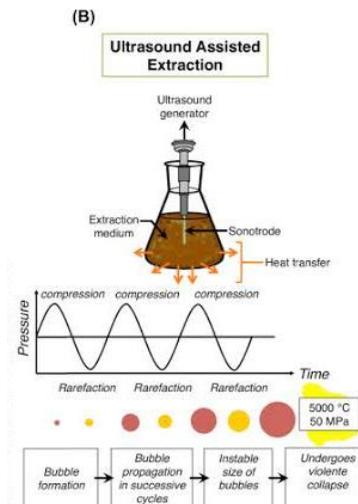
1. Penetrasi pelarut ke dalam matriks padatan
2. Pelarutan atau pemecahan komponen
3. Pengangkutan zat terlarut keluar dari matriks zat padat
4. Migrasi zat terlarut yang diekstraksi dari permukaan luar zat padat ke dalam larutan
5. Pergerakan ekstrak terhadap padatan
6. Pemisahan dan pembuangan ekstrak dan padatan

Ada beberapa parameter penting yang mempengaruhi ekstraksi dengan metode MAE ini. Parameter tersebut adalah rasio perbandingan pelarut, waktu ekstraksi, daya, dan suhu.

II.7 *Ultrasonic Assisted Extraction (UAE)*

Ultrasonic assisted extraction merupakan metode ekstraksi non konvensional yang memanfaatkan gelombang ultrasonik, yaitu merupakan gelombang suara yang memiliki frekuensi lebih dari 20 kHz (Zou *dkk.*, 2014). Ekstraksi menggunakan metode ini dilakukan dengan pemecahan dinding sel dari bahan sehingga kandungan senyawa yang terkandung di dalam sel dapat keluar dengan mudah. Oleh karena itu, ekstraksi dengan metode ini

dapat mempercepat waktu ekstraksi dan tidak memerlukan panas, sehingga tidak merusak komponen kimia dalam tumbuhan yang sifatnya mudah rusak oleh panas (Zhang dkk., 2018).



Gambar 4. Alat dan Mekansime kerja Ultrasonic Asisted Extraction (Bowen, 2020)

Ekstraksi dengan bantuan UAE dilakukan dengan membuat gelembung kecil dalam pelarut karena adanya ultrasound dari gelombang suara yang memungkinkan penetrasi pelarut yang lebih besar. Metode ini dilakukan dengan membantu migrasi semua senyawa aktif dengan lebih cepat dari padatan ke pelarut (Quiroz dkk., 2019).

II.7 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Densitometri

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan teknik pemisahan yang memisahkan campuran komponen berdasarkan perbedaan adsorpsi dan partisi oleh fase diam di bawah pergerakan pelarut pengembang sebagai fase gerak. Metode analisis dengan KLT banyak digunakan karena merupakan metode yang sederhana, mudah dan murah. Prinsip kerja KLT adalah terjadinya pemisahan pada KLT yang didasarkan pada adsorpsi

senyawa oleh fase diam dan fase gerak. Pemisahan yang dapat terjadi disebabkan adanya perbedaan kepolaran senyawa-senyawa di dalam campuran dengan fasa diam dan fasa gerak. Adanya perbedaan kepolaran senyawa inilah yang dapat menyebabkan terjadinya pemisahan yang ditampakkan dari munculnya noda dengan nilai R_f yang berbeda-beda (Leba, 2017).

Pada KLT media fase diam yang digunakan adalah pelat atau lempeng kaca yang bersifat planar. Lempeng yang digunakan biasanya dilapisi oleh silika (SiO_2) yang merupakan suatu padatan dengan struktur tetrahedral di mana atom-atom silikatnya diikat oleh atom oksigen. Pada permukaan partikel silikanya terdapat gugus silanol yang bersifat sangat polar. Selain silika gel, fasa diam yang biasanya digunakan adalah alumina, serbuk silika, magnesium silikat, kalsium silikat, dan arang aktif (Leba, 2017).

Identifikasi pada KLT dapat dilakukan dengan membandingkan kedudukan noda terhadap permukaan pelarut yang dikenal dengan nilai R_f . Ada beberapa hal yang dapat mempengaruhi nilai R_f , diantaranya yaitu, struktur kimia dari senyawa yang dipisahkan, sifat fasa diam, tebal lapisan fasa diam, kemurnian fasa gerak, kejenuhan uap dari fasa gerak dalam wadah yang digunakan, jumlah atau banyaknya sampel, suhu pemisahan, di mana suhu pemisahan yang digunakan sebaiknya berada pada suhu tetap (Stroka, J, 2007).

Selain metode kualitatif dengan KLT, KLT juga dapat digunakan untuk melakukan analisis kuantitatif. Analisis kuantitatif dapat dilakukan dengan

menggunakan KLT densitometri. KLT densitometri sendiri merupakan salah satu metode densitometri yang melakukan penetapan kadar suatu senyawa dengan mengukur kerapatan bercak tersebut dibandingkan dengan kerapatan bercak senyawa standar yang dielusi secara bersama-sama (Stroka, J, 2007).

Teknik pengukuran kadar senyawa dengan metode ini didasarkan pada pengukuran intensitas sinar yang diserap (absorpsi), intensitas sinar yang dipantulkan (reflektansi), atau intensitas sinar yang difluoresensikan. Di mana pengukuran didasarkan pada refleksi sinar datang sebagian diserap dan sebagian dipantulkan. Banyaknya sinar yang direfleksikan ini yang akan ditangkap oleh alat yang disebut *reflection photomultiplier* dan kemudian diteruskan ke pencatat untuk diterjemahkan ke dalam suatu kromatogram (Stroka, J, 2007).

Penetapan kadar senyawa menggunakan kombinasi KLT dan densitometri baik dilakukan karena lebih ekonomis, karena menggunakan fasa gerak yang sedikit, dengan waktu yang relatif singkat dan dapat dilakukan penetapan kadar dengan beberapa sampel secara bersamaan (Najib, 2018)

II.8 *Response Surface Methodology*

Response Surface Methodology atau RSM merupakan teknik matematika statistik yang digunakan untuk pemodelan dan analisis masalah, di mana respon yang diharapkan dipengaruhi oleh beberapa variabel. Tujuan

dari RSM ini sendiri adalah untuk mengoptimalkan respon tersebut (Montgomery, 2013)

Contoh masalah yang diselesaikan dengan metode ini adalah misalnya seorang peneliti ingin menentukan tingkat suhu yang bisa dilambang sebagai x_1 dan waktu sebagai x_2 untuk mengoptimalkan suatu hasil penelitian yang nantinya akan ditandai dengan y . Di mana pada proses tersebut juga akan terdapat tingkat kesalahan yang dapat ditandai sebagai e . Proses penentuan tersebut nantinya akan menghasilkan suatu model persamaan (Montgomery, 2013).